

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7549826号
(P7549826)

(45)発行日 令和6年9月12日(2024.9.12)

(24)登録日 令和6年9月4日(2024.9.4)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	14/725 (2006.01)	C 0 7 K	14/725
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783
		Z N A	
		Z	
		請求項の数 41 (全194頁) 最終頁に続く	
(21)出願番号 特願2021-504566(P2021-504566)		(73)特許権者	517278808
(86)(22)出願日 平成31年4月12日(2019.4.12)			サイズ セル セラピー カンパニー
(65)公表番号 特表2021-520849(P2021-520849 A)			中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 グアンド
(43)公表日 令和3年8月26日(2021.8.26)			ン, シェンジェン, ナンシャン, ハ
(86)国際出願番号 PCT/CN2019/082408			イーテック パーク ノース, ソンピン
(87)国際公開番号 WO2019/196924			シャン ロード 1, サウス タワー,
(87)国際公開日 令和1年10月17日(2019.10.17)		(73)特許権者	1 5 ティーエイチ フロア
審査請求日 令和4年4月12日(2022.4.12)			520395813
(31)優先権主張番号 PCT/CN2018/082947			エイチアールワイゼット (シェンジェ
(32)優先日 平成30年4月13日(2018.4.13)			ン) バイオテック カンパニー
(33)優先権主張国・地域又は機関 中国(CN)			中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 グアンド
前置審査			ン, シェンジェン, ナンシャン, ハ
			イーテック パーク, ソンピン
			シャン ロード 1, イースト タワー, 3ア
			ルディー フロア
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 腫瘍特異的 T 細胞受容体を得る方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

主要組織適合抗原 (M H C) / H P V 1 8 - E 7 エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的 T C R であって、

(1) 配列番号 2 7 8 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 2 7 9 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 7 0 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、ならびに、配列番号 2 8 0 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 2 8 1 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 7 3 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(2) 配列番号 2 7 4 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 2 7 5 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、ならびに、配列番号 2 7 6 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 2 7 7 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 6 1 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、または、

(3) 配列番号 2 8 2 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 2 8 3 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 7 6 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、ならびに、配列番号 2 8 4 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 2 8 5 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 7 9 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖を含む、前記腫瘍特異的 T C R。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の腫瘍特異的 T C R であって、

(a) 配列番号 59 のアミノ酸配列と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 62 のアミノ酸配列と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR β 鎖か、

(b) 配列番号 71 のアミノ酸配列と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 74 のアミノ酸配列と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR β 鎖か、または、

(c) 配列番号 77 のアミノ酸配列と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 80 のアミノ酸配列と少なくとも 90 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む、前記腫瘍特異的 TCR。

【請求項 3】

HPV18-E7 のエピトープを含む標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する、複数の T 細胞受容体 (TCR) を得る方法であって、

a) 前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 1 の樹状細胞 (DC) 集団を、個体由来の T 細胞集団と共培養して、第 1 の共培養物を得ることを含む、第 1 の共培養ステップと、

b) 前記第 1 の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化 T 細胞を得ることを含む、濃縮ステップであり、前記第 1 の共培養物を、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞 (APC) と接触させて、刺激された共培養物を得ること、及び、前記活性化 T 細胞により発現されるサイトカインを特異的に認識するリガンドを使用して、前記刺激された共培養物から、濃縮された活性化 T 細胞の集団を単離することを含む、前記濃縮ステップと、

c) 前記濃縮された活性化 T 細胞を、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 2 の DC 集団と共培養して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む、第 2 の共培養ステップであり、前記腫瘍抗原特異的 T 細胞の少なくとも 10 % が、前記標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、前記第 2 の共培養ステップと、

d) 前記腫瘍抗原特異的 T 細胞を次世代シーケンシングに供して、TCR α 及び TCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及び TCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて前記複数の T 細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、

前記個体が、多重抗原特異的細胞療法 (MAST) を用いた処置を受けており、前記 MAST が、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された樹状細胞集団と T 細胞集団を共培養することによって調製された活性化 T 細胞を有効量で前記個体に投与することを含む、前記方法。

【請求項 4】

前記第 1 の共培養ステップが、前記濃縮ステップの前に 1 ～ 3 日間にわたって行われる、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 T 細胞集団の、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第 1 の DC 集団に対する比が、30 : 1 以下である、請求項 3 または 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第 1 の DC 集団と、前記 T 細胞集団とが、1 種以上のサイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第 1 の共培養培地中で共培養される、請求項 3 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記活性化 T 細胞により発現される前記サイトカインが IFN γ である、請求項 3 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

前記濃縮された活性化 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第 2 の DC 集団との比が、1 : 1 ～ 20 : 1 である、請求項 3 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の方

10

20

30

40

50

法。

【請求項 9】

前記濃縮された活性化 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第 2 の DC 集団とが、12～25 日間にわたって共培養される、請求項 3～8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

前記第 2 の共培養ステップが、1 種以上のサイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第 2 の初期共培養培地中で、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第 2 の DC 集団を、前記濃縮された活性化 T 細胞集団と共培養して、第 2 の共培養物を準備することと、前記第 2 の共培養物に抗 CD3 抗体を添加して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む、請求項 3～9 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 11】

前記抗 CD3 抗体が、前記第 2 の共培養物に、前記第 2 の共培養ステップの開始から 3 日以内に添加される、請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞 (APC) 集団と共培養して、第 2 の腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む、第 3 の共培養ステップをさらに含み、前記第 2 の腫瘍抗原特異的 T 細胞集団が、前記シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される、請求項 3～11 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 13】

前記 APC が、PBMC、DC、または細胞株 APC である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団との比が、1:1～20:1 である、請求項 12 または 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団とが、5～9 日間にわたって共培養される、請求項 12～14 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 16】

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団とが、1 種以上のサイトカイン及び抗 CD3 抗体を含む第 3 の共培養培地中で共培養される、請求項 12～15 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 17】

前記第 3 の共培養ステップが繰り返される、請求項 12～16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

前記標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エпитープを識別することであり、前記標的腫瘍エピトープが、前記濃縮された活性化 T 細胞集団による特異的応答を誘発する、前記識別することと、APC 集団を前記標的腫瘍エピトープと接触させて、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団を得ることとをさらに含む、請求項 3～17 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 19】

前記次世代シーケンシングが、単一細胞シーケンシングである、請求項 3～18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記個体が、前記 MASC T を受けた後、部分応答 (PR)、完全応答 (CR)、または安定疾患 (SD) を有する、請求項 3～19 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】

前記 MASC T が、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷さ

50

れたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることを含む、請求項3～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項22】

前記MASTCが、

(i) 1種以上のサイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、

(ii) 前記共培養の開始から3～7日後の前記共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、前記活性化T細胞集団を得ることと

を含む、請求項3～21のいずれか1項に記載の方法。

10

【請求項23】

前記MASTCが、

(i) 前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとDC集団を接触させて、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、

(ii) MPLAを含むDC成熟培地中で、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記DC集団を培養することと

を含む、請求項3～22のいずれか1項に記載の方法。

【請求項24】

前記DC成熟培地が、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む、請求項23に記載の方法。

20

【請求項25】

前記MASTCが、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記DCを有効量で前記個体に投与することを含む、請求項3～24のいずれか1項に記載の方法。

【請求項26】

前記個体が、前記MASTCを過去に少なくとも3回受けたことがある、請求項3～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項27】

前記腫瘍抗原特異的T細胞が、前記次世代シーケンシングの前に、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCで刺激される、請求項3～26のいずれか1項に記載の方法。

【請求項28】

複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRが、並行して得られる、請求項3～27のいずれか1項に記載の方法。

30

【請求項29】

TCR α 及びTCR β をコードする遺伝子対のそれぞれを宿主免疫細胞内で発現させて、TCRを発現する工学操作された免疫細胞を提供することと、前記工学操作された免疫細胞の、前記標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答を評価することとをさらに含む、請求項3～28のいずれか1項に記載の方法。

【請求項30】

請求項29に記載の方法を含む、HPV18-E7のエピトープを含む標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRを得る方法であって、前記TCRが、前記TCRを発現する前記工学操作された免疫細胞の、前記標的腫瘍抗原ペプチドに対する前記応答に基づいて選択される、前記方法。

40

【請求項31】

前記TCRのHLA制限を判定することをさらに含む、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

前記TCRの親和性成熟をさらに含む、請求項30または31に記載の方法。

【請求項33】

前記TCRにおける前記TCR α 及びTCR β 鎖の対合を強化することをさらに含む、請求項30または32に記載の方法。

【請求項34】

50

前記 T C R の前記発現を強化することをさらに含む、請求項 30 または 33 に記載の方法。

【請求項 35】

前記標的腫瘍抗原ペプチドが、H P V 18 - E 7 に由来する、請求項 30 または 34 に記載の方法。

【請求項 36】

請求項 1 または 2 のいずれか 1 項に記載の腫瘍特異的 T C R の前記 T C R α 鎖及び前記 T C R β 鎖をコードする単離核酸。

【請求項 37】

請求項 36 に記載の単離核酸を含むベクター。

10

【請求項 38】

請求項 1 または 2 のいずれか 1 項に記載の腫瘍特異的 T C R、請求項 36 に記載の単離核酸、または請求項 37 に記載のベクターを含む、工学操作された免疫細胞。

【請求項 39】

前記免疫細胞が T 細胞である、請求項 38 に記載の工学操作された免疫細胞。

【請求項 40】

請求項 38 または 39 に記載の工学操作された免疫細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 41】

個体のがんを処置するための、請求項 40 に記載の医薬組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2018 年 4 月 13 日に提出された国際特許出願第 P C T / C N 2018 / 082947 号に基づく優先権の利益を主張するものであり、その開示内容は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

A S C I I テキストファイルによる配列表の提出

A S C I I テキストファイルでの以下の提出内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる：コンピュータ可読形態（C R F）の配列表（ファイル名：776902000341 S E Q L I S T . T X T、記録日：2019 年 4 月 11 日、サイズ：426 K B）。

30

【0003】

本発明は、がん免疫療法の分野に関する。特に、本発明は、がんを処置するための、T C R を得る方法、腫瘍特異的 T C R、工学操作された免疫細胞、医薬組成物、及びキットを提供する。

【背景技術】

【0004】

血液癌とは異なり、固形腫瘍は、典型的なキメラ抗原受容体（C A R）によって認識される細胞表面抗原を欠いている。固形腫瘍の細胞内抗原は、腫瘍特異的 T 細胞の表面上の T 細胞受容体（T C R）によって特異的に認識されることにより、腫瘍特異的 T 細胞による抗腫瘍細胞傷害性を誘発する、細胞表面上の H L A - 抗原エピトープ複合体として、H L A 分子によって提示されなければならない。

40

【0005】

2018 年 2 月までに、がんを処置するための腫瘍特異的 T C R で工学操作された養子免疫細胞に関する臨床試験は 75 種存在する。標的は、腫瘍関連抗原、腫瘍関連ウイルス抗原、及びネオ抗原を含む。適応症は、多くの一般的なタイプの固形腫瘍を含む。現在、臨床試験中である T C R - T 細胞の例としては、急性骨髄性白血病（A M L）及び非小細胞肺癌を処置するための W T 1 / H L A - A * 0201 複合体を標的とする T C R - T （

50

Juno Therapeutics)、悪性固形腫瘍を処置するためのMAGE-A3/A6/HLA-DPB1*0401複合体を標的とするTCR-T(Kite)、ならびに悪性固形腫瘍を処置するためのMAGE-A4/HLA-A*0201を標的とするTCR-T(Adaptimmune)が挙げられる。

【0006】

本明細書で言及するすべての公開文献、特許、特許出願、及び公開特許出願の開示内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、多重抗原特異的細胞療法(「MASTC」)などの免疫療法から臨床的利益を得ている個体から、腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する1つ以上のT細胞受容体(TCR)を得るための、方法、組成物、及びキットを提供する。

【0008】

本出願の一形態は、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のT細胞受容体(TCR)を得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1の樹状細胞(DC)集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシングに供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された樹状細胞集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法(MASTC)から臨床的利益を得ている、方法を提供する。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1〜約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団に対する比は、約30:1以下(例えば、約10:1〜約20:1、または約15:1または約20:1)である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン(例えばIL-2または複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第1の共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養培地は、IL-2及び抗PD-1抗体を含む。

【0009】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、濃縮ステップは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞(APC)と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカインを特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、サイトカインはIFN γ である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1:1〜約20:1である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12〜25日間にわたって共培養される。

【0010】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT3）と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）とを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に添加される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体はOKT3である。いくつかの実施形態では、1種以上のサイトカインは、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、1種以上のサイトカインは、IL-2を含む。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体（例えば、SHR-1210）である。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。

【0011】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、本方法は、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞（APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団は、シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される。いくつかの実施形態では、APCは、PBMC、DC、または細胞株APCである。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団との比は、約1:1～約20:1である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団とは、約5～9日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び抗CD3抗体を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びOKT3を含む。いくつかの実施形態では、第3の共培養培地は、IL-2及びOKT3を含む。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回、2回、または3回）。

【0012】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、複数の腫瘍抗原ペプチドは、複数の合成腫瘍抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、細胞試料からは得られない。

【0013】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチド（複数可）、がんタイプ特異的抗原ペプチド（複数可）、及び／またはネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、ネオ抗原ペプチドを含む（例えば、ネオ抗原ペプチドからなる）。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、少なくとも約5種（例えば、少なくとも約10種、20種、30種、40種、またはそれ以上）の異なる腫瘍抗原ペプチドを含む。

【0014】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、標的腫瘍抗原ペプチドは、hTERT、p53、サバイビン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、RGS5、MMP7、VEGFR1、VEGFR2、MUC1、HER2、MAGE-A1、MAGE-A3、CDCA1、WT1、KRAS、PARP4、MLL3、MTHFR、HPV16-E6、HPV16-E7、HPV18-E6、HPV18-E7、HP

10

20

30

40

50

V58-E6、HPV58-E7、HBcAg、HBVポリメラーゼ、GPC3、SSX、及びAFPからなる群から選択される腫瘍抗原に由来する。

【0015】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、標的腫瘍エピトープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC集団を標的腫瘍エピトープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることとをさらに含む。

【0016】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、次世代シーケンシングは、単一細胞シーケンシングである。いくつかの実施形態では、次世代シーケンシングは、バルクシーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングステップは、腫瘍抗原特異的T細胞のバルク試料のシーケンシング、及び複数の腫瘍抗原特異的T細胞の単一細胞シーケンシングを含む。いくつかの実施形態では、シーケンシングステップは、腫瘍抗原特異的T細胞の第1の部分のバルクシーケンシングを行って、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子を提供することと、腫瘍抗原特異的T細胞の第2の部分の単一細胞シーケンシングを行って、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子の同族対合情報を提供することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のTCRを提供することとを含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、次世代シーケンシングの前に、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCで刺激される。

【0017】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、個体は、MASCTを受けた後、部分応答(PR)、完全応答(CR)、または安定疾患(SD)を有する。いくつかの実施形態では、MASCTは、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、MASCTは、(i)1種以上の(例えば、複数の)サイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、(ii)共培養の開始から約3〜7日後の共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、活性化T細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、MASCTは、(i)標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとDC集団を接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、(ii)MPLAを含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することとを含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、MASCTは、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、個体は、MASCTを過去に少なくとも3回受けたことがある。

【0018】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRは、並行して得られる。

【0019】

上述の方法のうちのいずれか1つに係るいくつかの実施形態において、本方法は、TCR α 及びTCR β をコードする遺伝子対のそれぞれを宿主免疫細胞内で発現させて、TCRを発現する工学操作された免疫細胞を提供することと、工学操作された免疫細胞の、標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答を評価することとをさらに含む。さらに、上記の方法を使用して、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRを得る方法であって、TCRが、TCRを発現する工学操作された免疫細胞の、標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答に基づいて選択される、方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、TCRのHLA制限を判定することとをさらに含む。いくつかの実施形態では、TCRは、アジア人

10

20

30

40

50

に多く見られるHLAハプロタイプ制限を有する。いくつかの実施形態では、本方法は、TCRの親和性成熟をさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、TCRにおけるTCR α 及びTCR β 鎖の対合を強化することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、TCRの発現を強化することをさらに含む。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、CEA、RSG-5、またはHPV18-E7に由来する。

【0020】

また、上述の方法のうちのいずれか1つを使用して得られた腫瘍特異的TCRが提供される。

【0021】

本出願の別の態様は、腫瘍特異的TCRであって、(a) 配列番号4、10、及び16のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性を有する相補性決定領域(CDR)3を含むTCR α 鎖、ならびに配列番号7、13、及び19のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(b) 配列番号22、28、34、40、46、及び52のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性を有する相補性決定領域(CDR)3を含むTCR α 鎖、ならびに配列番号7、13、19、25、31、37、43、49、及び55のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、または(c) 配列番号58、64、70、76、87及び93のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性を有する相補性決定領域(CDR)3を含むTCR α 鎖、ならびに配列番号61、67、73、79、90及び96のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖を含む、腫瘍特異的TCRを提供する。

【0022】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、(a) 配列番号4のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号7のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(b) 配列番号10のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号13のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(c) 配列番号16のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号19のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(d) 配列番号22のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号25のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(e) 配列番号28のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号31のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(f) 配列番号34のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号37のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(g) 配列番号40のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号43のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(h) 配列番号46のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号49のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(i) 配列番号52のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号55のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(j) 配列番号58のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号61のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(k) 配列番号64のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号67のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(l) 配列番号70のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号73のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(m) 配列番号76のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号79のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、(n) 配列番号87のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号90のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖か、または(o) 配列番号93のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号96のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖を含む。

【0023】

さらに、腫瘍特異的 T C R であって、(a) 配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R β 鎖か、(b) 配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R β 鎖か、または (c) 配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80、91、及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R β 鎖を含む、腫瘍特異的 T C R が提供される。

【0024】

上述の腫瘍特異的 T C R のうちのいずれか 1 つに係るいくつかの実施形態において、腫瘍特異的 T C R は、ヒト T C R である。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、マウス化 T C R、例えば、T C R α 及び β 鎖のマウス定常領域を含む T C R などの、キメラ T C R である。

【0025】

上述の腫瘍特異的 T C R のうちのいずれか 1 つに係るいくつかの実施形態において、腫瘍特異的 T C R は、(a) 配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、(b) 配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、または (c) 配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80、91、及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R β 鎖を含む。

【0026】

また、上述の腫瘍特異的 T C R のうちのいずれか 1 つに係る腫瘍特異的 T C R の T C R α 鎖及び／または T C R β 鎖をコードする単離核酸、単離核酸（複数可）を含むベクターが提供される。

【0027】

本出願の一態様は、上述の腫瘍特異的 T C R、単離核酸、またはベクターのうちのいずれか 1 つに係る腫瘍特異的 T C R を含む、工学操作された免疫細胞を提供する。

【0028】

いくつかの実施形態では、免疫細胞は T 細胞である。いくつかの実施形態では、上述の工学操作された免疫細胞のうちのいずれか 1 つに係る工学操作された免疫細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物が提供される。

【0029】

いくつかの実施形態では、個体のがんを処置する方法であって、上述の医薬組成物のうちのいずれか 1 つに係る医薬組成物を有効量で個体に投与することを含む、方法が提供される。

【0030】

いくつかの実施形態では、上述の方法のうちのいずれか 1 つに係る方法を使用して得られた腫瘍特異的 T C R のライブラリが提供される。

【0031】

さらに、上述の組成物（例えば、単離核酸、ベクター、及び工学操作された免疫細胞）のうちのいずれか 1 つを含む、キット、医薬、及び製造品が提供される。

【0032】

本発明のこれら及び他の態様及び利点は、続く詳細な説明及び添付の特許請求の範囲から明らかになるであろう。本明細書に記載の様々な実施形態の特性のうちの1つ、いくつか、またはすべてを組み合わせ、本発明の他の実施形態を形成してもよいことを理解されたい。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

(項目1)

標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のT細胞受容体(TCR)を得る方法であって、

a) 前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1の樹状細胞(DC)集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、

b) 前記第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、

c) 前記濃縮された活性化T細胞を、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、前記腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%が、前記標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、前記第2の共培養ステップと、

d) 前記腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシングに供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて前記複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップと

を含み、

前記個体が、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された樹状細胞集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で前記個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法(MASCT)から臨床的利益を得ている、前記方法。

(項目2)

前記第1の共培養ステップが、前記濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる、項目1に記載の方法。

(項目3)

前記T細胞集団の、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第1のDC集団に対する比が、約30:1以下である、項目1または2に記載の方法。

(項目4)

前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第1のDC集団と、前記T細胞集団とが、1種以上のサイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第1の共培養培地中で共培養される、項目1～3のいずれか1項に記載の方法。

(項目5)

前記濃縮ステップが、前記第1の共培養物を、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞(APC)と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカインを特異的に認識するリガンドを使用して、前記刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む、項目1～4のいずれか1項に記載の方法。

(項目6)

前記サイトカインがIFN γ である、項目5に記載の方法。

(項目7)

前記濃縮された活性化T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第2のDC集団との比が、約1:1～約20:1である、項目1～6のいずれか1項に記載の方法。

(項目8)

前記濃縮された活性化T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第2のDC集団とが、約12～25日間にわたって共培養される、項目1～7のいずれか1項に記載の方法。

(項目 9)

前記第 2 の共培養ステップが、1 種以上のサイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第 2 の初期共培養培地中で、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第 2 の DC 集団を、前記濃縮された活性化 T 細胞集団と共培養して、第 2 の共培養物を準備することと、前記第 2 の共培養物に抗 CD 3 抗体を添加して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む、項目 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 10)

前記抗 CD 3 抗体が、前記第 2 の共培養物に、前記第 2 の共培養ステップの開始から約 3 日以内に添加される、項目 9 に記載の方法。

(項目 11)

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞 (APC) 集団と共培養して、第 2 の腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む、第 3 の共培養ステップをさらに含み、前記第 2 の腫瘍抗原特異的 T 細胞集団が、前記シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される、項目 1 ～ 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 12)

前記 APC が、P BMC、DC、または細胞株 APC である、項目 11 に記載の方法。

(項目 13)

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団との比が、約 1 : 1 ～ 約 20 : 1 である、項目 11 または 12 に記載の方法。

(項目 14)

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団とが、約 5 ～ 9 日間にわたって共培養される、項目 11 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 15)

前記腫瘍抗原特異的 T 細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団とが、1 種以上のサイトカイン及び抗 CD 3 抗体を含む第 3 の共培養培地中で共培養される、項目 11 ～ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 16)

前記第 3 の共培養ステップが繰り返される、項目 11 ～ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 17)

前記標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、前記標的腫瘍エピトープが、前記濃縮された活性化 T 細胞集団による特異的応答を誘発する、前記識別することと、APC 集団を前記標的腫瘍エピトープと接触させて、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記 APC 集団を得ることとをさらに含む、項目 1 ～ 16 に記載の方法。

(項目 18)

前記次世代シーケンシングが、単一細胞シーケンシングである、項目 1 ～ 17 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 19)

前記個体が、前記 M A S C T を受けた後、部分応答 (PR)、完全応答 (CR)、または安定疾患 (SD) を有する、項目 1 ～ 18 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 20)

前記 M A S C T が、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された DC 集団と、T 細胞集団とを共培養して、活性化 T 細胞集団を得ることを含む、項目 1 ～ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 21)

前記 M A S C T が、

(i) 1 種以上のサイトカイン及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地

10

20

30

40

50

中で、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、

(ii) 前記共培養の開始から約3～7日後の前記共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、前記活性化T細胞集団を得ることとを含む、項目1～20のいずれか1項に記載の方法。

(項目22)

前記MASTCが、

(i) 前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとDC集団を接触させて、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、

(ii) MPLAを含むDC成熟培地中で、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記DC集団を培養することと

を含む、項目1～21のいずれか1項に記載の方法。

(項目23)

前記DC成熟培地が、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む、項目22に記載の方法。

(項目24)

前記MASTCが、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記DCを有効量で前記個体に投与することを含む、項目1～23のいずれか1項に記載の方法。

(項目25)

前記個体が、前記MASTCを過去に少なくとも3回受けたことがある、項目1～24のいずれか1項に記載の方法。

(項目26)

前記腫瘍抗原特異的T細胞が、前記次世代シーケンシングの前に、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCで刺激される、項目1～25のいずれか1項に記載の方法。

(項目27)

複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRが、並行して得られる、項目1～26のいずれか1項に記載の方法。

(項目28)

TCR α 及びTCR β をコードする遺伝子対のそれぞれを宿主免疫細胞内で発現させて、TCRを発現する工学操作された免疫細胞を提供することと、前記工学操作された免疫細胞の、前記標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答を評価することとをさらに含む、項目1～27のいずれか1項に記載の方法。

(項目29)

項目28に記載の方法を含む、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRを得る方法であって、前記TCRが、前記TCRを発現する前記工学操作された免疫細胞の、前記標的腫瘍抗原ペプチドに対する前記応答に基づいて選択される、前記方法。

(項目30)

前記TCRのHLA制限を判定することをさらに含む、項目29に記載の方法。

(項目31)

前記TCRの親和性成熟をさらに含む、項目29または30に記載の方法。

(項目32)

前記TCRにおける前記TCR α 及びTCR β 鎖の対合を強化することをさらに含む、項目29～31のいずれか1項に記載の方法。

(項目33)

前記TCRの前記発現を強化することをさらに含む、項目29～32のいずれか1項に記載の方法。

(項目34)

前記標的腫瘍抗原ペプチドが、CEA、RSG-5、またはHPV18-E7に由来する、項目29～33のいずれか1項に記載の方法。

(項目35)

10

20

30

40

50

項目 1 ～ 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法を使用して得られた腫瘍特異的 T C R。

(項目 3 6)

腫瘍特異的 T C R であって、

(a) 配列番号 4、10、及び 16 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90 % の配列同一性を有する相補性決定領域 (C D R) 3 を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 7、13、及び 19 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(b) 配列番号 22、28、34、40、46、及び 52 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90 % の配列同一性を有する相補性決定領域 (C D R) 3 を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 7、13、19、25、31、37、43、49、及び 55 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、または

(c) 配列番号 58、64、70、76、87、及び 93 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90 % の配列同一性を有する相補性決定領域 (C D R) 3 を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 61、67、73、79、90、及び 96 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖

を含む、前記腫瘍特異的 T C R。

(項目 3 7)

項目 3 6 に記載の腫瘍特異的 T C R であって、

(a) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 7 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(b) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 13 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(c) 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 19 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(d) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 25 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(e) 配列番号 28 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 31 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(f) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 37 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(g) 配列番号 40 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 43 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(h) 配列番号 46 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 49 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(i) 配列番号 52 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 55 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(j) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 61 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(k) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 67 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(l) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 73 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(m) 配列番号 76 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 79 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、

(n) 配列番号 87 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 90 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、または

(o) 配列番号 93 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 96 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖

10

20

30

40

50

を含む、前記腫瘍特異的 T C R。

(項目 3 8)

腫瘍特異的 T C R であって、

(a) 配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R β 鎖か、

(b) 配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R β 鎖か、または

(c) 配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80、91、及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの C D R を含む T C R β 鎖

を含む、前記腫瘍特異的 T C R。

(項目 3 9)

項目 3 6 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の腫瘍特異的 T C R であって、

(a) 配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、

(b) 配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、または

(c) 配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80、91、及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む T C R β 鎖

を含む、前記腫瘍特異的 T C R。

(項目 4 0)

項目 3 5 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の腫瘍特異的 T C R の前記 T C R α 鎖及び / または前記 T C R β 鎖をコードする単離核酸。

(項目 4 1)

項目 4 0 に記載の単離核酸を含むベクター。

(項目 4 2)

項目 3 5 ~ 3 9 のいずれか 1 項に記載の腫瘍特異的 T C R、項目 4 0 に記載の単離核酸、または項目 4 1 に記載のベクターを含む、工学操作された免疫細胞。

(項目 4 3)

前記免疫細胞が T 細胞である、項目 4 2 に記載の工学操作された免疫細胞。

(項目 4 4)

項目 4 2 または 4 3 に記載の工学操作された免疫細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

(項目 4 5)

個体のがんを処置する方法であって、項目 4 4 に記載の医薬組成物を有効量で前記個体に投与することを含む、前記方法。

(項目 4 6)

項目 1 ~ 3 5 のいずれか 1 項に記載の方法を使用して得られた腫瘍特異的 T C R のライブラリ。

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図 1】 標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数の T C R をクローニングする例示

10

20

30

40

50

的な方法の概要を示す。

【図2】MASC Tで処置された転移性子宮頸癌患者の臨床データを示す。下パネルは、2013年12月（いかなるMASC T処置も受ける前）、2016年11月（MASC Tで安定疾患状態を達成した後）、及び2017年11月に得られた、患者のECT結果を示す。矢印及び円は、右仙腸関節骨における転移部位を指し、MASC T処置に応じて転移性腫瘍が低減したこと、及びさらなる転移がなかったことを示している。

【図3】A～Bは、ELISPOTによって判定された、カスタマイズされたMASC T処置後の、子宮頸癌抗原ペプチドプール（ペプチドプール）、及びプール中の各腫瘍抗原ペプチドに対する、患者のPBMCによる特異的免疫応答を示す。W/O＝任意の抗原ペプチドによる刺激なしの応答。ENVは、無関係なペプチドを用いた実験を指す。点線は、IFN γ 分泌レベルを反映する200, 000細胞当たりのスポットによって測定される免疫応答の上昇なしの閾値を示す。Bは、HPV18-E7、RGS-5、及びCEAペプチドに対する患者のPBMCによる一貫して強力な免疫応答を示す。

【図4】実施例2に記載の腫瘍抗原特異的T細胞を調製する例示的な方法（「方法2」）を示す。

【図5】腫瘍抗原特異的T細胞の調製中の様々な時点における細胞増殖を示す。

【図6A】様々な共培養物試料中のIFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図6B】様々な共培養物試料中のIFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図7】実施例2に記載の腫瘍抗原特異的T細胞を調製する図4の例示的な方法の最適化（「方法2m」）を示す。

【図8】腫瘍抗原特異的T細胞の調製中の様々な時点における細胞増殖を示す。

【図9A】様々な共培養物試料中のIFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図9B】様々な共培養物試料中のIFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図9C】様々な共培養物試料中のIFN γ + TNF α + 腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図10】腫瘍抗原ペプチドのそれぞれによって刺激された腫瘍抗原特異的細胞中のIFN γ + CD4⁺及びIFN γ + CD8⁺細胞のパーセンテージを示す。MASC Tから臨床的利益を得ている患者由来のPBMCと、CEA、RGS5、及びHPV18-E7に由来する腫瘍抗原ペプチドのプールとを使用して、腫瘍抗原特異的細胞を調製した。

【図11】次世代シーケンシングによって判定された様々なT細胞試料中のユニークなTCRクローン型の頻度を示す。

【図12】MASC Tから臨床的利益を得ている患者由来の異なるPBMC試料を使用した腫瘍抗原特異的T細胞調製物におけるCEA、RGS5、及びHPV18-E7の各ペプチドに特異的であり得るTCR α 及びTCR β 配列のユニークなクローン型の数を要約する。クローン型は、図11に示した様々な試料中の発現頻度パターンに基づいて選択した。結果は、バルクT細胞試料の次世代シーケンシングによって得られた。

【図13】腫瘍抗原特異的T細胞による特異的免疫応答についてスクリーニングされた、HPV18-E7、RGS-5、及びCEAペプチドの断片のサブプールを示す。RGS5-OLP5ペプチドは、方法2及び方法2mを使用して調製した腫瘍抗原特異的T細胞による最も強力な特異的応答を誘発することが示された。

【図14A】方法2mを使用して調製した腫瘍抗原特異的T細胞を、抗原ペプチド断片のサブプールのそれぞれによって刺激した後の、IFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図14B】方法2を使用して調製した腫瘍抗原特異的T細胞を、抗原ペプチド断片のサブプールのそれぞれによって刺激した後の、IFN γ + TNF α + 腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図15A】実施例3に記載の方法2または方法2mによって調製した腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックから腫瘍抗原特異的T細胞を調製する例示的な方法を示す。

【図15B】実施例3に記載の方法2または方法2mによって調製した腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックから腫瘍抗原特異的T細胞を調製する例示的な方法を示す。

【図16】腫瘍抗原特異的T細胞の調製中の様々な時点における細胞増殖を示す。

【図17A】様々な共培養物試料中のIFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図17B】様々な共培養物試料中のIFN γ + TNF α + 腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

【図18】A～Bは、次世代シーケンシングによって判定された様々なT細胞試料中のTCR α 及びTCR β のユニークなクローン型の頻度を示す。

10

【図19】単一細胞シーケンシングによって判定された、iPair Analyzerを使用したTCR α 及びTCR β の対合の結果を示す。96ウェルプレートにおいて対合に成功したTCR α 及びTCR β 配列を生じさせたウェルを灰色で示し、ウェル位置番号でマークしている。TCR β 配列のみを生じさせたウェルは薄灰色で示し、TCR α 配列のみを生じさせたウェルは濃灰色で示している。

【図20】実施例2に記載の腫瘍抗原特異的T細胞を調製する例示的な方法を示す。

【図21A】腫瘍抗原特異的T細胞の調製中の様々な時点における細胞増殖を示す。

【図21B】濃縮ステップの前及び後のIFN γ + CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。

20

【図22A】様々な共培養物試料における細胞増殖及び腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。

【図22B】様々な共培養物試料における細胞増殖及び腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。

【図23】腫瘍特異的TCRの例示的な検証ステップを示す。

【図24】例示的なTCR構築物を示す。

【図25A】例示的なTCR構築物の組成及び配列を示す。

【図25B】例示的なTCR構築物の組成及び配列を示す。

【図26A】09B03及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図26B】09B03及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

30

【図26C】09B03及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図26D】09B03及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図27A】P09E06及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図27B】P09E06及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図27C】P09E06及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図27D】P09E06及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図28A】09B12及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図28B】09B12及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図28C】09B12及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図29A】09E01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

40

【図29B】09E01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図29C】09E01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図30A】10F04及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図30B】10F04及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図30C】10F04及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図30D】10F04及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図31A】33D05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図31B】33D05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図31C】33D05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

【図32A】P09B08及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。

50

- 【図32B】P09B08及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図32C】P09B08及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図32D】P09B08及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33A】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33B】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33C】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33D】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33E】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33F】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図33G】09H05及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。 10
- 【図34A】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図34B】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図34C】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図34D】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図34E】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図34F】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図34G】09D01及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図35A】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図35B】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図35C】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。 20
- 【図35D】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図35E】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図35F】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図35G】33A02及び関連するTCR構築物の検証結果を示す。
- 【図36】ELISPOTアッセイによって判定された、MAST処置後の、腫瘍抗原ペプチドプール、及びプール中の各腫瘍抗原ペプチドに対する、患者のPBMCによる特異的免疫応答を示す。パーセンテージは、ペプチド濃度の低減を示す。例えば、1/20ベースペプチドは、20倍希釈における一般的な腫瘍抗原ペプチドのプールを示す。
- 【図37】患者SMZ由来のPBMCを使用して腫瘍抗原特異的T細胞を調製する例示的な2ラウンドの方法のラウンド1のプロトコルを示す。 30
- 【図38A】ラウンド1の様々な時点における細胞増殖を示す。
- 【図38B】濃縮ステップ後のIFN γ ⁺CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。
- 【図39A】ラウンド1の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。
- 【図39B】ラウンド1の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。
- 【図39C】ラウンド1の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。
- 【図39D】ラウンド1の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。 40
- 【図39E】ラウンド1の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。
- 【図39F】ラウンド1の終了時に得られたIFN γ ⁺CD4⁺腫瘍抗原特異的T細胞におけるエフェクターT細胞集団を示す。
- 【図40】患者SMZ由来のPBMCを使用して腫瘍抗原特異的T細胞を調製する例示的な2ラウンドの方法のラウンド2のプロトコルを示す。
- 【図41A】ラウンド2の様々な時点におけるT細胞及び腫瘍特異的T細胞の数を示す。
- 【図41B】ラウンド2の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的T細胞集団のパーセンテージを示す。 50

【図 4 1 C】ラウンド 2 の様々な共培養物試料における腫瘍抗原特異的 T 細胞集団のパーセンテージを示す。

【図 4 2】ラウンド 1 及びラウンド 2 の様々な時点における T 細胞及び腫瘍抗原特異的 T 細胞の数を示す。

【発明を実施するための形態】

【0034】

本出願は、多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）などの免疫療法から臨床的利益を得ている個体由来の P B M C または T 細胞を使用して、1 つ以上の腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数の T 細胞受容体（T C R）をクローニングするためのプラットフォームを提供する。本明細書に記載の方法は、T 細胞と抗原負荷樹状細胞（「D C」）の共培養物から活性化 T 細胞を濃縮し、その後、濃縮された活性化 T 細胞を抗原負荷 D C と共培養して、バルク及び／または単一細胞シーケンシングのための腫瘍抗原特異的 T 細胞を準備して、複数の対合した T C R α 及び T C R β 遺伝子を得ることを含む。T 細胞の源、ならびに本明細書に記載の方法における濃縮ステップ及び共培養ステップは、次世代シーケンシングによって多く見られる T C R クローン型の T C R α 及び T C R β 遺伝子に関する同族対合情報を得るために必須である、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する腫瘍抗原特異的 T 細胞の高いパーセンテージ（例えば、T 細胞試料のバルクシーケンシングの場合は少なくとも約 1 % 以上、または単一 T 細胞シーケンシングの場合は少なくとも 10 % 以上）に寄与する。腫瘍特異的 T C R、T C R を発現する工学操作された免疫細胞、及び工学操作された免疫細胞を使用してがんを処置する方法も提供される。

【0035】

当技術分野において現在開発中及び臨床試験中の T C R は、典型的に、既定の腫瘍抗原エピトープペプチドで刺激される、健康なヒトドナーの P B M C からクローニングされる。結果として、このような T C R を発現する T 細胞で処置された患者における臨床応答は、予測不可能である。対照的に、本出願の T C R は、標的腫瘍抗原ペプチドに含まれる腫瘍抗原エピトープ（複数可）を標的とする T C R の抗腫瘍潜在性を示す、MAST 処置から臨床的利益を得ている個体から得られる。

【0036】

さらに、健康なヒトドナーの P B M C からクローニングされる現在知られている T C R は、それらの標的腫瘍抗原エピトープ H L A 複合体に対して低い親和性を有する。T C R α 及び T C R β 鎖のアミノ酸配列の最適化が、T C R の親和性を向上させるために必要であり、これは、T C R の交差反応、オフターゲット副作用、及び重度の毒性のリスクを増加させる。対照的に、本出願の T C R は、臨床応答を示しているがん患者を用いてクローニングされるため、本明細書に記載の T C R は、親和性最適化を必要としない場合があり、したがって、臨床所における安全性プロファイルの向上が期待できる。

【0037】

いくつかの実施形態では、T C R は、ある人種群の個体から、その人種群に多く見られる H L A ハプロタイプを反映する H L A 制限を有する T C R を提供するようにクローニングされる。今日の臨床試験における T C R のほとんどは、コーカサス人集団に多く見られる H L A - D P B 1 * 0 4 0 1 及び H L A - A * 0 2 0 1 などのハプロタイプに対して H L A 制限的である。本明細書に記載の方法は、例えば、アジア人患者の処置により効果的であり得る H L A - A * 1 1 0 1 または H L A - A * 2 4 0 2 制限的 T C R を含め、任意の目的の人種群に対して H L A 制限的である T C R を得るために使用され得る。

【0038】

したがって、本出願の一態様は、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数の T 細胞受容体（T C R）を得る方法であって、a）標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 1 の樹状細胞（D C）集団を、個体由来の T 細胞集団と共培養して、第 1 の共培養物を得ることを含む、第 1 の共培養ステップと、b）第 1 の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化 T 細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、c）濃縮された活性化 T 細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 2 の D C 集団と共培養して、腫瘍抗原特異的 T 細胞を得ることを含む、第 2 の共培養ステップとを含む。

胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、d）腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された樹状細胞集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MA SCT」）から臨床的利益を得ている、方法を提供する。いくつかの実施形態では、複数の標的腫瘍抗原を特異的に認識するTCRは、本方法において並行して得られる。

10

【0039】

I. 定義

本明細書において、用語は、以下に別段に定義されない限り、当技術分野で一般的に使用されているように使用される。

【0040】

本明細書で使用される、「複数の（a plurality of）腫瘍抗原ペプチド」、「複数の（multiple）腫瘍抗原ペプチド」、「腫瘍抗原ペプチドのプール」、及び「腫瘍抗原ペプチドプール」は、2つ以上の腫瘍抗原ペプチドの組み合わせを指すように交換可能に使用される。

20

【0041】

本明細書で使用される、「複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞」及び「1つ以上の腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞」は、「抗原負荷抗原提示細胞」ともいう。複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞（「APC」）は、複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の腫瘍抗原ペプチドまたはそれらの断片の提示が強化されているAPCである。いくつかの実施形態では、抗原負荷APCは、抗原負荷DCである。いくつかの実施形態では、抗原負荷APCは、抗原負荷PBMCである。

【0042】

本明細書で使用される、「活性化T細胞」は、少なくとも1つの腫瘍抗原ペプチドを認識するT細胞受容体を有する、モノクローナル（例えば、同じTCRをコードする）T細胞またはポリクローナル（例えば、複数のクローンが異なるTCRをコードする）T細胞の集団を指す。活性化T細胞は、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、調節性T細胞、及びメモリーT細胞を含むがこれらに限定されない、T細胞の1種以上のサブタイプを含み得る。

30

【0043】

「腫瘍抗原特異的T細胞」及び「腫瘍特異的T細胞」は、本明細書では交換可能に使用される。

【0044】

本明細書で使用される、「T細胞受容体」または「TCR」は、MHC分子内で結合した特異的抗原エピトープに結合する細胞外抗原結合ドメインを含む、内在性T細胞受容体または工学操作されたT細胞受容体を指す。TCRは、TCR α ポリペプチド鎖及びTCR β ポリペプチド鎖を含み得る。「腫瘍特異的TCR」は、腫瘍細胞によって発現される腫瘍抗原を特異的に認識するTCRを指す。「TCR-T」は、組換えTCRを発現するT細胞を指す。

40

【0045】

本明細書で使用される、「免疫チェックポイント阻害剤」は、免疫細胞（例えばT細胞）または腫瘍細胞における阻害性免疫チェックポイント分子を阻害または遮断する薬剤（抗体を含む）を指す。「免疫チェックポイント分子」には、腫瘍細胞に対する免疫シグナルを強める分子（すなわち、「共刺激分子」）、または免疫シグナルを弱める分子（すなわち、「阻害性免疫チェックポイント分子」）が含まれる。

50

【0046】

本明細書で使用される、「処置」または「処置すること」は、臨床結果を含む有益な結果または所望の結果を得るためのアプローチである。本発明の目的では、有益な臨床結果または所望の臨床結果としては、次のうちの1つ以上が挙げられるが、これらに限定されない：疾患に起因する1つ以上の症状の減少、疾患の広がり、軽減、疾患の安定化（例えば、疾患の悪化の防止または遅延）、疾患の蔓延（例えば転移）の防止または遅延、疾患の発生または再発の防止または遅延、疾患の進行の遅延または減速、病状の改善、疾患の寛解（部分的か全体的かを問わない）の提供、疾患の処置に必要な1つ以上の他の薬物の用量の減少、疾患の進行の遅延、生活の質の向上、及び／または生存期間の延長。「処置」には、がんの病理学的帰結の低減も包含される。本発明の方法は、これらの処置の態様のうちのいずれか1つ以上を想定する。

10

【0047】

本明細書で使用される、がんの発症を「遅延させること」は、疾患の発症を、先送り、妨害、減速、遅滞、安定化、及び／または延期することを意味する。この遅延は、病歴及び／または処置される個体に応じて様々な期間のものであり得る。当業者には明白であるように、十分な、または著しい遅延は、個体が疾患を発症しないという意味で、実質的に予防を包含し得る。がんの発症を「遅延させる」方法は、その方法を使用しない場合と比較して、所与の時間枠内で疾患発症の可能性を低減させ、及び／または所与の時間枠内で疾患の広がりを低減させる方法である。かかる比較は、典型的には、統計的に有意な数の個体を使用する臨床研究に基づく。がん発症は、コンピュータ体軸断層撮影（CATスキャン）、磁気共鳴画像法（MRI）、腹部超音波検査、凝血検査、動脈造影法、または生検を含むがこれらに限定されない標準的な方法を使用して検出可能であり得る。発症とは、初期に検出不可能であり得るがん進行も指し、発生、再発、及び発病を含む。

20

【0048】

「個体」、「対象」、及び「患者」という用語は、本明細書では、ヒトを含む哺乳動物を表現するために交換可能に使用される。個体としては、ヒト、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、げっ歯類、または霊長類が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、個体はヒトである。いくつかの実施形態では、個体は、がんなどの疾患を患っている。いくつかの実施形態では、個体は、処置を必要とする。

【0049】

当技術分野で理解されているように、「有効量」とは、所望の治療成績（例えば、がんの重症度もしくは持続期間の低減、がんの重症度の安定化、またはがんの1つ以上の症状の解消）をもたらすのに十分な、組成物（例えば、抗原負荷DC、活性化T細胞、またはTCRを発現する工学操作された免疫細胞）の量を指す。治療用途の場合、有益な結果または所望の結果としては、例えば、疾患に起因する1つ以上の症状（生化学的、組織学的、及び／または行動学的）（その合併症及び疾患の発症中に現れる中間的な病理学的表現型を含む）の減少、疾患を患う者の生活の質の向上、疾患の処置に必要な他の薬物の用量の減少、別の薬物の効果の強化、疾患の進行の遅延、及び／または患者の生存期間の延長が挙げられる。

30

【0050】

「アジュバント設定」とは、個体のがんの病歴を有しており、手術（例えば、手術切除）、照射療法、及び化学療法を含むがこれらに限定されない療法に対して、（必ずしもではないが）概ね応答している臨床設定を指す。しかしながら、個体のがんの病歴があるため、これらの個体は、疾患を発症するリスクがあると見なされる。「アジュバント設定」における処置または投与は、その後の処置様式を指す。リスクの程度（例えば、アジュバント設定における個体が「高リスク」または「低リスク」と見なされる場合）は、いくつかの要因、最も一般的には最初に処置されたときの疾患の広がり依存する。

40

【0051】

「ネオアジュバント設定」とは、本方法が一次／原因療法前に行われる臨床設定を指す。

【0052】

50

本明細書で使用される、「併用療法」とは、第1の薬剤が別の薬剤と併せて投与されることを意味する。「と併せて」とは、1つの処置様式を、別の処置様式に加えて供与すること、例えば、本明細書に記載の組成物（例えば、抗原負荷DC、活性化T細胞、またはTCRを発現する工学操作された免疫細胞）を、別の薬剤（例えば免疫チェックポイント阻害剤）の投与に加えて、同じ個体に投与することを指す。したがって、「と併せて」とは、個体に、1つの処置様式を、他の処置様式を行う前、行っている間、または行った後に供与することを指す。このような組み合わせは、単一の処置レジメンまたは管理体制の一部であると見なされる。

【0053】

「同時投与」という用語は、本明細書で使用される場合、併用療法における第1の療法剤及び第2の療法剤が、約15分以下、例えば約10分以下、5分以下、または1分以下のいずれかの時間間隔において投与されることを意味する。第1及び第2の療法剤が同時に投与される場合、第1及び第2の療法剤は、同じ組成物（例えば、第1及び第2の療法剤の両方を含む組成物）に含有されてもよいし、または別々の組成物に含有されてもよい（例えば、1つの組成物に第1の療法剤が含まれ、別の組成物に第2の療法剤が含有されている）。

10

【0054】

本明細書で使用される、「連続投与」という用語は、併用療法における第1の療法剤及び第2の療法剤が、約15分超、例えば約20分超、30分超、40分超、50分超、60分超、またはそれ以上のいずれかの時間間隔において投与されることを意味する。第1の療法剤または第2の療法剤のいずれが最初に投与されてもよい。第1及び第2の療法剤は、別々の組成物に含有されており、これらの組成物は、同じパッケージもしくはキットに収容されていてもよいし、または異なるパッケージもしくはキットに収容されていてもよい。

20

【0055】

本明細書で使用される、「同時発生的投与」は、併用療法における第1の療法剤の投与及び第2の療法剤の投与が互いと重複することを意味する。

【0056】

本明細書で使用される、「薬学的に許容される」または「薬理学的に適合する」とは、生物学的またはその他の点で望ましくないことのない物質を意味する。例えば、この物質は、重大な望ましくない生物学的効果を引き起こしたり、またはその物質が含まれている組成物の他の成分のうちのいずれかと有害な様式で相互作用したりすることなく、個体に投与される医薬組成物に組み込まれ得る。薬学的に許容される担体または賦形剤は、好ましくは、毒性試験及び製造試験の必要な基準を満たしており、及び／または米国食品医薬品局によって作成されたInactive Ingredient Guideに含まれている。

30

【0057】

標的病変に基づく応答を評価するためには、以下の定義が使用され得る：「完全応答」または「CR」は、すべての標的病変の消失を指し、「部分応答」または「PR」は、標的病変の長径和（SLD）における、ベースラインSLDを基準として少なくとも30%の減少を指し、「安定疾患」または「SD」は、処置開始以来、最小のSLDを基準として、PRと認定するのに十分な標的病変の収縮も、PDと認定するのに十分な増加もないことを指し、「疾患進行（progressive disease）」または「PD」は、標的病変のSLDにおける、処置開始以来に記録された最小のSLDを基準として少なくとも20%の増加、または1つ以上の新たな病変の存在を指す。

40

【0058】

非標的病変を評価するためには、以下の応答評価の定義が使用され得る：「完全応答」または「CR」は、すべての非標的病変の消失を指し、「安定疾患」または「SD」は、CRまたはPDと認定されない1つ以上の非標的病変の持続を指し、「疾患進行」または「PD」は、非標的病変（複数可）の「明白な進行」を指すか、または、1つ以上の新た

50

な病変（複数可）の出現が、疾患進行と見なされる（非標的病変（複数可）の進行のみに基づいてある時点の個体のPDを評価しようとする場合、さらなる基準を満たす必要がある。

【0059】

本明細書で使用される、「細胞」、「細胞株」、及び「細胞培養物」という用語は、交換可能に使用され、このような表記はすべて、子孫を含む。すべての子孫は、意図的または偶発的な突然変異により、DNA含有量において厳密に同一でない場合があることが理解される。元の細胞と同じ機能または生物学的活性を有するバリエーション子孫が含まれる。

【0060】

「ペプチド」という用語は、直鎖状もしくは分枝状であってもよく、修飾されたアミノ酸を含んでもよく、及び／または非アミノ酸が介在していてもよい、アミノ酸約100個以下のアミノ酸のポリマー（タンパク質の断片を含む）を指す。この用語には、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作もしくは修飾を含め、天然に、または介入によって修飾されているアミノ酸ポリマーも包含される。また、この用語には、例えば、アミノ酸の1種以上の類似体（例えば、非天然アミノ酸などを含む）を含むペプチド、ならびに当技術分野で公知の他の修飾も含まれる。本明細書に記載のペプチドは、天然に存在するもの、すなわち天然源（例えば血液）から取得もしくは導出されるものであってもよいし、または合成されたもの（例えば、化学合成されたもの、もしくは組換えDNA技術によって合成されたもの）であつてもよい。

【0061】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、最も広義に使用され、特に、それらが所望の生物学的活性を呈する限り、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を含む。

【0062】

「抗体断片」は、インタクト抗体の一部を含み、好ましくは、その抗原結合領域を含む。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片；ダイアボディ；線状抗体；一本鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。

【0063】

本明細書で使用される、「特異的に結合する」、「認識する」、「特異的に認識する」、「標的とする」、または「に特異的」という用語は、生体分子を含む分子の異種集団の存在下において標的の存在を決定づける、標的と抗体、または受容体とリガンド、または受容体とエピトープ／MHC複合体の結合などの測定可能かつ再現可能な相互作用を指す。例えば、標的エピトープに結合するかまたは特異的に結合するTCRは、他のエピトープ／MHC複合体に結合するよりも高い親和性、結合力で、より容易に、及び／またはより長い持続時間で標的エピトープ／MHC複合体に結合するTCRである。一実施形態では、TCRが無関係なエピトープ／MHC複合体に結合する程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定した場合の、TCRの標的エピトープ／MHC複合体への結合の約10%未満である。ある特定の実施形態では、標的エピトープ（すなわち、標的エピトープ／MHC複合体）に特異的に結合するTCRは、1 μM以下、100 nM以下、10 nM以下、1 nM以下、または0.1 nM以下の解離定数（K_d）を有する。ある特定の実施形態では、TCRは、異なる種に由来するタンパク質間で保存されるタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。別の実施形態では、特異的結合は、排他的結合を含み得るが、必須ではない。

【0064】

本明細書で使用される「単離核酸」という用語は、ゲノム起源、cDNA起源、もしくは合成起源、またはこれらのいくつかの組み合わせの核酸を意味することを意図し、その起源のため、「単離核酸」は、（１）「単離核酸」が天然に見出されるポリヌクレオチドのすべてまたは一部分とは関連していないか、（２）それが天然には連結していないポリ

10

20

30

40

50

ヌクレオチドに作動可能に連結しているか、または（３）より大きな配列の一部として天然には存在しない。

【００６５】

本明細書に記載される本発明の態様及び実施形態は、態様及び実施形態「からなる」及び／または「から本質的になる」を含むことが理解される。

【００６６】

本明細書における「約」の値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体を対象とするバリエーションを含む（及び記述する）。例えば、「約 X」について言及する記述は、「X」の記述を含む。

【００６７】

本明細書で使用される「約 X～Y」という用語は、「約 X～約 Y」と同じ意味を有する。

【００６８】

本明細書で使用される、ある値またはパラメータ「ではない」への言及は、概して、ある値またはパラメータ「以外」を意味し、記述する。例えば、本方法がタイプ X のがんを処置するために使用されないとは、本方法が X 以外のタイプのがんを処置するために使用されることを意味する。

【００６９】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される、「a」、「an」、及び「the」という単数形は、文脈上特に明記されていない限り複数の参照対象を含む。

【００７０】

II. 腫瘍特異的 TCR を得る方法

本出願は、免疫療法から臨床的利益を得ている個体の P B M C または T 細胞から、１つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数の T 細胞受容体（TCR）を得る方法を提供する。いくつかの実施形態では、免疫療法は、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片を特異的に認識する活性化 T 細胞を有効量で個人に投与することを含む、養子 T 細胞療法である。いくつかの実施形態では、免疫療法は、１つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された樹状細胞集団と T 細胞集団を共培養することによって調製された活性化 T 細胞を有効量で個体に投与することを含む、多重抗原特異的細胞療法（「MA S C T」）である。いくつかの実施形態では、単一の標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片（例えば、標的腫瘍エピトープ）を特異的に認識する TCR が得られる。いくつかの実施形態では、複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する TCR が、本方法を使用して同時に得られる。

【００７１】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数の TCR を得る方法であって、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及び TCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及び TCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数の T 細胞受容体を提供することを含み、腫瘍抗原特異的 T 細胞の少なくとも約 10 %（例えば、少なくとも約 20 %、または少なくとも約 50 %）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答し、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団が、i）標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 1 の DC 集団を、個体由来の T 細胞集団と共培養して、第 1 の共培養物を得ることを含む、第 1 の共培養ステップと、ii）第 1 の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化 T 細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、iii）濃縮された活性化 T 細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 2 の DC 集団と共培養して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む、第 2 の共培養ステップとによって調製され、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された DC 集団と T 細胞集団を共培養することによって調製された活性化 T 細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MA S C T」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。

【００７２】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数の TCR を得

10

20

30

40

50

る方法であって、a) 濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることと、b) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することとを含み、濃縮された活性化T細胞集団が、i) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、ii) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップとから調製され、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。

【0073】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、個体由来のT細胞集団とを含む第1の共培養物を、濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることと、b) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることと、c) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。

【0074】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC中

に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第1の共培養培地は、IL-2及び抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1:1~約20:1（例えば、約1:1、2:1、または4:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12~25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCを受けた後、少なくとも約6か月間（例えば、少なくとも約1年間、2年間、またはそれ以上）にわたり、応答（PR）、完全応答（CR）、または安定疾患（SD）を有する。

【0075】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMc）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカインまたは細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MASTC」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMc）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、IFN γ を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1~約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMc中に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、複数のサイトカイン（例えば、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1:1~約20:1（例えば、約1:1、2:1、または4:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12~25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCを受けた後、応答（PR）、完全応答（CR）、または安定疾患（SD）を有する。

【0076】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得

10

20

30

40

50

る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3（例えば、OKT-3）抗体と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、IFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することとを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約1:1、2:1、または4:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、個体は、MASTを受けた後、応答（PR）、完全応答（CR）、または安定疾患（SD）を有する。

【0077】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）

が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第3の共培養ステップと、e) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、IFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、2：1、または4：1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約4：1）である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団とは、約5～9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では、個体は、MASTを受けた後、応答（PR）、完全応答（CR）、または安定疾患（SD）を有する。

【0078】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMCまたはDC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、IFN γ ）を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された

10

20

30

40

50

活性化T細胞集団を単離することを含む、濃縮ステップと、c) 免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と、約5～9日間（例えば、7日間）にわたって共培養し、第3の共培養物に、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団を添加し、約5～9日間（例えば、7日間）にわたって培養し、この共培養物に、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第3のAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団を添加し、約5～9日間（例えば、7日間）にわたって培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第3の共培養ステップと、e) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含み、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約1:1、2:1、または4:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のAPC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約4:1）である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCとは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、個体は、MASTを受けた後、応答（PR）、完全応答（CR）、または安定疾患（SD）を有する。

【0079】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む

、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップと、d) 標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、標的腫瘍エピトープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団を標的腫瘍エピトープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることを含む、スクリーニングステップと、e) 腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第3の共培養ステップと、f) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「MAST」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、IFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、2：1、または4：1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約4：1）である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団とは、約5～9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では、個体は、M A S C Tを受けた後、応答（P R）、完全応答（C R）、または安定疾患（S D）を有する。

【0080】

本明細書に記載の方法のうちのいずれか1つを使用して、第1の共培養ステップ、濃縮ステップ、及び第2の共培養ステップにおいて、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたA P C（例えば、P B M CまたはD C）を使用することにより、複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するT C Rを並行して得ることができる。いくつかの実施形態では、個々の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたA P C（例えば、P B M C、D C、または細胞株A P C）を、第3の共培養ステップで使用して、シーケンシングのための個々の腫瘍抗原特異的T細胞集団を調製する。いくつかの実施形態では、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたA P C（例えば、P B M C、D C、または細胞株A P C）を、第3の共培養ステップで使用して、シーケンシングのためのプールされた腫瘍抗原特異的T細胞集団を調製する。いくつかの実施形態では、少なくとも約2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、またはそれ以上のうちのいずれか1つの標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するT C Rが、本方法を使用して得られる。

【0081】

したがって、いくつかの実施形態では、複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のT C Rを得る方法であって、a) 複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のD C集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞を、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のD C集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、複数の標的腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、d) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、T C R α 及びT C R β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、T C R α 及びT C R β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、個体が、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（「M A S C T」）から臨床的利益を得ている、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷D C集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、P B M C中に存在する。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷D C集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばI L - 2または複数のサイトカイン、例えばI L - 2、I L - 7、I L - 15、及びI L - 21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、S H R - 1 2 1 0などの抗P D - 1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたA P C（例えば、D CまたはP B M C）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、I F N γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷D C集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、2：1、または4：1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷D C集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば

10

20

30

40

50

、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約4:1）である。いくつかの実施形態では、本方法は、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることとを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団は、シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、約5～9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、標的腫瘍エピトープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC集団を標的腫瘍エピトープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることとをさらに含む。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCを受けた後、応答（PR）、完全応答（CR）、または安定疾患（SD）を有する。

【0082】

TCRは、本明細書の「MASTC」のセクションに記載されるMASTC方法のうちのいずれか1つまたは組み合わせを含むMASTCから臨床的利益を得ている任意の個体から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、個体は、MASTCを受けた後、少なくとも約6か月間（例えば、少なくとも約1年間、2年間、またはそれ以上）にわたり、部分応答（PR）を有する。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCを受けた後、少なくとも約6か月間（例えば、少なくとも約1年間、2年間、またはそれ以上）にわたり、完全応答（CR）を有する。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCを受けた後、安定疾患（SD）を有する。

【0083】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 必要に応じて、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することと、b) 複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、第1のT細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることと、c) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することと、d) 活性化T細胞の投与後にPR、CR、またはSDを達成した後、個体から第2のT細胞集団を得ることと、e) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、第2のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることとを含む、第1の共培養ステップと、f) 共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることとを含む、濃縮ステップと、g) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることとを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、h) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTC

10

20

30

40

50

Rβをコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける第2のT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、第2のT細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、IFNγ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、2：1、または4：1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約4：1）である。いくつかの実施形態では、本方法は、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団は、シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、約5～9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、標的腫瘍エピトープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC集団を標的腫瘍エピトープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることとをさらに含む。

【0084】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとDC集団を接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、b) MPLAを含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することと、c) 必要に応じて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することと、d) 複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、第1のT細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることと、e) 活性化T細胞を有効量で個体に投与

10

20

30

40

50

することと、f) 活性化T細胞の投与後にPR、CR、またはSDを達成した後、個体から第2のT細胞集団を得ることと、g) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、第2のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、h) 共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、i) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、j) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける第2のT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、第2のT細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、INF γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することとを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、2：1、または4：1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約4：1）である。いくつかの実施形態では、本方法は、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団は、シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、約5～9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では

10

20

30

40

50

、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、標的腫瘍エピトープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC集団を標的腫瘍エピトープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることとをさらに含む。

【0085】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 任意選択で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することと、b) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、第1のT細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、共培養の開始から約3〜7日（例えば、約5日）後の共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、活性化T細胞集団を得ることと、c) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することと、d) 活性化T細胞の投与後にPR、CR、またはSDを達成した後、個体から第2のT細胞集団を得ることと、e) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、第2のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、f) 共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、g) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、h) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける第2のT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、第2のT細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、IFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することとを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1:1〜約20:1（例えば、約1:1、2:1、または4:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12〜25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団との比は、約1:1〜約20:1（例えば、約4:1）である。いくつかの実施形態では、本方法は、

10

20

30

40

50

腫瘍抗原特異的T細胞集団を、複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団は、シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、約5～9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、標的腫瘍エピトープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC集団を標的腫瘍エピトープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることとをさらに含む。【0086】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとDC集団を接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、b) MPLAを含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することと、c) 必要に応じて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することと、d) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、第1のT細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、共培養の開始から約3～7日（例えば、約5日）後の共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、活性化T細胞集団を得ることと、e) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することと、f) 活性化T細胞の投与後にPR、CR、またはSDを達成した後、個体から第2のT細胞集団を得ることと、g) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、第2のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、h) 共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、i) 濃縮された活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、または少なくとも約50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、第2の共培養ステップと、j) 腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシング（例えば、単一細胞シーケンシング）に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップとを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける第2のT細胞集団は、PBMC中に存在する。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、第2のT細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、SHR-1210などの抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、複数の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、DCまたはPBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば、INF γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性

10

20

30

40

50

化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1:1~約20:1（例えば、約1:1、2:1、または4:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12~25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT-3）を添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第2の初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団との比は、約1:1~約20:1（例えば、約4:1）である。いくつかの実施形態では、本方法は、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団は、シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、約5~9日間（例えば、約7日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは繰り返される（例えば、1回または2回）。いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エпитープを識別することであり、標的腫瘍エпитープが、濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、識別することと、APC集団を標的腫瘍エпитープと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC集団を得ることとをさらに含む。

【0087】

いくつかの実施形態では、TCRは、MAST方法に应答する個体、例えば、MAST後に低減したCTC数または低いCTC数を有する個体、安定疾患（SD）、完全应答（CR）、または部分应答（PR）の臨床評価を有する個体からクローニングされる。いくつかの実施形態では、個体は、少なくとも約6か月間（例えば、少なくとも約1年間、2年間、またはそれ以上）にわたってPR、CR、またはSDの状態を保つ。いくつかの実施形態では、個体は、標的腫瘍抗原ペプチドに対する強力な特異的免疫応答を有する。標的腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して、例えば、標的腫瘍抗原ペプチドによる刺激の後、T細胞（またはPBMC）からの細胞傷害性因子（例えばパーフォリンまたはグランザイムB）またはサイトカイン（例えばIFN γ またはTNF α ）の放出レベルを測定することによって判定することができる。ELISPOTなどの抗体ベースのアッセイを使用して、細胞傷害性因子またはサイトカイン（例えばIFN γ ）のレベルを定量化してもよい。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドに応じたT細胞（またはPBMC）からのサイトカイン（例えばIFN γ ）の放出レベルを、ベースラインサイトカイン放出レベルなどの基準、または無関係なペプチドに応じたT細胞（またはPBMC）からの非特異的サイトカイン放出レベルに対して正規化して、サイトカイン（例えばIFN γ ）の変化倍率値を提供する。いくつかの実施形態では、ELISPOTアッセイにおける、約1.2超、1.5超、2超、2.5超、3超、4超、5超、6超、8超、10超、またはそれ以上のうちのいずれかのサイトカイン（例えばIFN γ ）の変化倍率値は、標的腫瘍抗原ペプチドに対する強力な特異的免疫応答を示す。いくつかの実施形態では、TCRをクローニングする方法は、個体における、例えば個体のPBMC試料における、複数の腫瘍抗原ペプチドのそれぞれの特異

10

20

30

40

50

的免疫応答を判定することをさらに含む。

【0088】

T細胞は、MA S C Tを受けた後の個体由来の生体試料から単離され得る。いくつかの実施形態では、生体試料は、1サイクルのMA S C T後の個体から得られる。いくつかの実施形態では、生体試料は、少なくとも2、3、4、5、またはそれ以上のいずれかのサイクルのMA S C T後の個体から得られる。いくつかの実施形態では、生体試料は、MA S C Tを受けた後、少なくとも約1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、5週間後、6週間後、2か月後、または3か月後のいずれかの個体から得られる。いくつかの実施形態では、生体試料は、MA S C Tを受けた後、約6か月以内、3か月以内、2か月以内、1か月以内、またはそれ未満のいずれかの個体から得られる。いくつかの実施形態では、生体試料は、血液試料である。いくつかの実施形態では、生体試料は、P B M C試料である。いくつかの実施形態では、生体試料は、T細胞試料である。いくつかの実施形態では、生体試料は、C T Lを含有する腫瘍試料である。T細胞は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して、例えば、フローサイトメトリーまたは遠心分離方法によって、生体試料から単離され得る。いくつかの実施形態では、生体試料から得られた複数のT細胞は、複数の腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答について、例えば、マルチマー（例えばペンタマーまたはデキストラマー）での染色によって、または細胞による細胞傷害性因子（例えばパーフォリンまたはグランザイムB）もしくはサイトカイン（例えばI F N γ またはT N F α ）の放出レベルを判定することによってスクリーニングされる。

【0089】

T細胞が特異的に認識する標的腫瘍抗原ペプチドは、MA S C Tのために使用される腫瘍抗原ペプチドプール（複数可）のうちの任意の腫瘍抗原ペプチドまたはその断片であり得る。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、M H C - I 制限エピトープを含む。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、M H C - I I 制限エピトープを含む。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、一般的ながん腫瘍抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、がんタイプ特異的な腫瘍抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、ネオ抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、h T E R T、p 5 3、サバイビン、N Y - E S O - 1、C E A、C C N D 1、R G S 5、M M P 7、V E G F R 1、V E G F R 2、M U C 1、H E R 2、M A G E - A 1、M A G E - A 3、C D C A 1、W T 1、K R A S、P A R P 4、M L L 3、M T H F R、H P V 1 6 - E 6、H P V 1 6 - E 7、H P V 1 8 - E 6、H P V 1 8 - E 7、H P V 5 8 - E 6、H P V 5 8 - E 7、H B c A g、H B V ポリメラーゼ、G P C 3、S S X、及びA F Pからなる群から選択される腫瘍抗原に由来する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドは、C E A、R G S 5、またはH P V 1 8 - E 7に由来するエピトープを含む。

【0090】

任意の公知の次世代シーケンシング方法を使用して、腫瘍抗原特異的T細胞をシーケンシングし、T C R α 及びT C R β をコードする複数の遺伝子対を提供することができる。いくつかの実施形態では、次世代シーケンシングは、単一細胞次世代シーケンシングである。いくつかの実施形態では、次世代シーケンシングは、バルク次世代シーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングステップは、腫瘍抗原特異的T細胞のT C Rの免疫レパートリーの次世代シーケンシングを含む。いくつかの実施形態では、シーケンシングステップは、T C R α 及びT C R β をコードする遺伝子を腫瘍抗原特異的T細胞（例えば、単一細胞または細胞集団）から増幅させて、増幅させた核酸の試料を準備し、増幅させた核酸を次世代シーケンシングに供することを含む。いくつかの実施形態では、T C R α 及びT C R β をコードする遺伝子は、既知のT C R可変ドメインに特異的にアニーリングするプライマーを用いたP C R法を使用して増幅させる。いくつかの実施形態では、アンプリコンレスキュードマルチプレックス（amp l i c o n r e s c u e d m u l t i p l e x）P C R（またはa r m - P C R）を使用して、T C R α 及びT C R β をコードする遺伝子を増幅させる。例えば、米国特許第7,999,092号を参照さ

りたい。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞を、バルク次世代シーケンシングデータ及び単一細胞次世代シーケンシングの両方に供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別する。いくつかの実施形態では、シーケンシングステップは、腫瘍抗原特異的T細胞の第1の部分のバルクシーケンシングを行って、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子を提供することと、腫瘍抗原特異的T細胞の第2の部分の単一細胞シーケンシングを行って、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子の同族対合情報を提供することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて複数のTCRを提供することを含む。

【0091】

IPAR (登録商標) (iRepertoire)、IMMUNOSEQ (商標) (Adaptive Biotech)、SMARTER (登録商標) ヒトTCR α /bプロファイリングキット (Clontech)、ION AMPLISEQ (登録商標) 免疫レパートリー、及びAssay Plus (ThermoFisher) を含むがこれらに限定されない、市販のキット及びサービスが、TCRの単一細胞次世代シーケンシングに利用可能である。例えば、IPAR (登録商標) の方法は、2ステップのPCR増幅の後に次世代シーケンシングを含む。簡潔に述べると、腫瘍抗原特異的T細胞の試料を、1つ以上の96ウェルプレートにおける単一細胞播種に供する。第1のPCRステップでは、共通の順方向及び逆方向の結合部位が内側のプライマーの5'末端に含まれる、TCRのアルファ遺伝子座及びベータ遺伝子座の両方をカバーするネステッドマルチプレックスプライマーを用いて、96ウェルプレートの各ウェルでRT-PCRを行う。C領域遺伝子プライマーにはインラインバーコードが含まれ、これがプレート識別子として機能するため、複数の96ウェルプレートをシーケンシングフローセルにおいてマルチプレックス化することができる。RT-PCRの後、生成物を回収する。第2のPCRは、第1のPCR中に導入されたアダプターを完成させ、プレートの位置情報を提供する、デュアルインデックスプライマーを用いて行う。このステップでは、各ウェル、ひいては各単一細胞をユニークにバーコード化する。いくつかの場合では、残りの細胞 (単一細胞播種に供していない細胞) のRNAに対して、各鎖のバルク次世代シーケンシングも行う。IPAR (登録商標) Analyzerソフトウェアを使用して、シーケンシングデータを分析する。このソフトウェアは、単一細胞シーケンシングデータのバルクシーケンシングデータとの容易な比較も支援する。TCR α 及びTCR β をコードする遺伝子の同族対合情報が、IPAR (登録商標) Analyzerによって判定した各ウェルにおけるデータに基づいて得られる。また、例えば、内容が参照により本明細書に組み込まれる、iPair Analyzer User's Guide, iRepertoire Inc. (docs.wixstatic.com/ugd/c9f231_3c322d131c084e908eea039c42304ff7.pdf) を参照されたい。

【0092】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、次世代シーケンシングの前に、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC (例えば、PBMC、DC、または細胞株APC) で刺激される (すなわち、刺激された腫瘍抗原特異的T細胞)。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCで刺激された腫瘍抗原特異的T細胞は、次世代シーケンシングのためのIFN γ ⁺T細胞を単離するためにソートされる。いくつかの実施形態では、対照T細胞集団を次世代シーケンシングに供して、ベースラインTCR α 及びTCR β クローン型プロファイルを提供する。いくつかの実施形態では、対照T細胞集団は、個体由来の未刺激のPBMCである。いくつかの実施形態では、対照T細胞集団は、1つ以上の無関係なペプチドで刺激された腫瘍抗原特異的T細胞である。いくつかの実施形態では、刺激された腫瘍抗原特異的T細胞のシーケンシングデータにおいてのみ識別されるが、対照T細胞集団のシーケンシングデータでは識別されないTCR α 及びTCR β 遺伝子が、腫瘍特異的TCRを提供するために選択される。いくつかの実施形態では、刺激された腫瘍抗原特異的T細胞のシーケンシングデータにおいて、対照T細胞集団のシーケンシングデータの少なくとも約2倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍

、1000倍、またはそれ以上のうちのいずれか1つの頻度で存在するTCR α 及びTCR β 遺伝子が、腫瘍特異的TCRを提供するために選択される。

【0093】

いくつかの実施形態では、個体由来の複数のT細胞集団（例えば、PBMC）は、MASTCT処置後の異なる時点で得られる。各T細胞集団を使用して調製された腫瘍抗原特異的T細胞から一貫して識別されたTCR α 及びTCR β 遺伝子が、腫瘍特異的TCRを提供するために選択される。いくつかの実施形態では、個体由来のT細胞の様々な試料を使用して調製された2つ以上（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、またはそれ以上）の腫瘍抗原特異的T細胞集団のシーケンシングデータにおいてTCR α 及びTCR β 遺伝子が見出され、かつ、これらのTCR α 及びTCR β 遺伝子が単一細胞シーケンシングによって対合される場合、このTCR α 及びTCR β 遺伝子の対が、腫瘍特異的TCRを提供するために選択される。

【0094】

本明細書に記載の方法のうちのいずれか1つは、次のステップ：（i）TCR α 及びTCR β をコードする遺伝子対のそれぞれを宿主免疫細胞内で発現させて、TCRを発現する工学操作された免疫細胞をもたらす、工学操作された免疫細胞の、標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答を評価すること、（ii）各TCRによって認識される抗原エпитープを判定すること、（iii）各TCRのHLA制限（MHC IまたはMHC II制限を含み、必要に応じてHLAハプロタイプ制限を含む）を判定すること、（iv）各TCRの結合力及び交差反応性を判定すること、（v）各TCRの親和性成熟、（vi）各TCRにおけるTCR α 及びTCR β 鎖の対合を強化すること、ならびに（vii）各TCRの発現を強化することのうちの1つ以上を含み得る。MASTCTから臨床的利益を得ている個体由来の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る例示的な方法の概要を、図1に示す。

【0095】

いくつかの実施形態では、TCR α 及びTCR β 遺伝子の各対を含む単離核酸が合成される。いくつかの実施形態では、TCR α 及びTCR β 遺伝子の各対について、TCR α 遺伝子をコードする第1の単離核酸と、TCR β 遺伝子をコードする第2の単離核酸とが合成される。いくつかの実施形態では、TCR α 及びTCR β 遺伝子は、コドン最適化される（例えば、ヒト細胞における発現のために）。いくつかの実施形態では、TCR α 及びTCR β 遺伝子のそれぞれは、プロモーターに作動可能に連結している。いくつかの実施形態では、TCR α 及びTCR β 遺伝子は、同じプロモーターに作動可能に連結している。いくつかの実施形態では、TCR α 及びTCR β 遺伝子は、異なるプロモーターに作動可能に連結している。いくつかの実施形態では、単離核酸は、例えばウイルスベクター、例えばレンチウイルスベクターなどのベクターに組み込まれる。

【0096】

いくつかの実施形態では、単離核酸は、TCR α 及びTCR β 遺伝子によってコードされるTCRを発現させるために、（例えばウイルスベクターによって、または物理的もしくは化学的な方法によって）宿主免疫細胞（例えばT細胞）に形質導入される。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、CD3⁺細胞である。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、T細胞である。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、PBMC、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、及び調節性T細胞からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、TCRを発現する宿主免疫細胞は、標的腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答について、検証のためにアッセイされる。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、細胞株に由来する。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、初代細胞である。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、がん患者に由来する。いくつかの実施形態では、宿主免疫細胞は、健康なドナーに由来する。

【0097】

さらに、本明細書に記載の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のTCRを得る方法のうちのいずれか1つを使用して、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTC

Rを得る方法であって、TCRが、TCRを発現する工学操作された免疫細胞の、標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答に基づいて選択される、方法が提供される。

【0098】

TCRのHLA制限は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して判定することができる。例えば、Larche M. Methods Mol. Med. (2008), 138: 57-72を参照されたい。いくつかの実施形態では、TCRは、MHCクラスI制限されている。いくつかの実施形態では、TCRは、MHCクラスII制限されている。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、アフリカ人、アフリカ系アメリカ人、アジア人、コーカサス人、ヨーロッパ人、ヒスパニック、パシフィックアイランダーなどを含むがこれらに限定されない、ある特定の人種群に多く見られるHLAハプロタイプ制限を有する。いくつかの実施形態では、TCRは、アジア人に多く見られるHLAハプロタイプ制限を有し、例えば、HLA-A*1101またはHLA-A*2402制限されたTCRである。いくつかの実施形態では、TCRは、コーカサス人に多く見られるHLAハプロタイプ制限を有し、例えば、HLA-DPB1*0401またはHLA-A*0201制限されたTCRである。

【0099】

ここで得られるTCRは、TCRの物理的／化学的特性及び／または機能を向上させるようにさらに工学操作されてもよい。例えば、工学操作された腫瘍特異的TCRは、強化された発現レベル、向上した安定性、MHC-標的腫瘍特異的抗原ペプチド複合体に対する強化された結合親和性、及び／または強化されたシグナル伝達を有し得る。いくつかの実施形態では、TCRは、TCRを使用した免疫療法処置を受ける個体のMHCサブタイプに基づいて工学操作される。いくつかの実施形態では、工学操作は、TCRの可変領域における1つ以上の位置を突然変異させることを含む。いくつかの実施形態では、工学操作は、TCRの1つ以上のドメインまたは断片を含む融合タンパク質を提供することを含む。いくつかの実施形態では、TCRのTCR α 及びTCR β 鎖は、対合が強化されるように工学操作され得る。エピトープの判定、親和性成熟、結合力及び交差反応性の判定、発現強化、ならびに対合強化のための、当技術分野で公知の任意の方法が使用され得る。

【0100】

本明細書に記載される抗原負荷APCを調製するためのステップ及びパラメータ、第1、第2、及び第3の共培養ステップ、濃縮ステップ、シーケンシングステップ、MASTなどのいずれも、ありとあらゆる組み合わせが個々に記載されているかのように、互いと組み合わせられ得ることが意図される。

【0101】

腫瘍抗原特異的T細胞を調製する方法

本出願は、TCRクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、濃縮された活性化T細胞集団またはストックの腫瘍抗原特異的T細胞集団を、1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞（APC）（本明細書では「抗原負荷APC」という）の集団と共培養することを含み、濃縮された活性化T細胞集団またはストックの腫瘍抗原特異的T細胞集団が、MASTから臨床的利益を得ている個体から得られ、TCRクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法を提供する。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、全体が参照により本明細書に組み込まれる国際特許出願第PCT/CN2018/082945号に記載されている方法のうちのいずれか1つを使用して得られる。

【0102】

いくつかの実施形態では、TCRクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と共培養することを含み、濃縮された活性化T細胞集団が、第1の共培養物を濃縮プロセスに供することによって調製され、第1の共培養物が、T細胞集団と、腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団とを含み、第1の共培養物中のT細胞集団が、MASTから臨

床的利益を得ている個体から得られ、T C RクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、抗原負荷DC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約1:1または約2:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、本方法は、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む初期共培養培地中で、抗原負荷DC集団を、濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、共培養物を準備することと、共培養物に、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）と、必要に応じて1種以上のサイトカインとを添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、共培養物に、共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日）添加される。

【0103】

いくつかの実施形態では、T C RクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、a) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることと、第1の共培養物が、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団と、T細胞集団とを含む、濃縮された活性化T細胞集団を得ることと、b) 濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、T C RクローニングのためのT細胞集団を得ることとを含み、ステップa) におけるT細胞集団が、M A S C Tから臨床的利益を得ている個体から得られ、T C RクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたA P C（例えば、P B M C）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばI F N γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約1:1または約2:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、本方法は、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団を、T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT3）を添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日）添加される。

【0104】

いくつかの実施形態では、T C RクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、T細胞集団と共培養して、活性化T細胞を含む第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、T C RクローニングのためのT細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップとを含み、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団が、M A S C Tから臨床的利益を得ている個体から得られ、T C RクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約7日間以下（例えば約1～3日間、例えば約3日間）にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC

集団に対する比は、約 30 : 1 以下（例えば、約 20 : 1、15 : 1、または 10 : 1）である。いくつかの実施形態では、第 1 の抗原負荷 DC 集団と、T 細胞集団とは、1 種以上のサイトカイン（例えば IL-2 または複数のサイトカイン、例えば IL-2、IL-7、IL-15、及び IL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 PD-1 抗体）を含む第 1 の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団との比は、約 1 : 1 ~ 約 20 : 1（例えば、約 1 : 1 または約 2 : 1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団とは、約 12 ~ 25 日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、本方法は、1 種以上のサイトカイン（例えば IL-2 または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 PD-1 抗体）を含む第 2 の初期共培養培地中で、第 2 の抗原負荷 DC 集団を、T 細胞集団と共培養して、第 2 の共培養物を準備することと、第 2 の共培養物に抗 CD3 抗体（例えば、OKT3）を添加して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることを含む。いくつかの実施形態では、抗 CD3 抗体は、第 2 の共培養物に、第 2 の共培養ステップの開始から約 3 日以内に（例えば、約 2 日で）添加される。

【0105】

いくつかの実施形態では、TCR クローニングのための T 細胞集団を調製する方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 1 の DC 集団を、T 細胞集団と共培養して、活性化 T 細胞を含む第 1 の共培養物を得ることを含む、第 1 の共培養ステップと、b) 第 1 の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された APC（例えば、PBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば IFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化 T 細胞集団を単離することとを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化 T 細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 2 の DC 集団と共培養して、TCR クローニングのための T 細胞集団を得ることを含む、第 2 の共培養ステップとを含み、第 1 の共培養ステップにおける T 細胞集団が、MASTC から臨床的利益を得ている個体から得られ、TCR クローニングのための T 細胞集団の少なくとも約 10 %（例えば、少なくとも 20 % または 50 %）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、第 1 の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約 7 日間以下（例えば約 1 ~ 3 日間、例えば約 3 日間）にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T 細胞集団の、第 1 の抗原負荷 DC 集団に対する比は、約 30 : 1 以下（例えば、約 20 : 1、15 : 1、または 10 : 1）である。いくつかの実施形態では、第 1 の抗原負荷 DC 集団と、T 細胞集団とは、1 種以上のサイトカイン（例えば IL-2 または複数のサイトカイン、例えば IL-2、IL-7、IL-15、及び IL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 PD-1 抗体）を含む第 1 の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団との比は、約 1 : 1 ~ 約 20 : 1（例えば、約 1 : 1 または約 2 : 1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団とは、約 12 ~ 25 日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、本方法は、1 種以上のサイトカイン（例えば IL-2 または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗 PD-1 抗体）を含む第 2 の初期共培養培地中で、第 2 の抗原負荷 DC 集団を、T 細胞集団と共培養して、第 2 の共培養物を準備することと、第 2 の共培養物に抗 CD3 抗体（例えば、OKT3）を添加して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、抗 CD3 抗体は、第 2 の共培養物に、第 2 の共培養ステップの開始から約 3 日以内に（例えば、約 2 日で）添加される。いくつかの実施形態では、第 1 の共培養ステップにおける T 細胞集団は、PBMC 集団中に存在する。

【0106】

いくつかの実施形態では、TCR クローニングのための T 細胞集団を調製する方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 1 の DC 集団を、T 細胞集団と共培養して、活性化 T 細胞を含む第 1 の共培養物を得ることを含む、第 1 の共培養ステップと、b)

）第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることを含む、濃縮ステップと、c）1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第2の初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、第2の共培養物を得ることと、第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT3）を添加して、TCRクローニングのためのT細胞集団を得ることとを含む、第2の共培養ステップとを含み、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団が、MASTCから臨床的利益を得ている個体から得られ、TCRクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約7日間以下（例えば約1～3日間、例えば約3日間）にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばIFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1または約2：1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC集団中に存在する。

【0107】

いくつかの実施形態では、TCRクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、a）第1のDC集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を得ることと、b）標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、T細胞集団と共培養して、活性化T細胞を含む第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、c）第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることを含む、濃縮ステップと、d）第2の樹状細胞集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団を得ることと、e）1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第2の初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、第2の共培養物を得ることと、第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT3）を添加して、TCRクローニングのためのT細胞集団を得ることとを含む、第2の共培養ステップとを含み、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団が、MASTCから臨床的利益を得ている個体から得られ、TCRクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約7日間以下（例えば約1～3日間、例えば約3日間）にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2ま

10

20

30

40

50

たは複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばIFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約1:1または約2:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC集団中に存在する。

10

【0108】

いくつかの実施形態では、TCRクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、a) 第1のDC集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を得ることと、b) toll様受容体（TLR）アゴニストを含むDC成熟培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を培養することと、c) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、T細胞集団と共培養して、活性化T細胞を含む第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、d) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばIFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む、濃縮ステップと、e) 第2のDC集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、第2の抗原負荷DC集団を得ることと、f) toll様受容体（TLR）アゴニストを含むDC成熟培地中で、第2の抗原負荷DC集団を培養することと、g) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第2の初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、第2の共培養物を得ることと、第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT3）を添加して、TCRクローニングのためのT細胞集団を提供することを含む、第2の共培養ステップとを含み、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団が、MASTCから臨床的利益を得ている個体から得られ、TCRクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、第2の共培養物に、第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約7日間以下（例えば約1～3日間、例えば約3日間）にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下（例えば、約20:1、15:1、または10:1）である。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1:1～約20:1（例えば、約1:1または約2:1）である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約12～25日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団は、PBMC集団中に存在する。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、第1のDC集団及び／または第2のDC集団は、PBM

20

30

40

50

Cからの単球集団の分化を誘導することによって得られる。

【0109】

いくつかの実施形態では、TCRクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）集団と共培養することを含む、方法が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団は、本明細書に記載のTCRをクローニングするためのT細胞を調製する方法のうちのいずれか1つを使用して得られる。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団は、MASTCから臨床的利益を得ている個体のPBMCから得られる。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、1：2、または1：4）である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、約5～9（例えば約7）日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、共培養は、例えば、1回または2回繰り返される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団は、腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックから得られる。

【0110】

いくつかの実施形態では、TCRクローニングのためのT細胞集団を調製する方法であって、a) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団を、T細胞集団と共培養して、活性化T細胞を含む第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、b) 第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることを含む、濃縮ステップと、c) 濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、第1の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップと、d) 第1の腫瘍抗原特異的T細胞集団のうちの腫瘍抗原特異的T細胞亜集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第3のAPC（例えば、DC、PBMC、またはLCLなどの細胞株APC）集団と共培養することにより、TCRクローニングのためのT細胞集団を提供することを含む、第3の共培養ステップとを含み、第1の共培養ステップにおけるT細胞集団が、MASTCから臨床的利益を得ている個体から得られ、TCRクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%（例えば、少なくとも20%または50%）が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞亜集団と、第3の抗原負荷DC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：1、1：2、または1：4）である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞亜集団と、第3の抗原負荷DC集団とは、約5～9（例えば、約7）日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞亜集団と、第3の抗原負荷DC集団は、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15）及び抗CD3抗体（例えば、OKT3）を含む第3の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは、例えば、1回、2回、または3回繰り返される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞亜集団は、第1の腫瘍抗原特異的T細胞集団の凍結ストックから得られる。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、濃縮ステップの前に約7日間以下（例えば約1～3日間、例えば約3日間）にわたって行われる。いくつかの実施形態では、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30：1以下（例えば、約20：1、15：1、または10：1）である。いくつかの実施形態では、第1の抗原負荷DC集団と、T細胞集団とは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン、例えばIL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の共培養培地中で共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1：1～約20：1（例えば、約1：

10

20

30

40

50

1 または約 2 : 1) である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団とは、約 1 2 ~ 2 5 日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、本方法は、1 種以上のサイトカイン (例えば IL-2 または複数のサイトカイン) 及び免疫チェックポイント阻害剤 (例えば、抗 PD-1 抗体) を含む第 2 の初期共培養培地中で、第 2 の抗原負荷 DC 集団を、T 細胞集団と共培養して、第 2 の共培養物を準備することと、第 2 の共培養物に抗 CD3 抗体 (例えば、OKT3) を添加して、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を得ることとを含む。いくつかの実施形態では、抗 CD3 抗体は、第 2 の共培養物に、第 2 の共培養ステップの開始から約 3 日以内に (例えば、約 2 日) 添加される。いくつかの実施形態では、第 1 の共培養ステップにおける T 細胞集団は、PBMC 集団中に存在する。

10

【0111】

TCR クローニングのための T 細胞を調製する例示的な方法、または腫瘍抗原特異的 T 細胞を調製する例示的な方法は、図 4、7、及び 15A ~ 15B に例示され、実施例 2 ~ 3 に記載される。

【0112】

いくつかの実施形態では、TCR クローニングのための T 細胞集団を調製する方法であって、(a) 個体由来の PBMC 集団に由来する DC 集団を、標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷 DC を得ることと、(b) 1 種以上のサイトカイン (例えば IL-2 または複数のサイトカイン) 及び免疫チェックポイント阻害剤 (例えば、抗 PD-1 抗体) を含む第 1 の初期共培養培地中で、T 細胞集団 (例えば、PBMC 中に存在するもの) と、第 1 の抗原負荷 DC 集団とを共培養することを含む、第 1 の共培養ステップと、(c) 第 1 の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された PBMC と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン (例えば IFN γ) を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化 T 細胞集団を単離して、濃縮された活性化 T 細胞集団を得ることとを含む、濃縮ステップと、(d) 1 種以上のサイトカイン (例えば IL-2 または複数のサイトカイン) 及び免疫チェックポイント阻害剤 (例えば、抗 PD-1 抗体) を含む第 2 の初期共培養培地中で、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団とを共培養して、第 2 の共培養物を得ることと、第 2 の共培養物の開始から約 1 日 ~ 約 3 日 (例えば、約 2 日) 後の第 2 の共培養物に抗 CD3 抗体 (例えば、OKT3) を添加することにより、TCR クローニングのための T 細胞集団を提供することとを含む、第 2 の共培養ステップとを含み、第 1 の共培養ステップにおける T 細胞集団が、MASTC から臨床的利益を得ている個体から得られ、TCR クローニングのための T 細胞集団の少なくとも約 10% (例えば、少なくとも 20% または 50%) が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、抗原負荷 DC は、tolL 様受容体 (TLR) アゴニストを含む DC 成熟培地中で培養される。いくつかの実施形態では、DC 成熟培地は、INF γ 、MPLA、及び PGE2 を含む。いくつかの実施形態では、抗原負荷 DC は、DC 成熟培地中で約 8 ~ 約 12 日間にわたって培養される。いくつかの実施形態では、T 細胞集団と、第 1 の抗原負荷 DC 集団との比は、約 20 : 1 である。いくつかの実施形態では、T 細胞集団と、抗原負荷 DC 集団とは、約 2 ~ 3 日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団との比は、約 1 : 1 である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化 T 細胞集団と、第 2 の抗原負荷 DC 集団とは、約 15 ~ 20 日間 (例えば、約 16 日間) にわたって共培養される。例示的な方法を図 4 及び 7 に示す。

20

30

40

【0113】

いくつかの実施形態では、TCR クローニングのための T 細胞集団を調製する方法であって、(a) 1 種以上のサイトカイン (例えば IL-2 または複数のサイトカイン) 及び抗 CD3 抗体を含む共培養培地中で、腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第 1 の APC (例えば、PBMC、DC、または細胞株 APC) 集団と、約 5 ~ 9 日間 (例えば、約 7 日間) にわたって共培養して、第 1 の腫瘍抗原特異的 T 細胞

50

集団を得ることと、(b)第1の腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のAPC集団と、約5～9日間(例えば、約7日間)にわたって共培養することにより、TCRクローニングのための第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を提供することを含み、腫瘍抗原特異的T細胞集団が、MASTCから臨床的利益を得ている個体から得られ、TCRクローニングのためのT細胞集団の少なくとも約10%(例えば、少なくとも20%または50%)が、標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、刺激ステップは、1回または2回繰り返される。いくつかの実施形態では、本方法は、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を、腫瘍抗原特異的T細胞が負荷された第3のAPC集団と、約5～9日間(例えば、約7日間)にわたって共培養することにより、第3の腫瘍抗原特異的T細胞集団を提供することをさらに含む。いくつかの実施形態では、APCは、フィーダー細胞ありまたはなしのLCL細胞である。いくつかの実施形態では、APCは、DCである。いくつかの実施形態では、共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、及びOKT3を含む。いくつかの実施形態では、抗原負荷APCと、第1、第2、または第3の腫瘍抗原特異的T細胞集団との比は、約1:1～約1:10(例えば、約1:4)である。例示的な方法を図15A～15Bに示す。

10

【0114】

シーケンシングステップに使用される腫瘍抗原特異的T細胞は、標的腫瘍抗原ペプチドまたはそのエピトープに特異的に応答するT細胞のパーセンテージが高い。例えば、シーケンシングステップに使用される腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上のうちのいずれか1つが、標的腫瘍抗原ペプチドまたはそのエピトープに特異的に応答する。いくつかの実施形態では、シーケンシングステップに使用される腫瘍抗原特異的T細胞の約20～90%、20～50%、50～95%、20～80%、50～70%、40～60%、または40%～80%のうちのいずれか1つが、標的腫瘍抗原ペプチドまたはそのエピトープに特異的に応答する。T細胞は多数のTCR α 及びTCR β クローン型を発現するため、腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答し得るT細胞の高いパーセンテージは、TCR α 及びTCR β 遺伝子の成功した同族対合情報を得るために重要である。

20

【0115】

いくつかの実施形態では、単離された細胞集団の任意の実施形態における腫瘍抗原特異的T細胞は、インビボまたはエキスビボで1つ以上の腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答を誘発することができる。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、ヒト個体における1つより多くの腫瘍抗原ペプチドに対する細胞傷害性T細胞活性を増加させることができる。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドにより刺激した際の、炎症促進性シグナル分子の高い発現または分泌レベルによって特徴付けられる。いくつかの実施形態では、発現または分泌レベルは、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドで刺激した際の腫瘍抗原特異的T細胞の分子(例えば炎症促進性シグナル分子)の発現または分泌レベルを、無関係なペプチドで刺激した際の発現または分泌レベルと比較することによって判定される。いくつかの実施形態では、分子の対照発現または分泌レベルは、同じアッセイ条件下で測定した、対照T細胞集団における分子の発現または分泌レベルである。いくつかの実施形態では、対照T細胞集団は、1つ以上の無関係なペプチド(例えば、T細胞受容体抗原に応答しないペプチド、またはランダムなペプチド)によって誘導されたT細胞集団である。いくつかの実施形態では、分子の対照発現または分泌レベルは、複数の対照T細胞集団における分子の発現または分泌レベルの平均または中央値である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞における分子の高レベルの発現または分泌は、対照発現または分泌レベルの少なくとも約1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、4倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、1000倍、またはそれ以上のうちのいずれかである。

30

40

【0116】

いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドで刺激されると、腫瘍抗原特異的T細胞

50

胞は、 $IFN\gamma$ 、 $TNF\alpha$ 、グランザイムB、パーフォリン、またはそれらの任意の組み合わせなど、複数の炎症促進性分子を発現する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドで刺激されると、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上のうちのいずれか1つのパーセンテージの腫瘍抗原特異的T細胞が、 $INF-\gamma$ を分泌する。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドで刺激されると、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上のうちのいずれか1つのパーセンテージの腫瘍抗原特異的T細胞が、 $TNF-\alpha$ を分泌する。

【0117】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、(a) 個体由来のPBMC集団に由来するDC集団を、標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、第1の抗原負荷DC集団を得ることと、(b) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の初期共培養培地中で、T細胞集団（例えば、PBMC中に存在するもの）と、第1の抗原負荷DC集団とを共培養することと、第1の共培養開始から約7日以内に（例えば、約5日で）、第1の共培養物に抗CD3抗体を添加して、第1の共培養物を得ることとを含む、第1の共培養ステップと、(c) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば $IFN\gamma$ ）を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることとを含む、濃縮ステップと、(d) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）、及び抗CD3抗体を含む共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団とを共培養することにより、腫瘍抗原特異的T細胞を提供することを含む、第2の共培養ステップとを含む、ステップによって調製される。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、第1の抗原負荷DC集団との比は、約20:1である。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、抗原負荷DC集団とは、約13~14日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約2:1である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約9~13日間にわたって共培養される。

【0118】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、(a) 個体由来のPBMC集団に由来するDC集団を、標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DCを得ることと、(b) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の初期共培養培地中で、T細胞集団（例えば、PBMC中に存在するもの）と、第1の抗原負荷DC集団とを共培養することを含む、第1の共培養ステップと、(c) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えば $IFN\gamma$ ）を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることとを含む、濃縮ステップと、(d) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）、及び抗CD3抗体を含む共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とを共培養することにより、腫瘍抗原特異的T細胞を提供することを含む、第2の共培養ステップとを含む、ステップによって調製される。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、 tol 様受容体（TLR）アゴニストを含むDC成熟培地中で培養される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、 $INF\gamma$ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、DC成熟培地中で約8~約12日間にわたって培養される。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、第1の抗原負荷DC集団との比は、約15:1である。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、抗原負荷DC集団とは、約3

～4日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約2：1である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約13～23日間にわたって共培養される。

【0119】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、(a) 個体由来のPBMC集団に由来するDC集団を、標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DCを得ることと、(b) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の初期共培養培地中で、T細胞集団（例えば、PBMC中に存在するもの）と、第1の抗原負荷樹状細胞集団とを共培養することを含む、第1の共培養ステップと、(c) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばIFN γ ）を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることとを含む、濃縮ステップと、(d) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第2の初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とを共培養して、第2の共培養物を得ることと、第2の共培養の開始から約1日～約3日（例えば、約2日）後の第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT3）を添加することにより、腫瘍抗原特異的T細胞を提供することを含む、第2の共培養ステップとを含む、ステップによって調製される。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、 toll様受容体（TLR）アゴニストを含むDC成熟培地中で培養される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、DC成熟培地中で約8～約12日間にわたって培養される。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、第1の抗原負荷DC集団との比は、約20：1である。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、抗原負荷DC集団とは、約2～3日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第1の抗原負荷DC集団との比は、約2：1である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約15～20日間（例えば、約16日間）にわたって共培養される。

【0120】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、(a) 個体由来のPBMC集団に由来するDC集団を、標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DCを得ることと、(b) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第1の初期共培養培地中で、T細胞集団（例えば、PBMC中に存在するもの）と、第1の抗原負荷DC集団とを共培養することを含む、第1の共培養ステップと、(c) 第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばIFN γ ）を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることとを含む、濃縮ステップと、(d) 1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む第2の初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とを共培養して、第2の共培養物を得ることと、第2の共培養の開始から約1日～約3日（例えば、約2日）後の第2の共培養物に抗CD3抗体（例えば、OKT3）を添加することにより、腫瘍抗原特異的T細胞を提供することを含む、第2の共培養ステップとを含む、ステップによって調製される。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、 toll様受容体（TLR）アゴニストを含むDC成熟培地中で培養される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、DC成熟培地中で約8～約12日間にわたって培養される。いくつかの

実施形態では、T細胞集団と、第1の抗原負荷DC集団との比は、約20：1である。いくつかの実施形態では、T細胞集団と、抗原負荷DC集団とは、約2～3日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第1の抗原負荷DC集団との比は、約2：1である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約15～20日間（例えば、約16日間）にわたって共培養される。

【0121】

いくつかの実施形態では、本方法は、免疫療法（例えば、MASTC）を過去に受けたことがある個体から得られたPBMCを使用して、シーケンシングステップで使用される腫瘍抗原特異的T細胞を調製する。

【0122】

いくつかの実施形態では、本方法は、a) 個体由来の第1のPBMC集団を、標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMC集団を提供することと、b) 標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMC集団を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞集団を提供することと、c) 必要に応じて、APC（例えば、PBMCまたはDC）集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷APC集団を提供することと、d) 濃縮された活性化T細胞集団を、抗原負荷APC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、共培養ステップとを含む。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスの前に、約5日間以下、4日間以下、3日間以下、2日間以下、または1日間以下にわたり、PBMCを標的腫瘍抗原ペプチドと接触させる。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、第1の共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたPBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカイン（例えばIFN γ ）または細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することとを含む。いくつかの実施形態では、共培養ステップは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）、免疫チェックポイント阻害剤、及び抗CD3抗体を含む共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団を、抗原負荷APC集団と共培養することを含む。いくつかの実施形態では、共培養ステップは、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団を、抗原負荷APC集団と共培養して、共培養物を準備することと、共培養物に抗CD3抗体を添加することとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、共培養の開始から約1～3日後の共培養物に添加される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、抗原負荷APC集団とは、合計約12～25日間にわたって共培養される。

【0123】

いくつかの実施形態では、PBMCは、新たに得られる。いくつかの実施形態では、PBMCは、PBMCの凍結ストックを解凍することによって得られる。いくつかの実施形態では、PBMCは自家性である。すなわち、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、PBMCを例えばIL-2、GM-CSFなどのサイトカインと接触させて、同時発生的に、または接触ステップ後に、PBMCにおけるある特定の細胞（例えばDC、T細胞、またはそれらの組み合わせ）の分化、成熟、または増殖を誘導する。

【0124】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞は、（a）PBMC集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させて、刺激されたPBMC集団を得ることと、（b）サイトカイン（例えばIFN γ ）を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激されたPBMC集団から、濃縮された活性化T細胞集団を単離して、濃縮された活性化T細胞集団を得ることと、（c）1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）を含む初期共培養培地中で、濃縮された活性化T細胞集団と、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とを共培養して、第1の共培養物を得ることと、第1の共培養の開始から約1日～約3日（例えば、約1日ま

10

20

30

40

50

たは2日)後の第1の共培養物に抗CD3抗体(例えば、OKT3)を添加することにより、腫瘍抗原特異的T細胞を提供することを含む、共培養ステップとを含む、ステップによって調製される。いくつかの実施形態では、PBMCは、凍結ストックから得られる。いくつかの実施形態では、PBMCは、個体から新たに得られる。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、PBMC集団を標的腫瘍抗原ペプチドと接触させることによって調製される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、抗原負荷DC集団との比は、約1:1である。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、抗原負荷DC集団とは、約7~約21日間にわたって共培養される。

【0125】

共培養

本明細書に記載の方法及びMAST方法は、1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、またはそれ以上)の共培養ステップを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することを含む、第1の共培養ステップを含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおいて、T細胞集団は、第1の抗原負荷DC集団と、約7日間以下、例えば約1日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、または7日間のうちのいずれか1つにわたって共培養される。いくつかの実施形態では、T細胞集団は、第1の抗原負荷DC集団と、約1~3日間、例えば約2~3日間にわたって共培養される。

【0126】

いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第1の共培養培地中で、第1の抗原負荷DC集団とT細胞集団とを共培養することを含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養培地は、抗CD3抗体を含む。いくつかの実施形態では、第1の共培養培地は、抗CD3抗体を含まない。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第1の初期共培養培地中で、第1の抗原負荷DC集団とT細胞集団とを共培養して、第1の共培養物を準備することと、第1の共培養物に抗CD3抗体を添加することとを含む。

【0127】

いくつかの実施形態では、本方法は、濃縮された活性化T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と共培養することを含む、第2の共培養ステップを含む。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップにおいて、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、合計少なくとも約2日間、4日間、6日間、8日間、10日間、12日間、14日間、16日間、18日間、20日間、22日間、24日間、26日間、28日間、または30日間のうちのいずれか1つにわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団は、第2の抗原負荷DC集団と、約12日間~約25日間、例えば約12~15日間、15~18日間、18~21日間、15~20日間、20~25日間、15日間、18日間、19日間、20日間、21日間、または22日間のうちのいずれか1つにわたって共培養される。

【0128】

いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、抗CD3抗体の存在下で、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、20、25、またはそれ以上のいずれか1つの日数にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、抗CD3抗体の存在下で、約8~18日間、10~20日間、1~25日間、または12~25日間のうちのいずれか1つにわたって共培養される。いくつかの実施形態では、濃縮された活性化T細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団とは、約1~5日間、例えば約1日間、2日間、または3日間にわたって、抗CD3抗体なしで最初に共培養される。

【0129】

いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン(例えば

10

20

30

40

50

、複数のサイトカイン)、免疫チェックポイント阻害剤を含む第2の共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団と、濃縮された活性化T細胞集団とを共培養することを含む。いくつかの実施形態では、第2の共培養培地は、抗CD3抗体を含む。いくつかの実施形態では、第2の共培養培地は、抗CD3抗体を含まない。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第2の初期共培養培地中で、第2の抗原負荷DC集団と、濃縮された活性化T細胞集団とを共培養して、第2の共培養物を準備することと、第2の共培養物に抗CD3抗体を添加することを含む。

【0130】

いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞を調製する方法は、(1)複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1のDC集団とT細胞集団を共培養することを含む、第1の共培養ステップと、(2)複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と、濃縮された活性化T細胞集団を共培養することを含む、第2の共培養ステップとを含む。

【0131】

いくつかの実施形態では、本方法は、腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチド(またはそのエピトープ)が負荷されたAPC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団と共培養することを含む、第3の共培養ステップを含む。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは、さらなる腫瘍抗原特異的T細胞集団を得るために、1回以上(例えば、1回、2回、3回、4回、5回、6回、またはそれ以上)繰り返される。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップを繰り返すことは、第3の共培養ステップから得られた腫瘍抗原特異的T細胞の一部を、第2の抗原負荷APC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団と共培養することを含む。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップを繰り返すことは、第3の共培養物に、新鮮な抗原負荷APC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団を、約5~9日(例えば、約7日)毎の間隔で添加することを含む。

【0132】

いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップにおいて、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団とは、少なくとも約2日間、4日間、6日間、8日間、10日間、12日間、14日間、16日間、18日間、20日間、または14日間のうちのいずれか1つにわたって共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団とは、約5日間~約15日間、例えば約5~9日間、7~10日間、10~12日間、12~15日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間、または15日間のうちのいずれか1つにわたって共培養される。

【0133】

いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第3の共培養培地中で、抗原負荷APC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団と、腫瘍抗原特異的T細胞集団とを共培養することを含む。いくつかの実施形態では、第3の共培養培地は、抗CD3抗体を含まない。いくつかの実施形態では、第3の共培養培地は、抗CD3抗体を含む。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップは、1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第3の初期共培養培地中で、抗原負荷APC(例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、またはLCLなどの細胞株APC)集団と、腫瘍抗原特異的T細胞集団とを共培養して、第3の共培養物を準備することと、第3の共培養物に抗CD3抗体を添加することを含む。

【0134】

各共培養ステップの共培養培地または初期共培養培地は、同じであっても異なってもよい。特記なき限り、「共培養」のサブセクションで論じられる「共培養培地」は、第1、第2、及び第3の共培養培地を含み、このサブセクションで論じられる「初期共培養培地」は、第1、第2、及び第3の初期共培養培地を含む。いくつかの実施形態では、共培養培地（初期共培養培地を含む）は、1種以上（例えば、1種、2種、3種、4種、5種、またはそれ以上）のサイトカインを含む。いくつかの実施形態では、共培養培地（初期共培養培地を含む）は、複数のサイトカイン（本明細書では「サイトカインカクテル」ともいう）を含む。例示的なサイトカインとしては、IL-2、IL-7、IL-15、IL-21などが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、共培養培地（初期共培養培地を含む）は、IL-2を含む。いくつかの実施形態では、共培養培地（初期共培養培地を含む）は、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21を含む。いくつかの実施形態では、IL-2は、共培養培地（初期共培養培地を含む）において、少なくとも約50 IU/ml、100 IU/ml、200 IU/ml、300 IU/ml、400 IU/ml、500 IU/ml、600 IU/ml、700 IU/ml、800 IU/ml、900 IU/ml、1000 IU/ml、2000 IU/ml、5000 IU/ml、6000 IU/ml、またはそれ以上のいずれかの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、IL-2は、共培養培地（初期共培養培地を含む）において、約1000 IU/ml以下、500 IU/ml以下、200 IU/ml以下、100 IU/ml以下、50 IU/ml以下、20 IU/ml以下、またはそれ未満のうちのいずれか1つの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、第1の共培養培地は、約200 IU/ml以下（例えば約150、100、または50 IU/ml）の濃度のIL-2を含む。いくつかの実施形態では、第2の共培養培地は、少なくとも約2000 IU/ml（例えば約3000、5000、または6000 IU/ml）の濃度のIL-2を含む。いくつかの実施形態では、IL-7は、共培養培地（初期共培養培地を含む）において、少なくとも約1、2、5、10、20、50、または100 ng/mlのうちのいずれか1つの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、IL-15は、共培養培地（初期共培養培地を含む）において、少なくとも約1、2、5、10、20、50、または100 ng/mlのうちのいずれか1つの濃度で存在する。サイトカインは、T細胞の活性化、成熟、及び／または増殖を促進して、T細胞を後のメモリーT細胞への分化のために予備刺激すること、及び／または共培養物中のTregのパーセンテージを抑制することができる。

【0135】

いくつかの実施形態では、共培養培地（初期共培養培地を含む）は、1つ以上（例えば1つ、2つ、3つ、またはそれ以上のうちのいずれか）の免疫チェックポイント阻害剤を含む。任意の公知の免疫チェックポイント阻害剤が使用され得る。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、例えば、CTLA-4のリガンド（例えば、B7.1、B7.2）、TIM-3のリガンド（例えば、ガレクチン-9）、A2a受容体のリガンド（例えば、アデノシン、レガデノソン）、LAG-3のリガンド（例えば、MHCクラスIまたはMHCクラスII分子）、BTLAのリガンド（例えば、HVEM、B7-H4）、KIRのリガンド（例えば、MHCクラスIまたはMHCクラスII分子）、PD-1のリガンド（例えば、PD-L1、PD-L2）、IDOのリガンド（例えば、NKT2-18、インドキシモド、NLG919）、及びCD47のリガンド（例えば、SIRP-アルファ受容体）を含む、阻害性免疫チェックポイント分子の天然リガンドまたは工学操作されたリガンドである。免疫チェックポイント阻害剤は、小分子、核酸（例えばDNA、RNAi、またはアプタマー）、ペプチド、またはタンパク質（例えば抗体）を含むがこれらに限定されない、任意の好適な分子様式のものであり得る。

【0136】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗CTLA-4（例えば、イピリムマブ、トレメリムマブ、KAHR-102）、抗TIM-3（例えば、F38-2E2、ENUM005）、抗LAG-3（例えば、BMS-986016、IMP701、IMP321、C9B7W）、抗KIR（例えば、リリルマブ及びIPH2101）

、抗PD-1（例えば、ニボルマブ、ピディリズマブ、ペムブロリズマブ、BMS-936559、アテゾリズマブ、ペムブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、SHR1210）、抗PD-L1（例えば、KY-1003（EP20120194977）、MCLA-145、RG7446、BMS-936559、MEDI-4736、MSB0010718C、AUR-012、STI-A1010、PCT/US2001/020964、MPDL3280A、AMP-224、ダピロリズマブペゴル（CDP-7657）、MEDI-4920）、抗CD73（例えば、AR-42（OSU-HDAC42、HDAC-42、AR42、AR42、OSU-HDAC42、OSU-HDAC-42、NSCD736012、HDAC-42、HDAC42、HDAC42、NSCD736012、NSC-D736012）、MEDI-9447）、抗B7-H3（例えば、MGA271、DS-5573a、8H9）、抗CD47（例えば、CC-90002、TTI-621、VLS-T-007）、抗BTLA、抗VISTA、抗A2aR、抗B7-1、抗B7-H4、抗CD52（例えばアレムツズマブ）、抗IL-10、抗IL-35、及び抗TGF- β （例えばフレソルミマブ（Fresolumimab））からなる群から選択される、阻害性免疫チェックポイントタンパク質を標的とする抗体（例えばアンタゴニスト抗体）である。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、完全長抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、完全長抗体またはそれらの工学操作された組み合わせのFab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFv、BiTE、ナノボディ、及び他の抗原結合性部分配列からなる群から選択される抗原結合性断片である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、またはキメラ抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、二重特異性抗体または多重特異性抗体である。

【0137】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である。例示的な抗PD-1抗体としては、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピディリズマブ、BMS-936559、及びアテゾリズマブ、ペムブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、TSR-042、及びSHR-1210が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、ニボルマブ（例えば、OPDIVO（登録商標））である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、ペムブロリズマブ（例えば、KEYTRUDA（登録商標））である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、SHR-1210である。いくつかの実施形態では、初期共培養培地は、IL-2、IL-7、IL-15、IL-21、及び抗PD-1抗体（例えば、SHR-1210）を含む。

【0138】

共培養培地（初期共培養培地を含む）における免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）の好適な濃度としては、少なくとも約1、2、5、10、15、20、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、またはそれ以上のうちのいずれかが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD-1抗体）は、共培養培地（初期共培養培地を含む）に、約1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または約5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のいずれか1つで存在する。

【0139】

抗CD3抗体は、共培養が開始する時点で共培養物中に存在していてもよいし、または、抗原負荷DCと、T細胞、濃縮された活性化T細胞、もしくは腫瘍抗原特異的T細胞集団との共培養が開始した後に共培養物に添加されてもよい。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、共培養培地（初期共培養培地を含む）に含まれる。いくつかの実施形態では、初期共培養培地は、抗CD3抗体を含まない。

【0140】

いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、濃縮された活性化T細胞集団及び第2の抗原負荷DC集団を含む第2の共培養物に、第2の共培養の開始から約5日以内、4日以内、3日以内、2日以内、または1日（複数可）以内のいずれか1つで添加される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、濃縮された活性化T細胞集団及び第2の抗原負荷DC集団を含む第2の共培養物に、第2の共培養の開始から約1、2、または3日後に添加される。OKT3を含むがこれに限定されない、任意の好適な抗CD3抗体が使用され得る。

【0141】

T細胞（例えば、T細胞、濃縮された活性化T細胞集団、または腫瘍抗原特異的T細胞）、及び抗原負荷APC（例えばPBMC、DC、または細胞株APC）は、細胞数という点から適切な比で共培養物中に存在し得る。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約30:1以下、25:1以下、20:1以下、15:1以下、10:1以下、8:1以下、または5:1以下のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、少なくとも約5:1、8:1、10:1、15:1、20:1、25:1、またはそれ以上のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける、T細胞集団の、第1の抗原負荷DC集団に対する比は、約5:1～約10:1、約5:1～約20:1、約10:1～約20:1、約20:1～約30:1、または約5:1～約30:1のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、濃縮されたT細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、少なくとも約1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、または10:1のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、濃縮されたT細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約10:1以下、9:1以下、8:1以下、7:1以下、6:1以下、5:1以下、4:1以下、3:1以下、2:1以下、または1:1以下のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、濃縮されたT細胞集団と、第2の抗原負荷DC集団との比は、約1:1～約20:1、約1:1～約10:1、約1:1～約5:1、約5:1～約10:1、約10:1～約15:1、約15:1～約20:1、約10:1～約20:1、約1:1～約1:3、約1:1～約2:1、または約2:1～約5:1のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC（例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、または細胞株APC）集団との比は、少なくとも約1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、または10:1のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC（例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、または細胞株APC）集団との比は、約10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1以下、または1:1以下のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原特異的T細胞集団と、抗原負荷APC（例えば、固定PBMCなどのPBMC、DC、または細胞株APC）集団との比は、約1:1～約20:1、約1:1～約10:1、約1:1～約5:1、約5:1～約10:1、約10:1～約15:1、約15:1～約20:1、約10:1～約20:1、約1:3～約3:1、約1:1～約3:1、約1:1～約2:1、または約2:1～約5:1のうちのいずれか1つである。

【0142】

いくつかの実施形態では、T細胞及びAPC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）は、同じ個体、例えば、MASC Tから臨床的利益を得ている個体に由来する。いくつかの実施形態では、APC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）は、MASC Tから臨床的利益を得ている個体に由来しない。いくつかの実施形態では、T細胞、APC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）、またはその両方は、自家源、例えば、TCRを発現する工学操作された免疫細胞を受ける個体に由来する。いくつかの実施形態では、T細胞、APC（例えば、PBMC、DC、または細胞株APC）、またはその両方は、同種源に由来する。

10

20

30

40

50

【0143】

いくつかの実施形態では、T細胞及び／またはAPC（例えば、PBMCまたはDC）は、免疫療法を過去に受けたことがある個体から得られる。いくつかの実施形態では、個体は、免疫療法に対して免疫応答性がある。免疫療法に対して「免疫応答性がある」とは、個体が、免疫療法に応じて1種以上の腫瘍抗原に対する特異的免疫応答を発生させていることを意味する。いくつかの実施形態では、T細胞及び／またはAPC（例えば、PBMCまたはDC）は、免疫療法から臨床的利益を得ている個体から得られる。療法から「臨床的利益を得た」個体は、医師によって評価した場合に、療法に対する臨床応答を示している。例示的な臨床応答としては、完全応答（「CR」）、部分応答（「PR」）、及び安定疾患（「SD」）が挙げられるが、これらに限定されない。免疫療法としては、免疫チェックポイント阻害剤、養子免疫細胞療法（例えば、養子T細胞療法、CIK、TIL、CAR-T、及びTCR-T療法）、がんワクチン、腫瘍溶解性ウイルス、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、T細胞及び／またはAPC（例えば、PBMCまたはDC）は、MASTCを過去に受けたことがある個体から得られる。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCにおいて腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答を発生させることができる。腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答は、ELISPOTアッセイなどの当技術分野で公知のアッセイを使用して判定することができる。いくつかの実施形態では、個体は、MASTCから臨床的利益を得ている。いくつかの実施形態では、個体は、腫瘍抗原特異的免疫応答（複数可）を有する。いくつかの実施形態では、個体は、腫瘍抗原特異的免疫応答を有し、かつMASTCから臨床的利益を受けている。

10

20

【0144】

本明細書に記載の方法のいずれかの実施形態において使用されるT細胞集団は、種々の源に由来し得る。簡便なT細胞源は、ヒト末梢血のPBMCである。T細胞集団は、PBMCから単離されてもよいし、あるいは、T細胞が（T細胞特異的抗体及びサイトカインの添加などにより）濃縮されたPBMC集団を共培養物中に使用してもよい。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおいて使用されるT細胞集団は、末梢血単核細胞（PBMC）から得られる。いくつかの実施形態では、PBMCは、末梢血の試料の密度勾配遠心分離によって得られる。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおいて使用されるT細胞集団は、PBMC中に存在する。

30

【0145】

活性化T細胞の濃縮

本明細書に記載の方法は、第1の抗原負荷DC集団及びT細胞集団を含む共培養物から活性化T細胞を濃縮することを含む、濃縮ステップを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片で刺激されたPBMCから活性化T細胞を濃縮することを含む、濃縮ステップを含む。

【0146】

いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片による刺激に応じた共培養物からのT細胞活性化の1種以上（例えば1種、2種、3種、またはそれ以上のうちのいずれか1つ）のバイオマーカーに基づいて、活性化T細胞を選択することを含む。いくつかの実施形態では、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPC（例えばPBMC）を使用して、共培養物中の活性化T細胞を刺激する。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、細胞表面分子または分泌分子などの1種以上のバイオマーカーを発現する活性化T細胞を、共培養物から単離することを含む。

40

【0147】

いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、1種以上のサイトカインを発現または分泌する活性化T細胞を、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片によって刺激されている共培養物から単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第1の共培養物を、抗原負荷PBMCと接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカインを特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化T

50

細胞集団を単離することを含む。例示的なサイトカインとしては、 $\text{IFN}\gamma$ 及び $\text{TNF}\alpha$ が挙げられるが、これらに限定されない。抗体またはサイトカインの受容体など、サイトカインを特異的に認識するリガンドを使用して、濃縮された活性化 T 細胞集団を単離することができる。いくつかの実施形態では、濃縮ステップは、第 1 の共培養物を、抗原負荷 P BMC と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、4-1 BB（別称 CD 137）などの細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化 T 細胞集団を単離することを含む。

【0148】

いくつかの実施形態では、本方法は、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片が負荷された P BMC と共培養物を接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカインまたは細胞表面分子を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、濃縮された活性化 T 細胞集団を単離することを含む。いくつかの実施形態では、サイトカインは $\text{IFN}\gamma$ である。いくつかの実施形態では、細胞表面分子は、4-1 BB である。

【0149】

いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片による刺激に際し、 $\text{IFN}\gamma$ を分泌する活性化 T 細胞を共培養物から単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片による刺激に際し、 $\text{CD}3^+ \text{IFN}\gamma^+$ 細胞を共培養物から単離することを含む。いくつかの実施形態では、濃縮プロセスは、（1）標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片が負荷された第 1 の DC 集団及び T 細胞集団を含む共培養物を、標的腫瘍抗原ペプチドまたはその断片が負荷された P BMC と、約 10～24 時間（例えば約 1 日）にわたって接触させて、刺激された共培養物を得ることと、（2） $\text{IFN}\gamma$ を特異的に認識するリガンドを使用して、刺激された共培養物から、活性化 T 細胞を単離することを含む。いくつかの実施形態では、第 1 の抗原負荷 DC 集団と、T 細胞集団とは、抗原負荷 P BMC と接触する前に、約 1～7 日間（例えば約 2～3 日間）にわたって共培養されている。いくつかの実施形態では、共培養物と、抗原負荷 P BMC とは、単離の前に、少なくとも約 2 時間、4 時間、6 時間、12 時間、18 時間、24 時間、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの時間にわたって接触させる。

【0150】

サイトカイン（例えば $\text{IFN}\gamma$ ）を発現する活性化 T 細胞は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して、刺激された共培養物から単離または濃縮され得る。例えば、Miltenyi Biotec の $\text{IFN}\gamma$ Secretion Assay-Cell Enrichment and Detection Kit を含め、 $\text{IFN}\gamma$ を分泌する T 細胞を単離するための市販のキットが利用可能である。いくつかの実施形態では、 $\text{IFN}\gamma$ を分泌する活性化 T 細胞は、（1）T 細胞上の細胞表面抗原及び $\text{IFN}\gamma$ に特異的に結合する $\text{IFN}\gamma$ 捕捉試薬と、共培養物を接触させること、（2）抗 $\text{IFN}\gamma$ 抗体（例えば、ローフィコエリトリンまたは PE にコンジュゲートした抗 $\text{IFN}\gamma$ 抗体）と、 $\text{IFN}\gamma$ 捕捉試薬で処理した共培養物を接触させること、（3）抗 $\text{IFN}\gamma$ 抗体（例えば、抗 PE 抗体）を認識する二次抗体を含む磁気ビーズと、抗 $\text{IFN}\gamma$ 抗体で処理した共培養物を接触させること、及び（4）磁場を使用して（例えば、MACS（商標）セパレータカラムを使用して）磁気ビーズを単離することにより、濃縮された活性化 T 細胞集団を得ることによって単離される。

【0151】

いくつかの実施形態では、細胞表面バイオマーカーを発現する活性化 T 細胞は、（1）細胞表面バイオマーカーに対する蛍光標識抗体と共培養物を接触させること、及び（2）蛍光標識抗体に結合した細胞をフローサイトメトリーによって共培養物から単離することによって単離される。

【0152】

A PC の抗原負荷

本明細書に記載の方法及び MASC T 方法は、1 つ以上の腫瘍抗原ペプチドが負荷され

10

20

30

40

50

たAPC（例えばPBMC、樹状細胞、または細胞株APC）を使用する。いくつかの実施形態では、抗原負荷APC（例えば、抗原負荷DC）を、共培養ステップのうちの1つ以上のために新たに調製する。いくつかの実施形態では、抗原負荷APC（例えば、抗原負荷DC）を、各共培養ステップのために新たに調製する。いくつかの実施形態では、抗原負荷APC（例えば、抗原負荷DC）を調製し、DC成熟培地中で培養し、1つ以上の共培養ステップまたは刺激ステップのために使用する。第1、第2、及び第3の共培養ステップにおいて使用される抗原負荷DCは、単一バッチまたは別々のバッチの抗原負荷DCから得てもよい。特記なき限り、このセクションでAPC（例えばDC）について記載される特徴は、共培養ステップのそれぞれで使用されるすべてのAPC（例えばDC）に適用され、このセクションで抗原負荷APC（例えばDC）について記載される方法及び特徴は、抗原負荷DC及び他のタイプのAPCの第1の集団、第2の集団、及び第3の集団に適用される。APCとしては、PBMC、DC、B細胞、またはマクロファージが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に記載のAPCは、初代細胞であってもよいし、または細胞株に由来してもよい。いくつかの実施形態では、APCは、PBMCである。いくつかの実施形態では、APCは、固定PBMCである。PBMCを固定すると、PBMCの抗原提示能力を維持しながら、PBMCの増殖能力を破壊することができる。

【0153】

各共培養ステップで使用される抗原負荷DCには、同じ腫瘍抗原ペプチドプールを負荷してもよいし、または異なる腫瘍抗原ペプチドプールを負荷してもよい。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップにおける第1のDC集団に、第2の共培養ステップにおける第2のDC集団に負荷するために使用するものと同じ腫瘍抗原ペプチドプールを負荷する。いくつかの実施形態では、第2の共培養ステップにおける第2のDC集団に、第1の共培養ステップにおける第1のDC集団に負荷するために使用する腫瘍抗原ペプチドプールのサブセットを負荷する。いくつかの実施形態では、第3の共培養ステップにおける第3のDC集団に、第1の共培養ステップにおける第1のDC集団及び／または第2の共培養ステップにおける第2のDC集団に負荷するために使用する腫瘍抗原ペプチドプールのサブセットを負荷する。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原ペプチドプールのサブセットは、腫瘍抗原ペプチドの断片及びそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、単一の腫瘍抗原ペプチド（すなわち、標的腫瘍抗原ペプチド）またはその断片を使用して、第2及び第3の共培養ステップで使用するAPC（例えばDC）に負荷する。

【0154】

いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップで使用される第1の抗原負荷DC集団は、個体が過去のMASTCで使用した複数の腫瘍抗原ペプチドを使用して調製される。いくつかの実施形態では、第1の共培養ステップで使用される第1の抗原負荷DC集団は、過去のMASTCにおいて個体が特異的免疫応答を有した1つ以上の腫瘍抗原ペプチドを使用して調製される。いくつかの実施形態では、1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチドにおける個々の腫瘍抗原ペプチドまたはその断片、及びそれらの組み合わせを、個体に由来するPBMC、活性化T細胞、または腫瘍抗原特異的T細胞による特異的免疫応答について（例えば、ELISPOTによって）スクリーニングして、後の腫瘍抗原特異的T細胞の調製に使用するための1つ以上の標的腫瘍抗原ペプチド（それらの断片を含む）を識別する。

【0155】

いくつかの実施形態では、各共培養ステップの前に、本方法は、次のステップ：（1）個体からPBMCを得ること、（2）PBMCから単球集団を得ること、（3）単球集団の未熟DCへの分化を誘導すること、（4）未熟DCを1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DC集団を得ること、及び（5）TLRアゴニスト（例えばMPLA）を含むDC成熟培地中で、抗原負荷DC集団を培養することのうちの1つ以上を含む。

【0156】

いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、（a）DC集団を1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DC集団を得ること、及び（b）tol様受容体（TLR

10

20

30

40

50

アゴニストを含むDC成熟培地中で、抗原負荷DC集団を培養することによって調製される。例示的なTLRアゴニストとしては、MPLA（モノホスホリルリピドA）、Poly I:C、レシキモド（resiquimod）、ガーディキモド、及びCLO75が挙げられるが、これらに限定されない。INF γ 及びPGE2（プロスタグランジンE2）などのサイトカイン及び他の適切な分子が、成熟ステップにおける培養培地中にさらに含まれてもよい。

【0157】

いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、（a）DC集団を1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DC集団を得ること、及び（b）MPLA、INF γ 、及びPGE2を含むDC成熟培地中で、抗原負荷DC集団を培養することによって調製される。

10

【0158】

いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、（a）単球集団の未熟DCへの分化を誘導すること、（b）未熟DC集団を1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、抗原負荷DC集団を得ること、ならびに（c）MPLA、INF γ 、及びPGE2を含むDC成熟培地中で、抗原負荷DC集団を培養することによって調製される。いくつかの実施形態では、単球集団は、PBMCから得られる。

【0159】

いくつかの実施形態では、抗原負荷PBMCは、PBMC集団を1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させることによって調製される。いくつかの実施形態では、抗原負荷細胞株APCは、細胞株APC（例えば、LCL）集団を1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させることによって調製される。

20

【0160】

DC成熟培地は、適切な濃度のMPLA、INF γ 、及び／またはPGE2を含み得る。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、少なくとも約0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、例えば少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、またはそれ以上のうちのいずれか1つの濃度でMPLAを含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、約0.5～10、1～5、5～10、または2.5～7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のうちのいずれか1つの濃度でMPLAを含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、少なくとも約100 IU/mL、例えば少なくとも約150、200、250、300、400、500、600、800、1000 IU/mL、またはそれ以上のうちのいずれか1つの濃度でINF γ を含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、約100～1000、100～250、250～500、500～1000、または250～750 IU/mLのうちのいずれか1つの濃度でINF γ を含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、少なくとも約0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、例えば少なくとも約0.15、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、またはそれ以上のうちのいずれか1つの濃度でPGE2を含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、約0.1～0.5、0.1～0.3、0.25～0.5、または0.2～0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のうちのいずれか1つの濃度でPGE2を含む。

30

【0161】

1つ以上の腫瘍抗原ペプチドが負荷された未熟DCは、少なくとも約1日間、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、15日間、または20日間のうちのいずれか1つにわたって成熟するようにTLRアゴニストによって誘導され得る。いくつかの実施形態では、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、約8日間、9日間、10日間、11日間、または12日間にわたって成熟するように誘導される。

40

【0162】

いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドを提示する成熟DCである。本明細書に記載の方法のいずれかによって調製された成熟DCは、少なくとも約1、5、10、15、20、25、30、35、40、50、またはそれ以上のうちのいずれか1つの腫瘍抗原ペプチドを提示し得る。ナイーブDC、すなわち複数の腫瘍

50

抗原ペプチドが負荷されていないDCと比較すると、多重抗原負荷DCは、少なくとも約1、5、10、15、20、25、30、35、40、50、またはそれ以上のうちのいずれかの腫瘍抗原ペプチドの強化された提示レベルを有し得る。いくつかの実施形態では、成熟DCは、10個より多くの腫瘍抗原ペプチドの強化された提示レベルを有する。いくつかの実施形態では、成熟DCは、hTERT、p53、サイバリン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、RGS5、MMP7、VEGFR1、VEGFR2、MUC1、HER2、MAGE-A1、MAGE-A3、CDCA1、WT1、KRAS、PARP4、MLL3、MTHFR、HPV16-E6、HPV16-E7、HPV18-E6、HPV18-E7、HPV58-E6、HPV58-E7、HBcAg、HBVポリメラーゼ、GPC3、SSX、及びAFPからなる群から選択されるタンパク質に由来する、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、またはそれ以上のうちのいずれかの腫瘍抗原ペプチドの強化された提示レベルを有する。

【0163】

いくつかの実施形態では、抗原負荷APC（例えば、DC、PBMC、または細胞株APC）は、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドをAPC集団中にパルスングすることによって調製される。いくつかの実施形態では、抗原負荷DCは、未熟DC、またはPBMCに含まれるか、もしくはPBMCに由来する（例えば、PBMCから分化した）DCなどのDC集団中に、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドをパルスングすることによって調製される。当技術分野で公知であるように、パルスングとは、抗原ペプチドを含有する溶液と、APC（例えば、PBMCもしくはDC、または細胞株APC）などの細胞を混合し、必要に応じて、その後、抗原ペプチドを混合物から除去するプロセスを指す。DC集団は、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと、秒単位、分単位、または時間単位で、例えば少なくとも約30秒、1分、5分、10分、15分、20分、30分、1時間、5時間、10時間、12時間、14時間、16時間、18時間、20時間、22時間、1日、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、10日、またはそれ以上のうちのいずれか1つにわたって接触させてもよい。接触ステップで使用される各腫瘍抗原ペプチドの濃度は、少なくとも約0.1、0.5、1、2、3、5、または10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のうちのいずれか1つであり得る。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原ペプチドの濃度は、約0.1~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、例えば約0.1~0.5、0.5~1、1~10、10~50、50~100、100~150、または150~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のうちのいずれかを含む。

【0164】

いくつかの実施形態では、APC（例えば、DCもしくはPBMC、または細胞株APC）による1つ以上の腫瘍抗原ペプチドの取り込みを促進する組成物の存在下で、APC（例えば、DCもしくはPBMC、または細胞株APC）を1つ以上の腫瘍抗原ペプチドと接触させる。いくつかの実施形態では、APC（例えば、DCもしくはPBMC、または細胞株APC）によるペプチドの取り込みを促進する化合物、物質、または組成物が、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドの溶液に含まれてもよい。APC（例えば、DCもしくはPBMC、または細胞株APC）による1つ以上の腫瘍抗原ペプチドの取り込みを促進する化合物、物質、または組成物としては、脂質分子、及び複数の正に荷電したアミノ酸を含むペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原ペプチドの約50%超、60%超、70%超、80%超、90%超、または95%超のうちのいずれかが、APC（例えば、DCもしくはPBMC、または細胞株APC）集団によって取り込まれる。いくつかの実施形態では、集団におけるAPC（例えば、DCもしくはPBMC、または細胞株APC）の約50%超、60%超、70%超、80%超、90%超、または95%超のうちのいずれかが、少なくとも1つの腫瘍抗原ペプチドを取り込む。

【0165】

樹状細胞（例えば未熟DC）は、自家源、すなわち、TCR処置を受ける個体を含め、様々な源から得ることができる。簡便なDC源は、末梢血由来のPBMCである。例えば、白血球細胞の一種である単球は、PBMCに豊富であり、全PBMCの約5~30%を

10

20

30

40

50

構成する。サイトカインを使用して、単球を未熟DCなどのDCに分化するように誘導することができる。いくつかの実施形態では、未熟DCは、PBMC集団を得ること、PBMC集団から単球集団を得ること、及び単球集団を1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）と接触させて、未熟DC集団を得ることによって調製される。当技術分野で公知の条件（例えば濃度、温度、CO₂レベルなど）で、単球の分化を誘導するために使用され得る例示的なサイトカインとしては、GM-CSF及びIL-4が挙げられるが、これらに限定されない。

【0166】

PBMCの付着性画分は、PBMC中の大多数の単球を含有する。いくつかの実施形態では、PBMCの付着性画分における単球をサイトカインと接触させて、未熟DC集団を得る。PBMCは、末梢血試料の遠心分離によって、またはアフエーシス方法を使用して個体から収集することによって、簡便に得ることができる。いくつかの実施形態では、PBMC集団は、ヒト末梢血試料の密度勾配遠心分離によって得られる。いくつかの実施形態では、試料は、多重抗原負荷DC、活性化T細胞、TCRを発現する工学操作された免疫細胞、または多重抗原負荷DCを使用して調製された他の免疫療法組成物を受ける個体に由来する。

【0167】

腫瘍抗原ペプチド

本明細書に記載の方法及びMAST方法は、1つ以上の腫瘍抗原ペプチド（標的腫瘍抗原ペプチドを含む）を使用して、エキスピボ及びインピボの特異的免疫応答を誘起することができる抗原負荷APC（例えば抗原負荷DC）、活性化T細胞、及び腫瘍抗原特異的T細胞を調製する。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、複数の合成腫瘍抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、溶解細胞組成物などの細胞試料からは得られない。本明細書で使用される、「複数の腫瘍抗原ペプチドのうちの1つ以上の腫瘍抗原ペプチド」とは、複数の腫瘍抗原ペプチドにおける部分選択（sub-selection）またはすべての腫瘍抗原ペプチドを指し、腫瘍抗原ペプチドの断片及びそれらの組み合わせを含む。このサブセクションに記載する特徴及びパラメータは、標的腫瘍抗原ペプチド（複数可）に適用可能である。

【0168】

いくつかの実施形態では、各腫瘍抗原ペプチドは、単一のタンパク質抗原（ネオ抗原を含む）の、少なくとも約1個、2個、3個、4個、5個、または10個のうちのいずれか1つのエピトープを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドにおける各腫瘍抗原ペプチドは、T細胞受容体によって認識可能な少なくとも1つのエピトープを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、単一のタンパク質抗原の少なくとも2つのエピトープを含む少なくとも1つの腫瘍抗原ペプチドを含む。腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上のエピトープを含有するタンパク質抗原に天然に由来するペプチド断片であってもよいし、または、隣接するエピトープ配列間にリンカーペプチドが必要に応じて配置されていてもよい、1つ以上の天然エピトープ配列を含む人工的に設計されたペプチドであってもよい。いくつかの好ましい実施形態では、同じ腫瘍抗原ペプチドに含有されるエピトープは、同じタンパク質抗原に由来する。

【0169】

腫瘍抗原ペプチドは、少なくとも1つのMHC-Iエピトープ、少なくとも1つのMHC-IIエピトープ、またはMHC-Iエピトープ（複数可）及びMHC-IIエピトープ（複数可）の両方を含有してもよい。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、MHC-Iエピトープを含む少なくとも1つのペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、MHC-IIエピトープを含む少なくとも1つのペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドにおける少なくとも1つの腫瘍抗原ペプチドは、MHC-I及びMHC-IIの両方のエピトープを含む。

【0170】

腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCに対する免疫応答を最適化するために、特殊な設計

10

20

30

40

50

戦略を腫瘍抗原ペプチド（ネオ抗原ペプチドを含む）の配列に適用することができる。典型的に、エピトープペプチドちょうどよりも長いペプチドは、DCへのペプチドの取り込みを増加させることができる。いくつかの実施形態では、MHC-IまたはMHC-IIエピトープ配列を、エピトープを保有するタンパク質の天然配列に従って、N末端またはC末端または両末端で伸長させて、伸長配列を得る。この伸長配列は、クラスI及びクラスIIの両方のMHC分子による提示、及び異なる個体における異なるサブタイプのMHC分子による提示に適している。いくつかの実施形態では、エピトープ配列を、一方または両方の末端において、少なくとも約1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、12個、15個、または20個のうちのいずれか1つのアミノ酸残基によって伸長して、伸長されたエピトープを提供する。いくつかの実施形態では、MHC-IまたはMHC-IIエピトープを含むペプチドは、N末端、C末端、またはその両方でエピトープにフランキングするさらなるアミノ酸をさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドにおける各腫瘍抗原ペプチドは、少なくとも約10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、または100のうちのいずれか1つのアミノ酸長である。複数の腫瘍抗原ペプチドにおける異なる腫瘍抗原ペプチドは、同じ長さを有してもよいし、または異なる長さを有してもよい。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、それぞれ約20～40アミノ酸長である。

【0171】

いくつかの実施形態では、本出願において腫瘍抗原ペプチドを設計するために使用される1つ以上のエピトープペプチドのアミノ酸配列は、当技術分野で公知の配列、またはPeptide Database (Vigneron N. et al. Cancer Immunity, 13:15 (2013))などの公開データベースで利用可能な配列に基づく。

【0172】

いくつかの実施形態では、1つ以上のエピトープペプチドのアミノ酸配列は、T細胞エピトープ予測のためのバイオインフォマティクスツールを使用して、抗原タンパク質の配列に基づいて予測される。T細胞エピトープ予測のための例示的なバイオインフォマティクスツールは、当技術分野で公知である。例えば、Yang X. and Yu X. (2009) "An introduction to epitope prediction methods and software" Rev. Med. Virol. 19 (2) : 77-96を参照されたい。いくつかの実施形態では、抗原タンパク質の配列は、当技術分野で公知であるか、または公開データベースで利用可能である。いくつかの実施形態では、抗原タンパク質の配列は、処置される個体の試料（例えば腫瘍試料）のシーケンシングによって判定される。

【0173】

本出願は、ネオ抗原及びネオエピトープを含む当技術分野で公知の任意の腫瘍抗原及びエピトープに由来するか、または本発明者らによってバイオインフォマティクスツールを使用して特別に開発もしくは予測された腫瘍抗原ペプチドを想定する。

【0174】

いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群を含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群をさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、がんタイプ特異的抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群からなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群、及びがんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群からなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、ネオ抗原ペプチドのみからなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群、及び1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの

第1のコア群、がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群、及び1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。

【0175】

いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群を含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群をさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、がんタイプ特異的抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群からなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群、及びがんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群からなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、ネオ抗原ペプチドのみからなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群、及び1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群、がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群、及び1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。

【0176】

一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群は、異なるタイプの種々のがんによって一般的に過剰発現される腫瘍抗原に由来する。したがって、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群は、異なるがんタイプを有する個体を処置するための樹状細胞及び／または活性化T細胞を調製するのに有用である。例えば、いくつかの実施形態では、一般的な腫瘍抗原ペプチドの第1のコア群は、肺癌、結腸癌、胃癌、前立腺癌、黒色腫、リンパ腫、膀胱癌、卵巣癌、乳癌、神経膠腫、食道癌、上咽頭癌、子宮頸癌、腎癌、または肝細胞癌などの種々のがんを処置するための本明細書に記載の方法に有用である。第1のコア群の例示的な腫瘍抗原ペプチドとしては、hTERT、p53、サバイビン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、MET、MUC1、Her2、MAGEA1、MAGEA3、WT-1、RGS5、MMP7、VEGFR（例えばVEGFR1及びVEGFR2）、及びCDCA1に由来するペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。第1のコア群は、少なくとも約1種、2種、5種、10種、15種、20種、25種、30種、40種、50種、60種、70種、80種、またはそれ以上のうちのいずれか1つの腫瘍抗原に由来するペプチドを含み得る。第1のコア群は、少なくとも約1個、2個、5個、10個、15個、20個、25個、30個、40個、50個、60個、70個、80個、またはそれ以上のうちのいずれか1つの一般的な腫瘍抗原ペプチドを含み得る。いくつかの実施形態では、第1のコア群は、1つより多くの一般的な腫瘍抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第1のコア群は、約10～約20種の一般的な腫瘍抗原ペプチドを含む。

【0177】

がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群は、1つまたは限定された数のがんタイプにおいてのみ過剰発現される腫瘍抗原に由来する。したがって、がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群は、特定のタイプのがんを有する個体を処置するための樹状細胞及び／または活性化T細胞を調製するのに有用である。肝細胞癌（HCC）を処置するための例示的ながんタイプ特異的抗原ペプチドとしては、SSX、AFP、及びGPC3に由来するペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、1つ以上のがん特異的抗原ペプチドは、個体に感染した場合、がんを誘導し得るか、または個体におけるがん発症に関連する、ウイルスに由来するウイルス特異的抗原ペプチドである。いくつかの実施形態では、ウイルス特異的抗原ペプチドは、個体に感染するウイルスのサブタイプに特異的である。HBVの同時発生的感染を用いてHCC患者を処置するための例示的なウイルス特異的抗原ペプチドとしては、HBVコア抗原（HBcAg）に由来するペプチド、及びHBV DNAポリメラーゼが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、第2の群は、HBV抗原に由来するウイルス特異的抗原ペプチドを含み、本方法は、個体の肝細胞癌を処置するものである。いくつかの実施形態では、第2

の群は、HPV抗原に由来するウイルス特異的抗原ペプチドを含み、本方法は、個体の子宮頸癌を処置するものである。いくつかの実施形態では、第2の群は、EBV抗原に由来するウイルス特異的抗原ペプチドを含み、本方法は、個体の上咽頭癌を処置するものである。がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群は、少なくとも約1個、2個、5個、10個、15個、20個、25個、30個、40個、50個、またはそれ以上のうちのいずれか1つのがんタイプ特異的抗原に由来するペプチドを含み得る。がんタイプ特異的抗原ペプチドの第2の群は、少なくとも約1個、2個、5個、10個、15個、20個、25個、30個、40個、50個、またはそれ以上のうちのいずれか1つのがんタイプ特異的抗原ペプチドを含み得る。いくつかの実施形態では、第2の群は、1つより多くのがんタイプ特異的抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、第2の群は、約1〜約10個のがんタイプ特異的抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、がんタイプ特異的抗原ペプチドの標的となるがんのタイプは、肝細胞癌、子宮頸癌、上咽頭癌、子宮内膜癌、結腸直腸癌、乳癌、子宮内膜癌、及びリンパ腫から本質的になる群から選択される。

【0178】

いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上（例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、またはそれ以上）のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、ネオ抗原ペプチドからなる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、ネオ抗原ペプチドを含み、一般的な腫瘍抗原ペプチドを含まない。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上の一般的な腫瘍抗原ペプチド、及び1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、1つ以上の一般的な腫瘍抗原ペプチド、1つ以上のがんタイプ特異的抗原ペプチド、及び1つ以上のネオ抗原ペプチドを含む。ネオ抗原ペプチドは、ネオ抗原に由来する。ネオ抗原は、がんについて処置されている個体などの個体の腫瘍細胞内に存在する、新たに獲得され発現された抗原である。いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、がん細胞にのみ存在するが正常細胞には存在しない突然変異型タンパク質抗原に由来する。ネオ抗原は、がんについて処置されている個体の腫瘍細胞（例えばすべての腫瘍細胞または腫瘍細胞の一部）にユニークに存在する場合もある。いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、クローン性ネオ抗原である。いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、サブクローン性ネオ抗原である。いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、個体の、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上のうちのいずれかの腫瘍細胞に存在する。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、MHC-I制限されたネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、MHC-II制限されたネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、クラスI及びクラスIIの両方のMHC分子によるネオエピトープの提示を、例えば、N末端及びC末端の両方でネオエピトープを伸長することによって促進するように設計される。例示的なネオ抗原ペプチドとしては、突然変異型KRAS（例えばKRAS^{G12A}）、PARP4（例えばPARP4^{T1170I}）、MLL3（例えばMLL3^{C988F}）、及びMTHFR（例えばMTHFR^{A222V}）に由来するネオエピトープが挙げられるが、これらに限定されない。

【0179】

ネオ抗原ペプチドは、処置される個体の1つ以上の腫瘍部位の遺伝子プロファイルに基づいて選択することができ、ネオ抗原は、正常組織では発現されない。いくつかの実施形態では、腫瘍試料の遺伝子プロファイルは、全ゲノムの配列情報を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍試料の遺伝子プロファイルは、エクソームの配列情報を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍試料の遺伝子プロファイルは、がん関連遺伝子の配列情報を含む。

【0180】

本出願において使用するのに好適なネオ抗原ペプチドは、腫瘍細胞における、突然変異型がん関連遺伝子によってコードされるものなど、任意の突然変異型タンパク質に由来し

10

20

30

40

50

得る。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、がん関連遺伝子に由来する単一のネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、がん関連遺伝子に由来する1つより多く（例えば、2つ、3つ、またはそれ以上）のネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、1つより多く（例えば、2つ、3つ、またはそれ以上）のがん関連遺伝子に由来する1つより多く（例えば、2つ、3つ、またはそれ以上）のネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原は、単一のがん関連遺伝子に由来する複数のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原は、1つより多く（例えば2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上のうちのいずれか）のがん関連遺伝子に由来する複数のネオ抗原ペプチドを含む。

【0181】

がん関連遺伝子は、がん細胞においては過剰発現されるが、正常細胞では低レベルで発現される遺伝子である。例示的ながん関連遺伝子としては、ABL1、AKT1、AKT2、AKT3、ALK、ALOX12B、APC、AR、ARAF、ARID1A、ARID1B、ARID2、ASXL1、ATM、ATRAX、AURKA、AURKB、AXL、B2M、BAP1、BCL2、BCL2L1、BCL2L12、BCL6、BCOR、BCORL1、BLM、BMPR1A、BRAF、BRCA1、BRCA2、BRD4、BRIP1、BUB1B、CADM2、CARD11、CBL、CBLB、CCND1、CCND2、CCND3、CCNE1、CD274、CD58、CD79B、CDC73、CDH1、CDK1、CDK2、CDK4、CDK5、CDK6、CDK9、CDKN1A、CDKN1B、CDKN1C、CDKN2A、CDKN2B、CDKN2C、CEBPA、CHEK2、CIITA、CREBBP、CRKL、CRLF2、CRTCL1、CRTCL2、CSF1R、CSF3R、CTNNB1、CUX1、CYLD、DDB2、DDR2、DEPDC5、DICER1、DIS3、DMD、DNMT3A、EED、EGFR、EP300、EPHA3、EPHA5、EPHA7、ERBB2、ERBB3、ERBB4、ERCC2、ERCC3、ERCC4、ERCC5、ESR1、ETV1、ETV4、ETV5、ETV6、EWSR1、EXT1、EXT2、EZH2、FAM46C、FANCA、FANCC、FANCD2、FANCE、FANCF、FANCG、FAS、FBXW7、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FH、FKBP9、FLCN、FLT1、FLT3、FLT4、FUS、GATA3、GATA4、GATA6、GLI1、GLI2、GLI3、GNA11、GNAQ、GNAS、GNB2L1、GPC3、GSTM5、H3F3A、HNF1A、HRAS、ID3、IDH1、IDH2、IGF1R、IKZF1、IKZF3、INSIG1、JAK2、JAK3、KCNIP1、KDM5C、KDM6A、KDM6B、KDR、KEAP1、KIT、KRAS、LINC00894、LMO1、LMO2、LMO3、MAP2K1、MAP2K4、MAP3K1、MAPK1、MCL1、MDM2、MDM4、MECOM、MEF2B、MEN1、MET、MITF、MLH1、MLL (KMT2A)、MLL2 (KMT2D)、MPL、MSH2、MSH6、MTOR、MUTYH、MYB、MYBL1、MYC、MYCL1 (MYCL)、MYCN、MYD88、NBN、NEGR1、NF1、NF2、NFE2L2、NFKBIA、NFKBIZ、NKX2-1、NOTCH1、NOTCH2、NPM1、NPRL2、NPRL3、NRAS、NTRK1、NTRK2、NTRK3、PALB2、PARK2、PAX5、PBRM1、PDCD1LG2、PDGFRA、PDGFRB、PHF6、PHOX2B、PIK3C2B、PIK3CA、PIK3R1、PIM1、PMS1、PMS2、PNRC1、PRAME、PRDM1、PRF1、PRKAR1A、PRKCI、PRKCZ、PRKDC、PRPF40B、PRPF8、PSMD13、PTCH1、PTEN、PTK2、PTPN11、PTPRD、QKI、RAD21、RAF1、RARA、RB1、RBL2、RECQL4、REL、RET、RFWD2、RHEB、RHPN2、ROS1、RPL26、RUNX1、SBDS、SDHA、SDHAF2、SDHB、SDHC、SDHD、SETBP1、SETD2、SF1、SF3B1、SH2B3、SLITRK6、SMAD2、SMAD4、SMARCA4、SMARCB1、SMC1A、SMC3、SMO、SOCS1、SO

10

20

30

40

50

X2、SOX9、SQSTM1、SRC、SRSF2、STAG1、STAG2、STAT3、STAT6、STK11、SUFU、SUZ12、SYK、TCF3、TCF7L1、TCF7L2、TERC、TERT、TET2、TLR4、TNFAIP3、TP53、TSC1、TSC2、U2AF1、VHL、WRN、WT1、XPA、XPC、XPO1、ZNF217、ZNF708、及びZRSR2が挙げられるが、これらに限定されない。

【0182】

いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、hTERT、p53、サバイビン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、RGS5、MMP7、VEGFR1、VEGFR2、MUC1、HER2、MAGE-A1、MAGE-A3、CDCA1、WT1、KRAS、PARP4、MLL3、MTHFR、HPV16-E6、HPV16-E7、HPV18-E6、HPV18-E7、HPV58-E6、HPV58-E7、HBcAg、HBVポリメラーゼ、GPC3、SSX、及びAFPからなる群から選択されるがん関連遺伝子によってコードされる1つ以上のエピトープをそれぞれが含む、少なくとも1つ（例えば、少なくとも約1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、またはそれ以上のうちのいずれか）の腫瘍抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、少なくとも10個の腫瘍抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、hTERT、p53、サバイビン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、MUC1、Her2、MAGEA1、MAGEA3、WT-1、RGS5、VEGFR1、VEGFR2、及びCDCA1に由来する腫瘍抗原ペプチドを含む。

【0183】

いくつかの実施形態では、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドは、少なくとも約95%、96%、97%、98%、99%、99.9%、またはそれ以上のうちのいずれか1つのパーセンテージの腫瘍抗原ペプチドを有する組成物中に存在する。いくつかの実施形態では、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドの純度は、少なくとも約98%である。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原ペプチドをDC中にパルシングするための培地における1つ以上の腫瘍抗原ペプチドの溶解度は、少なくとも約80%、85%、90%、95%、98%、99%、99.9%、またはそれ以上のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドは、腫瘍抗原ペプチドをAPC中にパルシングするための培地において約100%可溶性である。

【0184】

MASCT

本明細書に記載のTCRは、MASCTから臨床的利益を得ている個体のPBMCまたはT細胞から得られる。いくつかの実施形態では、個体は、例えば、ELISPOTによって判定した場合、本明細書に記載の方法で使用される標的腫瘍抗原ペプチド（複数可）またはその断片に対する特異的応答を発生させている。

【0185】

本明細書で使用される、「MASCT」または「多重抗原特異的細胞療法」は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む養子T細胞療法の方法を指す。MASCT方法は、例えば、国際特許出願公開第WO2016145578A1号、国際特許出願第PCT/CN2018/081338号、及び同第PCT/CN2019/080535号に記載されており、これらの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。第1世代MASCT、高精度MASCT、PBMCベースのMASCT、カスタマイズされたMASCT、ネオ抗原ベースのMASCT、改良型MASCT、及びMASCTとの併用療法（例えば、免疫チェックポイント阻害剤及びMASCT）はすべて、本出願のMASCTの範囲内である。本出願または国際特許出願第WO2016145578A1号、PCT/CN2018/081338、及びPCT/CN2019/080535に記載される抗原負荷DCの調製、活性化T細胞の調製、濃縮ステップ、及び共培養ス

テップに関する好適な特徴及びパラメータはいずれも、M A S C T 処置において組み合わせられ得る。

【0186】

個体は、単一のタイプのM A S C Tを受けていてもよいし、または異なるタイプのM A S C Tの組み合わせ、例えば、カスタマイズされたM A S C T及び改良型M A S C Tを受けていてもよい。個体は、1サイクル以上のM A S C Tを受けていてもよい。いくつかの実施形態では、個体は、少なくとも約2、5、10、15、20、またはそれ以上のうちのいずれか1つのサイクルのM A S C Tを受けている。いくつかの実施形態では、個体は、少なくとも約3か月間、6か月間、9か月間、12か月間、2年間、3年間、またはそれ以上のうちのいずれか1つにわたってM A S C Tを受けている。

10

【0187】

いくつかの実施形態では、M A S C Tは、(i) 標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団(複数可)と、T細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることと、(ii) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、M A S C Tは、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD Cを有効量で個体に投与することを含む。

【0188】

いくつかの実施形態では、M A S C Tは、(i) 1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、(ii) 共培養の開始から約3〜7日後の共培養物に抗C D 3抗体を添加して、活性化T細胞集団を得ることと、(iii) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、M A S C Tは、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD Cを有効量で個体に投与することを含む。

20

【0189】

いくつかの実施形態では、M A S C Tは、(i) 標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとD C集団を接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団を得ることと、(ii) M P L Aを含むD C成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団を培養することと、(iii) 複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団と、T細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることと、(iv) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、D C成熟培地は、I N F γ 、M P L A、及びP G E 2を含む。いくつかの実施形態では、M A S C Tは、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD Cを有効量で個体に投与することを含む。

30

【0190】

いくつかの実施形態では、M A S C Tは、(i) 標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとD C集団を接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団を得ることと、(ii) M P L Aを含むD C成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団を培養することと、(iii) 1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD C集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、(iv) 共培養の開始から約3〜7日後の共培養物に抗C D 3抗体を添加して、活性化T細胞集団を得ることと、(v) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、D C成熟培地は、I N F γ 、M P L A、及びP G E 2を含む。いくつかの実施形態では、M A S C Tは、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたD Cを有効量で個体に投与することを含む。

40

【0191】

いくつかの実施形態では、M A S C Tは、活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含み、活性化T細胞は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞(例えばD C)集団とT細胞集団を共培養することによって調製される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、少なく

50

とも3回投与される。いくつかの実施形態では、個体は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞を有効量で過去に投与されたことがある。いくつかの実施形態では、本方法は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞（例えばDC）を有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、抗原提示細胞は、活性化T細胞の投与の約7日～約21日（例えば約7日～約14日、または約14日～約21日）前に投与される。いくつかの実施形態では、抗原提示細胞は、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、抗原提示細胞は、皮下、皮内、または静脈内に投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び抗原提示細胞集団は、同じ個体由来である。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び／または抗原提示細胞集団は、処置される個体由来である。いくつかの実施形態では、抗原提示細胞集団は、DC、B細胞、またはマクロファージの集団である。いくつかの実施形態では、抗原提示細胞は、DCである。いくつかの実施形態では、MASTは、免疫チェックポイント阻害剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、同時に、例えば同じ組成物中で、投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、連続的に投与される。

【0192】

いくつかの実施形態では、MASTは、（a）複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することと、（b）複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることと、（c）活性化T細胞を有効量で個体に投与することとを含む。いくつかの実施形態では、DCの投与と活性化T細胞の投与との間の間隔は、約7日間～約21日間（例えば約7日間～約14日間、約14日間～約21日間、約10日間または約14日間）である。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、T細胞集団は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、約7日間～約21日間（例えば約7日間～約10日間、約10日間～約15日間、約15日間～約21日間、約14日間～約21日間、または約10日間）にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、T細胞集団は、末梢血単核細胞（PBMC）集団の非付着性部分に由来する。いくつかの実施形態では、共培養は、複数のサイトカイン（例えばIL-2、IL-7、IL-15、IL-21、またはそれらの任意の組み合わせ）と、また必要に応じて抗CD3抗体と、活性化T細胞を接触させることをさらに含む。いくつかの実施形態では、T細胞集団を、免疫チェックポイント阻害剤（例えばPD-1、PD-L1、またはCTLA-4の阻害剤）と、共培養の前及び／または間に接触させる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団は、DC集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させることによって調製される。いくつかの実施形態では、T細胞集団及びDC集団は、同じ個体に由来する。いくつかの実施形態では、T細胞集団、DC集団、PBMC集団、またはそれらの任意の組み合わせは、処置される個体に由来する。いくつかの実施形態では、MASTは、免疫チェックポイント阻害剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、同時に、例えば同じ組成物中で、投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、連続的に投与される。

【0193】

いくつかの実施形態では、MASTは、（a）単球集団のDC集団への分化を誘導することと、（b）DC集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、（c）複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することと、（d）複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、非付着性PBMC集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることと、（e）活性化T細胞を有効量で個体に投与することとを含み、単球集団及び非付着性PBMC集団

10

20

30

40

50

は、P B M C 集団から得られる。いくつかの実施形態では、D C の投与と活性化 T 細胞の投与との間の間隔は、約 7 日間～約 2 1 日間（例えば約 7 日間～約 1 4 日間、約 1 4 日間～約 2 1 日間、約 1 0 日間または約 1 4 日間）である。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された D C は、皮下投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された D C は、少なくとも 3 回投与される。いくつかの実施形態では、活性化 T 細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、活性化 T 細胞は、少なくとも 3 回投与される。いくつかの実施形態では、共培養は、約 7 日間～約 2 1 日間（例えば約 7 日間～約 1 4 日間、約 1 4 日間～約 2 1 日間、または約 1 0 日間）にわたる。いくつかの実施形態では、共培養は、複数のサイトカイン（例えば I L - 2、I L - 7、I L - 1 5、I L - 2 1、またはそれらの任意の組み合わせ）と、また必要に応じて抗 C D 3 抗体と、活性化 T 細胞を接触させることをさらに含む。いくつかの実施形態では、非付着性 P B M C 集団を、免疫チェックポイント阻害剤（例えば P D - 1、P D - L 1、または C T L A - 4 の阻害剤）と、共培養の前及び／または間に接触させる。いくつかの実施形態では、P B M C 集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、M A S C T は、免疫チェックポイント阻害剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、活性化 T 細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、同時に、例えば同じ組成物中で、投与される。いくつかの実施形態では、活性化 T 細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、連続的に投与される。

【0194】

いくつかの実施形態では、M A S C T は、末梢血単核細胞（P B M C）集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、活性化 P B M C 集団を得ることと、活性化 P B M C を有効量で個体に投与することとを含む。いくつかの実施形態では、P B M C における抗原提示細胞（例えば D C）による複数の腫瘍抗原ペプチドの取り込みを促進する組成物の存在下で、P B M C 集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させる。いくつかの実施形態では、P D - 1、P D - L 1、C T L A - 4、I D O、T I M - 3、B T L A、V I S T A、及び L A G - 3 の阻害剤などの免疫チェックポイント阻害剤の存在下で、P B M C 集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させる。いくつかの実施形態では、活性化 P B M C 集団を I L - 2 と接触させる。いくつかの実施形態では、活性化 P B M C は、少なくとも 3 回投与される。いくつかの実施形態では、活性化 P B M C の各投与間隔は、約 2 週間～約 5 か月間（例えば約 3 か月間）である。いくつかの実施形態では、活性化 P B M C は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、P B M C 集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、M A S C T は、免疫チェックポイント阻害剤を有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、活性化 T 細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、同時に、例えば同じ組成物中で、投与される。いくつかの実施形態では、活性化 T 細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、連続的に投与される。

【0195】

いくつかの実施形態では、M A S C T は、（a）1 種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された D C 集団と、T 細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、b）共培養の開始から約 3 ～ 7 日後の共培養物に抗 C D 3 抗体を添加することにより、活性化 T 細胞集団を得ることと、（c）活性化 T 細胞を有効量で個体に投与することとを含む。いくつかの実施形態では、複数のサイトカインは、I L - 2、I L - 7、I L - 1 5、及び I L - 2 1 を含む。いくつかの実施形態では、I L - 2 は、初期共培養培地中に少なくとも約 5 0 0 I U / m L の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗 P D - 1 抗体である。いくつかの実施形態では、抗 P D - 1 抗体は、初期共培養培地中に少なくとも約 1 0 μ g / m L の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、抗 C D 3 抗体は、共培養の開始から約 5 日後の共培養物に添加される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された D C 集団と、T 細胞集団とは、抗 C D 3 抗体の存在下で少なくとも約 1 0 日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、T 細胞集団は、P B M C 集団中に存在する。いくつかの実施形態で

10

20

30

40

50

は、DC集団及びT細胞集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、個体に少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下、皮内、または静脈内に投与される。

【0196】

いくつかの実施形態では、MASTは、a) DC集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、b) MPLAを含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することと、c) 複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養することにより、活性化T細胞集団を得ることと、d) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することとを含む。いくつかの実施形態では、ステップc)は、インターロイキンカクテル、免疫チェックポイント阻害剤、及び抗CD3抗体を含む共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養することを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とは、抗CD3抗体の存在下で少なくとも約10日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INF γ 及びMPLAを含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、PGE2をさらに含む。いくつかの実施形態では、MPLAは、DC成熟培地中に少なくとも約0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、INF γ は、DC成熟培地中に少なくとも約100 IU/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、PGE2は、DC成熟培地中に少なくとも約0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、複数のサイトカインは、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21を含む。いくつかの実施形態では、IL-2は、共培養培地中に少なくとも約500 IU/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、共培養培地中に少なくとも約10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とは、抗CD3抗体の存在下で少なくとも約10日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、T細胞集団は、PBMC集団中に存在する。いくつかの実施形態では、DC集団及びT細胞集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、個体に少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下、皮内、または静脈内に投与される。

【0197】

いくつかの実施形態では、MASTは、a) DC集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、b) 1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、c) 共培養の開始から約3～7日後の共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、活性化T細胞集団を得ることと、d) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することとを含む。いくつかの実施形態では、ステップ(a)は、Toll様受容体(TLR)アゴニストを含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することをさらに含む。いくつかの実施形態では、TLRアゴニストは、MPLA、Poly I:C、レシキモド、ガーディキモド、及びCLO75からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、PGE2を含む。いくつかの実施形態では、複数のサイトカインは、IL-2、IL-7、IL-1

10

20

30

40

50

5、及びIL-21を含む。いくつかの実施形態では、IL-2は、初期共培養培地中に少なくとも約500 IU/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、初期共培養培地中に少なくとも約10 µg/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、共培養の開始から約5日後の共培養物に添加される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とは、抗CD3抗体の存在下で少なくとも約10日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、DC集団及びT細胞集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、個体に少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下、皮内、または静脈内に投与される。

【0198】

いくつかの実施形態では、MASTは、a) DC集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、b) MPLAを含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することと、c) 1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、d) 共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、活性化T細胞集団を得ることと、e) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することとを含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、共培養の開始時に共培養物に添加される。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、共培養の開始後に共培養物に添加される。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、INFγ及びMPLAを含む。いくつかの実施形態では、DC成熟培地は、PGE2をさらに含む。いくつかの実施形態では、MPLAは、DC成熟培地中に少なくとも約0.5 µg/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、INFγは、DC成熟培地中に少なくとも約100 IU/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、PGE2は、DC成熟培地中に少なくとも約0.1 µg/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、複数のサイトカインは、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21を含む。いくつかの実施形態では、IL-2は、初期共培養培地中に少なくとも約500 IU/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、初期共培養培地中に少なくとも約10 µg/mLの濃度で存在する。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とは、抗CD3抗体の存在下で少なくとも約10日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、DC集団及びT細胞集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、個体に少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下、皮内、または静脈内に投与される。

【0199】

いくつかの実施形態では、MASTは、a) DC集団を複数の腫瘍抗原ペプチドと接触させて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、b) MPLA、INFγ、及びPGE2を含むDC成熟培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を培養することと、c) IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21を含む複数のサイトカインならびに抗PD-1抗体を含む初期共培養培地中で、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備するこ

10

20

30

40

50

と、d) 共培養の開始から約3～7日（例えば、約5日）後の共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、活性化T細胞集団を得ることと、e) 活性化T細胞を有効量で個体に投与することを含む。いくつかの実施形態では、MPLAは、DC成熟培地中に少なくとも約 $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、INF γ は、DC成熟培地中に少なくとも約 $100 \text{ IU}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、PGE2は、DC成熟培地中に少なくとも約 $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、IL-2は、初期共培養培地中に少なくとも約 $500 \text{ IU}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、抗PD-1抗体は、初期共培養培地中に少なくとも約 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とは、抗CD3抗体の存在下で少なくとも約10日間にわたって共培養される。いくつかの実施形態では、DC集団及びT細胞集団は、処置される個体から得られる。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、個体に少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、本方法は、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下、皮内、または静脈内に投与される。

【0200】

概して、本明細書に記載の活性化T細胞、及び複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団の投与の投与量、スケジュール、及び経路は、個体のサイズ及び状態、ならびに標準的な業務に従って決定され得る。例示的な投与経路としては、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、小胞内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、くも膜下腔内、または経皮が挙げられる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCは、皮下投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、静脈内投与される。

【0201】

個体に投与される細胞の用量は、例えば、投与される細胞の特定のタイプ、投与経路、ならびに処置されるがんの特定のタイプ及び病期に従って異なり得る。この量は、重度の毒性または有害事象を伴わずに、がんに対する治療応答などの望ましい応答を提供するのに十分である必要がある。いくつかの実施形態では、投与される活性化T細胞またはDCの量は、治療有効量である。いくつかの実施形態では、細胞（例えば多重抗原負荷DCまたは活性化T細胞）の量は、処置前の同じ個体における対応する腫瘍サイズ、がん細胞の数、もしくは腫瘍増殖速度と比較して、または処置を受けていない他の個体における対応する活性と比較して、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%のうちのいずれかの、腫瘍のサイズの減少、がん細胞の数の減少、または腫瘍の増殖速度の低下を提供するのに十分な量である。この効果の大きさを測定するためには、精製された酵素を用いるインビトロアッセイ、細胞ベースのアッセイ、動物モデル、またはヒト試験などの標準的方法を使用することができる。

【0202】

いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、少なくとも約 1×10^5 、 5×10^5 、 1×10^6 、 1.5×10^6 、 2×10^6 、 3×10^6 、 4×10^6 、 5×10^6 、 6×10^6 、 7×10^6 、 8×10^6 、 9×10^6 、 1×10^7 、または 5×10^7 細胞／個体のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、約 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 、 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6 \sim 4 \times 10^6$ 、 $4 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6 \sim 6 \times 10^6$ 、 $6 \times 10^6 \sim 7 \times 10^6$ 、 $7 \times 10^6 \sim 8 \times 10^6$ 、 $8 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ 、 $3 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^6 \sim 7 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ 、または $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ 細胞／個体のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、少なくとも約 1×10^6 細胞／個体の用量で投与される。いくつかの実施形態では、抗原負

10

20

30

40

50

荷樹状細胞は、約 $1.5 \times 10^6 \sim 1.5 \times 10^7$ 細胞／個体の用量で投与される。

【0203】

いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、少なくとも約 1×10^4 、 2.5×10^4 、 5×10^4 、 1×10^5 、 2×10^5 、 2.5×10^5 、 4×10^5 、 6×10^5 、 8×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 、または 1×10^7 細胞／k g のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、約 $1 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 、 $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ 、 $2 \times 10^5 \sim 4 \times 10^5$ 、 $4 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$ 、 $6 \times 10^5 \sim 8 \times 10^5$ 、 $8 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^6$ 、または $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ 細胞／k g のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、少なくとも約 2×10^5 細胞／k g の用量で投与される。いくつかの実施形態では、抗原負荷樹状細胞は、約 $2.5 \times 10^4 \sim 2.5 \times 10^5$ 細胞／k g の用量で投与される。

【0204】

いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、少なくとも約 1×10^8 、 5×10^8 、 1×10^9 、 2×10^9 、 3×10^9 、 4×10^9 、 5×10^9 、 6×10^9 、 7×10^9 、 8×10^9 、 9×10^9 、 1×10^{10} 、 1.5×10^{10} 、 2×10^{10} 、または 5×10^{10} 細胞／個体のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、約 $1 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ 、 $5 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 、 $3 \times 10^9 \sim 7 \times 10^9$ 、 $1 \times 10^{10} \sim 2 \times 10^{10}$ 、または $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 細胞／個体のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、少なくとも約 3×10^9 細胞／個体の用量で投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、約 $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ 細胞／個体の用量で投与される。

【0205】

いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、少なくとも約 1×10^7 、 2×10^7 、 4×10^7 、 6×10^7 、 8×10^7 、 1×10^8 、 2×10^8 、 4×10^8 、 6×10^8 、 8×10^8 、 1×10^9 細胞／k g のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、約 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^7 \sim 5 \times 10^7$ 、 $2 \times 10^7 \sim 4 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^8 \sim 2 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^8 \sim 5 \times 10^8$ 、 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^9$ 、または $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^9$ 細胞／k g のうちのいずれか1つの用量で投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、少なくとも約 6×10^7 細胞／k g の用量で投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞は、約 $1.5 \times 10^7 \sim 2 \times 10^8$ 細胞／k g の用量で投与される。

【0206】

MASCTは、単剤療法においてのみならず、別の薬剤との併用療法においても使用することができる。例えば、本明細書に記載の処置方法のいずれかを、1つ以上（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上のいずれか）の免疫チェックポイント阻害剤の投与と組み合わせることができる。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1、PD-L1、CTLA-4、IDO、TIM-3、BTLA、VISTA、及びLAG-3の阻害剤からなる群から選択される。

【0207】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-1の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体である。例示的な抗PD-1抗体としては、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、ピディリズマブ、BMS-936559、及びアテゾリズマブ、ペムブロリズマブ、MK-3475、AMP-224、AMP-514、STI-A1110、及びTSR-042が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、ニボルマ

ブ（例えば、OPDIVO（登録商標））である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、ペムブロリズマブ（例えば、KEYTRUDA（登録商標））である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、SHR-1210である。

【0208】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-L1抗体である。例示的な抗PD-L1抗体としては、KY-1003、MCLA-145、RG7446、BMS935559、MPDL3280A、MED14736、アベルマブ、またはSTI-A1010が挙げられるが、これらに限定されない。

【0209】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、CTLA-4の阻害剤である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗CTLA-4抗体である。例示的な抗CTLA-4抗体としては、イピリムマブ、トレメリマブ、及びKAHR-102が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、イピリムマブ（例えば、YERVOY（登録商標））である。

【0210】

いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、同時に投与される。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、単一の組成物中で投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、第1、第2、または第3の共培養物中に存在する。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、投与の前（例えば直前）に混ぜられる。いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、別々の組成物によって同時に投与される。

【0211】

いくつかの実施形態では、活性化T細胞及び免疫チェックポイント阻害剤は、連続的に投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、活性化T細胞の投与前に投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、活性化T細胞の投与後に投与される。

【0212】

免疫チェックポイント阻害剤の例示的な投与経路としては、腫瘍内、膀胱内、筋肉内、腹腔内、静脈内、動脈内、頭蓋内、胸膜内、皮下、及び上皮経路が挙げられるが、これらに限定されない。または、免疫チェックポイント阻害剤は、そのような生きたがん細胞を含むことが公知であるリンパ腺、体腔、器官、または組織中に送達される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、静脈内投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、注入によって投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、少なくとも約10分間、30分間、1時間、2時間、4時間、6時間、またはそれ以上のうちのいずれかにわたって注入される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、活性化T細胞と同じ投与経路によって投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、活性化T細胞とは異なる投与経路によって投与される。

【0213】

免疫チェックポイント阻害剤の好適な用量としては、約 1 mg/m^2 、 5 mg/m^2 、 10 mg/m^2 、 20 mg/m^2 、 50 mg/m^2 、 100 mg/m^2 、 200 mg/m^2 、 300 mg/m^2 、 400 mg/m^2 、 500 mg/m^2 、 750 mg/m^2 、 1000 mg/m^2 、またはそれ以上のうちのいずれか1つが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤の用量は、約 $1\sim 5\text{ mg/m}^2$ 、約 $5\sim 10\text{ mg/m}^2$ 、約 $10\sim 20\text{ mg/m}^2$ 、約 $20\sim 50\text{ mg/m}^2$ 、約 $50\sim 100\text{ mg/m}^2$ 、約 $100\text{ mg/m}^2\sim 200\text{ mg/m}^2$ 、約 $200\sim 300\text{ mg/m}^2$ 、約 $300\sim 400\text{ mg/m}^2$ 、約 $400\sim 500\text{ mg/m}^2$ 、約 $500\sim 750\text{ mg/m}^2$ 、または約 $750\sim 1000\text{ mg/m}^2$ のうちのいずれか1つ

10

20

30

40

50

である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤の用量は、約 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $0.1 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.2 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.3 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.4 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $0.5 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $1 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $2 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $5 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $10 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $20 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $50 \text{mg}/\text{kg}$ 、 $100 \text{mg}/\text{kg}$ 、またはそれ以上のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤の用量は、約 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～ 約 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～ 約 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～ 約 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～ 約 $0.1 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $0.1 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $0.2 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $0.2 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $0.3 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $0.3 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $0.4 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $0.4 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $0.5 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $0.5 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $1 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $1 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $5 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $5 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $10 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $10 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $20 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $20 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $50 \text{mg}/\text{kg}$ 、約 $50 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ 、または約 $1 \text{mg}/\text{kg}$ ～ 約 $100 \text{mg}/\text{kg}$ のうちのいずれか1つである。

【0214】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、毎日投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、1週間に少なくとも約1回、2回、3回、4回、5回、6回、または7回（すなわち毎日）のうちのいずれか1つで投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、週1回投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、中断なしで週1回；3週間のうちの2週間で週1回；4週間のうちの3週間で週1回；2週間に1回；3週間に1回；4週間に1回；6週間に1回；8週間に1回、月1回、または2～12か月に1回投与される。いくつかの実施形態では、各投与間の間隔は、約6か月未満、3か月未満、1か月未満、20日未満、15日未満、12日未満、10日未満、9日未満、8日未満、7日未満、6日未満、5日未満、4日未満、3日未満、2日未満、または1日未満のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、各投与間の間隔は、約1か月超、2か月超、3か月超、4か月超、5か月超、6か月超、8か月超、または12か月超のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、3か月に1回投与される。いくつかの実施形態では、投薬スケジュールに中断はない。いくつかの実施形態では、各投与間の間隔は、約1週間以下である。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、活性化T細胞と同じ投薬スケジュールで投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、活性化T細胞とは異なる投薬スケジュールで投与される。

【0215】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、MASC T処置サイクル毎に投与される。例えば、免疫チェックポイント阻害剤は、MASC T処置サイクル毎に約1回、2回、3回、4回、5回、6回、またはそれ以上のうちのいずれかで投与されてもよい。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、MASC T処置サイクル毎に投与されない。例えば、免疫チェックポイント阻害剤は、約1回、2回、3回、4回、5回、またはそれ以上のMASC T処置サイクル毎に1回投与されてもよい。

【0216】

免疫チェックポイント阻害剤の投与は、約1か月から最長約7年などの長期間にわたってもよい。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、24、30、36、48、60、72、または84か月のうちのいずれか1つの期間にわたって投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、単回投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、繰り返し投与される。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、疾患進行まで繰り返し投与される。

【0217】

いくつかの実施形態では、MASC Tは、個体のがんにおける全突然変異荷重が低い個体に特に好適である。いくつかの実施形態では、MASC Tは、個体のがんのがん関連遺

10

20

30

40

50

伝子における突然変異荷重が低い個体に特に好適である。いくつかの実施形態では、M A S C T は、個体のがんにおけるT細胞応答に関連する免疫遺伝子における突然変異荷重が低い個体に特に好適である。いくつかの実施形態では、M A S C T は、個体のがんのM H C 遺伝子における突然変異荷重が低い個体に特に好適である。突然変異荷重は、すべてのがん細胞、または原発性もしくは転移性腫瘍部位などのがん細胞のサブセット、例えば、腫瘍生検試料中の細胞における突然変異荷重であってもよい。

【0218】

いくつかの実施形態では、1種以上の遺伝子の突然変異荷重が低いことは、1種以上の遺伝子に蓄積した突然変異の数が低いことである。いくつかの実施形態では、約500以下、400以下、300以下、200以下、100以下、50以下、40以下、30以下、20以下、10以下、5以下、またはそれ未満のうちのいずれかの突然変異の総数は、突然変異荷重が低いことを示す。いくつかの実施形態では、1種以上のM H C 遺伝子における約50以下、40以下、30以下、25以下、20以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下、または1以下のうちのいずれかの突然変異は、1種以上のM H C 遺伝子の突然変異荷重が低いことを示す。いくつかの実施形態では、1種以上の遺伝子の突然変異荷重が低いことは、1種以上の遺伝子（例えばM H C 遺伝子）に蓄積した突然変異の数と、選択された遺伝子セット（例えばがん関連遺伝子）または全ゲノムにおける突然変異の総数との比が低いことである。

【0219】

いくつかの実施形態では、1種以上のM H C 遺伝子は、M H C クラスI 遺伝子（または遺伝子座）を含む。いくつかの実施形態では、1種以上のM H C 遺伝子は、M H C クラスII 遺伝子（または遺伝子座）を含む。個体がヒト個体であるいくつかの実施形態では、1種以上のM H C 遺伝子は、H L A - A、H L A - B、H L A - C、及びB 2 M からなる群から選択される。

【0220】

例示的な突然変異としては、欠失、フレームシフト、挿入、インデル、ミスセンス突然変異、ナンセンス突然変異、点突然変異、コピー数多型、一塩基変異（S N V）、サイレント突然変異、スプライス部位突然変異、スプライスバリエント、遺伝子融合、及び転座が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、M H C 遺伝子のコピー数多型は、染色体またはその断片の欠失、重複、逆位、及び転座を含むゲノムの構造的再配列によって引き起こされる。いくつかの実施形態では、1つ以上のM H C 遺伝子における突然変異は、点突然変異、フレームシフト突然変異、遺伝子融合、及びコピー数多型から選択される。いくつかの実施形態では、突然変異は、M H C 遺伝子のタンパク質コード領域内にある。いくつかの実施形態では、突然変異は、非同義突然変異である。いくつかの実施形態では、突然変異は、多型ではない。いくつかの実施形態では、突然変異は、個体の正常細胞に存在する。いくつかの実施形態では、突然変異は、個体の正常細胞には存在しない。いくつかの実施形態では、突然変異は、影響を受ける遺伝子によってコードされるM H C 分子の安定性または結合親和性などの生理化学的または機能的特性に影響を与える。いくつかの実施形態では、突然変異は、M H C 分子における不可逆的欠損を提供する。いくつかの実施形態では、突然変異は、T細胞エピトープ及び／またはT細胞受容体に対するM H C 分子の結合親和性を低減させる。いくつかの実施形態では、突然変異は、機能喪失型突然変異である。いくつかの実施形態では、突然変異は、M H C 分子における可逆的欠損を提供する。いくつかの実施形態では、突然変異は、T細胞エピトープ及び／またはT細胞受容体に対するM H C 分子の結合親和性に影響を与えない。いくつかの実施形態では、突然変異は、体細胞突然変異である。いくつかの実施形態では、突然変異は、生殖系列突然変異である。

【0221】

突然変異荷重に考慮される突然変異は、全がん細胞またはがん細胞のサブセットに存在してもよい。いくつかの実施形態では、突然変異は、個体の全がん細胞に存在する。いく

つかの実施形態では、突然変異は、腫瘍部位の全がん細胞に存在する。いくつかの実施形態では、突然変異は、クローン性である。いくつかの実施形態では、突然変異は、サブクローン性である。いくつかの実施形態では、突然変異は、個体の少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上のうちのいずれかのがん細胞に存在する。

【0222】

ある特定のMHC遺伝子及び／または1種以上のMHC遺伝子のある特定のドメインもしくは位置における突然変異は、本明細書に記載の処置方法に対する個体の臨床応答に、より深い影響を与え得る。例えば、機能喪失型突然変異は、HLA分子のリーダーペプチド配列、a3ドメイン（これはT細胞のCD8共受容体に結合する）、a1ペプチド結合ドメイン、またはa2ペプチド結合ドメインに生じ得る。例えば、参照により本明細書に組み込まれるShukla S. et al. Nature Biotechnology 33, 1152-1158 (2015)を参照されたい。B2M (β 2-マクログロブリン)遺伝子における突然変異は、腫瘍エスケープ表現型を促進する場合もある。例えば、Monica B et al. Cancer Immunol. Immun., (2012) 61:1359-1371を参照されたい。いくつかの実施形態では、リーダーペプチド配列、a1ドメイン、a2ドメイン、またはa3ドメインなど、1種以上のMHC遺伝子の機能的領域における、いずれかの数（例えば1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上）の突然変異の存在は、高い突然変異荷重を示す。いくつかの実施形態では、1種以上のMHC遺伝子（例えば、ヒト個体のHLA-A、HLA-B、またはHLA-C遺伝子）における、いずれかの数（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、またはそれ以上）の機能喪失型突然変異は、高い突然変異荷重を示す。いくつかの実施形態では、1種以上のMHC遺伝子における突然変異荷重が低いことは、1種以上のMHC遺伝子（例えば、HLA-A、HLA-B、またはHLA-C遺伝子）のリーダーペプチド配列、a1ドメイン（例えば、CD8共受容体と直接接触している残基）、a2ドメイン、及びa3ドメイン（例えば、エピトープと直接接触している残基）を含む機能的領域における突然変異がないことを含む。いくつかの実施形態では、B2M遺伝子におけるいずれかの数の突然変異（例えば機能喪失型突然変異）の存在は、高い突然変異荷重を示す。いくつかの実施形態では、1種以上のMHC遺伝子における突然変異荷重が低いことは、B2M遺伝子における突然変異がないことを含む。

【0223】

1種以上の遺伝子（例えばMHC遺伝子）の突然変異荷重は、ゲノムDNAシーケンシング、エクソームシーケンシング、またはSangerシーケンシングもしくは次世代シーケンシングプラットフォームを使用する他のDNAシーケンシングに基づく方法；ポリメラーゼ連鎖反応アッセイ；インサイツハイブリダイゼーションアッセイ；及びDNAマイクロアレイを含むがこれらに限定されない、当技術分野で公知の任意の方法によって判定され得る。

【0224】

いくつかの実施形態では、1種以上のMHC遺伝子の突然変異荷重は、個体由来の腫瘍試料をシーケンシングすることによって判定される。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、次世代シーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、全ゲノムシーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、全エクソームシーケンシング（「WES」）などのエクソームシーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、RNAシーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、がん関連遺伝子とHLA遺伝子などの候補遺伝子の標的化シーケンシングである。例えば、ONCOGXONE（商標）Plus（Admera Health）が、がん関連遺伝子及びHLA遺伝子座を高いシーケンシング深度でシーケンシングするために利用可能である。いくつかの実施形態では、同じシーケンシングデータを使用して、個体における1種以上のMHC遺伝子の突然変異荷重を判定し、ネオ抗原を識別することができる。

【0225】

いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、組織試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、腫瘍細胞の細針吸引または腹腔鏡検査で得られた腫瘍細胞（例えば腫瘍間質を含む）などの腫瘍生検試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、新たに得られる。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、凍結されている。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、ホルムアルデヒド固定パラフィン包埋（FFPE）試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、細胞試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、循環転移性がん細胞を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、血液から循環腫瘍細胞（CTC）をソートすることによって得られる。いくつかの実施形態では、核酸（例えばDNA及び／またはRNA）がシーケンシング分析のために腫瘍試料から抽出される。いくつかの実施形態では、腫瘍試料のシーケンシングデータを、同じ個体の健康な組織の試料または健康な個体の試料などの参照試料のシーケンシングデータと比較して、腫瘍細胞中の突然変異を識別し、突然変異荷重を判定する。いくつかの実施形態では、腫瘍試料のシーケンシングデータを、ゲノムデータベースの参照配列と比較して、腫瘍細胞中の突然変異を識別し、突然変異荷重を判定する。

10

【0226】

MASCT方法のうちのいずれも、複数の腫瘍抗原ペプチドにおける1つ以上のネオ抗原ペプチドを使用することを含み得る。いくつかの実施形態では、MASCTは、個体が1つ以上（例えば少なくとも5つ）のネオ抗原を有することに基づいて、処置の方法のための個体を選択するステップ、及び／または（i）個体のネオ抗原を識別するステップ、及び（ii）ネオ抗原に由来するネオ抗原ペプチドを、処置方法で使用するための複数の腫瘍抗原ペプチドに組み込むステップをさらに含む。

20

【0227】

いくつかの実施形態では、MASCTは、（a）個体のネオ抗原を識別することと、（b）ネオ抗原ペプチドを複数の腫瘍抗原ペプチドに組み込むことであって、ネオ抗原ペプチドがネオ抗原のネオエピトープを含む、組み込むことと、（c）必要に応じて、複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDCを有効量で投与することと、（d）抗原負荷DCをT細胞集団と共培養することによって活性化T細胞集団を調製することと、（e）有効量の活性化T細胞を個体に投与することとを含み、個体は、1つ以上のネオ抗原を有する。

【0228】

個体は、ネオ抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドを使用したMASCT方法から利益を得るために、任意の数（例えば、少なくとも約1個、2個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、20個、50個、100個、またはそれ以上のうちのいずれか1つ）のネオ抗原を有し得る。いくつかの実施形態では、MASCT方法は、少なくとも約4個、5個、6個、7個、8個、10個、15個、20個、50個、100個、またはそれ以上のうちのいずれか1つのネオ抗原を有する個体に特に好適である。いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、1つ以上のネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、MASCT方法は、少なくとも約4個、5個、6個、7個、8個、10個、15個、20個、50個、100個、またはそれ以上のうちのいずれか1つのネオエピトープを有する個体に特に好適である。いくつかの実施形態では、T細胞エピトープは、MHC-I制限エピトープである。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、個体のMHC分子に対して、対応する野生型T細胞エピトープよりも高い親和性を有する。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、モデルT細胞受容体に対して、対応する野生型T細胞エピトープよりも高い親和性を有する。いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）は、クローン性ネオ抗原である。いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）は、サブクローン性ネオ抗原である。いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）は、個体の、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの腫瘍細胞に存在する。

30

40

【0229】

50

ネオ抗原の数を他のバイオマーカーまたは選択基準と組み合わせて、本明細書に記載の M A S C T 方法のうちのいずれか 1 つのための個体を選択してもよい。いくつかの実施形態では、M A S C T 方法は、がん細胞における（例えば 1 種以上の M H C 遺伝子における）突然変異荷重が低い個体、及び／または少なくとも約 4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、10 個、もしくはそれ以上のうちのいずれかのネオ抗原（例えば、高い親和性の M H C - I 制限されたネオエピトープを有するネオ抗原）を有する個体に特に好適である。

【0230】

任意の数（例えば、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、8 個、9 個、10 個、またはそれ以上のうちのいずれか）のネオ抗原ペプチドを、個体のネオ抗原に基づいて設計し、本明細書に記載の処置方法のうちのいずれかで使用するための複数の腫瘍抗原ペプチドに組み込むことができる。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、単一のネオ抗原ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、複数の腫瘍抗原ペプチドは、複数のネオ抗原ペプチドを含む。各ネオ抗原ペプチドは、個体のネオ抗原の 1 つ以上のネオエピトープを含み得る。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは T 細胞エピトープである。ネオ抗原に基づいてネオ抗原ペプチドを設計する方法は、「複数の腫瘍抗原ペプチド」のセクションに記載されている。

【0231】

個体におけるネオ抗原は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して識別することができる。いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、個体由来の腫瘍試料の遺伝子プロファイルに基づいて識別される。各ネオ抗原は、1 つ以上のネオエピトープを含む。いくつかの実施形態では、ネオ抗原中の 1 つ以上のネオエピトープは、腫瘍試料の遺伝子プロファイルに基づいて識別される。次世代シーケンシング（N G S）方法、マイクロアレイ、またはプロテオミクス方法などの任意の公知の遺伝子プロファイリング方法を使用して、腫瘍試料の遺伝子プロファイルを提供することができる。

【0232】

いくつかの実施形態では、ネオ抗原は、個体由来の腫瘍試料をシーケンシングすることによって識別される。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、次世代シーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、全ゲノムシーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、全エクソームシーケンシング（「W E S」）などのエクソームシーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、R N A シーケンシングである。いくつかの実施形態では、シーケンシングは、がん関連遺伝子などの候補遺伝子の標的化シーケンシングである。多くの市販の N G S がんパネル、例えば、O N C O G X O N E（商標）P l u s（A d m e r a H e a l t h）が、がん関連遺伝子を高いシーケンシング深度でシーケンシングするために利用可能である。

【0233】

いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、組織試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、腫瘍細胞の細針吸引または腹腔鏡検査で得られた腫瘍細胞（例えば腫瘍間質を含む）などの腫瘍生検試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、新たに得られる。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、凍結されている。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、ホルムアルデヒド固定パラフィン包埋（F F P E）試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、細胞試料である。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、循環転移性がん細胞を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、血液から循環腫瘍細胞（C T C）をソートすることによって得られる。いくつかの実施形態では、核酸（例えば D N A 及び／または R N A）がシーケンシング分析のために腫瘍試料から抽出される。いくつかの実施形態では、タンパク質がシーケンシング分析のために腫瘍試料から抽出される。

【0234】

いくつかの実施形態では、腫瘍試料の遺伝子プロファイルを、同じ個体の健康な組織または健康な個体の試料などの参照試料の遺伝子プロファイルと比較して、腫瘍細胞中の候補突然変異遺伝子を識別する。いくつかの実施形態では、腫瘍試料の遺伝子プロファイル

を、ゲノムデータベースの参照配列と比較して、腫瘍細胞中の候補突然変異遺伝子を識別する。いくつかの実施形態では、候補突然変異遺伝子は、がん関連遺伝子である。いくつかの実施形態では、各候補突然変異遺伝子は、ネオ抗原を生じ得る、非同義置換、インデル（挿入もしくは欠失）、または遺伝子融合などの1つ以上の突然変異を含む。共通の一塩基多型（SNP）は候補突然変異から除外される。

【0235】

いくつかの実施形態では、ネオ抗原中のネオエピトープは、候補突然変異タンパク質から識別される。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、インシリコで予測される。T細胞エピトープ予測のための例示的なバイオインフォマティクスツールは、当技術分野で公知である。例えば、Yang X. and Yu X. (2009) “An introduction to epitope prediction methods and software” Rev. Med. Virol. 19 (2) : 77-96を参照されたい。T細胞エピトープ予測アルゴリズムにおいて考慮される要因としては、個体のMHCサブタイプ、T細胞エピトープの配列に由来する生理化学的特性、MHC結合モチーフ、プロテアソーム切断パターン、抗原ペプチド輸送体（transporter associated with antigen processing）（TAP）輸送効率、MHC結合親和性、ペプチド-MHC安定性、及びT細胞受容体結合親和性が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、MHC-I制限エピトープである。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、MHC-II制限エピトープである。

【0236】

いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、個体のMHC分子に対して高い親和性を有する。いくつかの実施形態では、本方法は、例えば、シーケンシングデータから、個体のMHCサブタイプを判定して、個体の1つ以上のMHC分子を識別することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、MHCクラスI分子などのMHC分子に対するネオエピトープの親和性を判定することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、個体の1つ以上のMHC（例えばMHCクラスI）分子に対するネオエピトープの親和性を判定することを含む。いくつかの実施形態では、個体の1つ以上のMHC分子に対するネオエピトープの親和性を、個体の1つ以上のMHC分子に対する対応する野生型エピトープの親和性と比較する。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、個体の1つ以上のMHC分子（例えばMHC-I分子）に対する、対応する野生型エピトープよりも高い（例えば、少なくとも約1.5倍、2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、50倍、100倍、またはそれ以上のうちのいずれかの）親和性を有することについて選択される。いくつかの実施形態では、MHC結合親和性は、当技術分野で公知の任意のツールまたは方法を使用して、インシリコで予測される。いくつかの実施形態では、MHC結合親和性は、例えば、インビトロ結合アッセイを使用して、実験的に判定される。

【0237】

いくつかの実施形態では、MASTは、ネオエピトープ及びMHC分子（例えば個体のMHCクラスI分子）を含む複合体のT細胞受容体に対する親和性を判定することをさらに含む。いくつかの実施形態では、ネオエピトープ及びMHC分子を含む複合体のT細胞受容体に対する親和性を、対応する野生型エピトープ及びMHC分子を含む複合体のものと比較する。いくつかの実施形態では、MHC分子は、個体由来である。いくつかの実施形態では、T細胞受容体は、個体の1つ以上のT細胞の表面上にある。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、ネオエピトープ及びMHC分子を含む複合体において、T細胞受容体モデルに対する、対応する野生型エピトープよりも高い（例えば、少なくとも約1.5倍、2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、50倍、100倍、またはそれ以上のうちのいずれか1つの）親和性を有することについて選択される。いくつかの実施形態では、TCR結合親和性は、当技術分野で公知の任意のツールまたは方法を使用して、インシリコで予測される。いくつかの実施形態では、TCR結合親和性は、例えば、ネオエピトープに対するT細胞応答を判定することにより、実験的に判定される。

【0238】

いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）は、腫瘍試料中のネオ抗原（またはネオエピトープ）の発現レベルにさらに基づいて識別される。ネオ抗原（またはネオエピトープ）の発現レベルは、R T - P C R、抗体ベースのアッセイ、質量分析などの、当技術分野で公知であるm R N Aまたはタンパク質レベルの定量化のための任意の方法を使用して判定され得る。いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）の発現レベルは、腫瘍試料のシーケンシングデータから判定される。いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）は、腫瘍細胞において、細胞1つ当たり少なくとも約10、20、50、100、200、500、1000、2000、5000、 10^4 、またはそれ以上のうちのいずれか1つのコピー数のレベルで発現される。いくつかの実施形態では、ネオ抗原（またはネオエピトープ）は、腫瘍細胞において、対応する野生型タンパク質（または対応する野生型エピトープ）よりも、約1.5倍、2倍、5倍、10倍、20倍、50倍、100倍、またはそれ以上のうちのいずれか1つのレベルで発現される。

10

【0239】

いくつかの実施形態では、ネオ抗原ペプチドは、（a）個体由来の腫瘍試料をシーケンシングしてネオ抗原を識別することと、（b）ネオ抗原中のネオエピトープを識別することと、必要に応じて（c）個体のM H Cサブタイプを（例えば、シーケンシングデータを使用して）判定して、個体のM H C分子を識別することと、必要に応じて（d）個体のM H C分子に対するネオエピトープの親和性を判定することと、必要に応じて（e）ネオエピトープ及びM H C分子を含む複合体のT細胞受容体に対する親和性を判定することと、（f）ネオエピトープを含むペプチドを得てネオ抗原ペプチドを提供することを含むステップにより、選択または識別される。いくつかの実施形態では、ネオエピトープは、対応する野生型T細胞エピトープ及びM H C分子を含む複合体と比較して、個体のM H C分子（例えばM H C - I分子）に対する高い親和性、及び／または、ネオエピトープ及びM H C分子を含む複合体におけるT C Rに対する高い親和性を有する。いくつかの実施形態では、ネオエピトープを、エピトープを保有するネオ抗原の天然配列に従って、N末端またはC末端または両末端で伸長させて、伸長配列を得る。この伸長配列は、クラスI及びクラスIIの両方のM H C分子による提示に適している。1つ以上のネオ抗原ペプチドを使用する本明細書に記載の処置方法のうちのいずれも、ネオ抗原選択／識別ステップのうちの任意の1つ以上をさらに含み得る。

20

30

【0240】

本明細書に記載の処置方法及びM A S C T方法のうちのいずれも、個体が処置を受けた後にモニタリングステップをさらに含み得る。処置後のモニタリングは、個体の処置レジメンを調整して処置成績を最適化するために有益であり得る。

【0241】

例えば、本明細書に記載の複数の腫瘍抗原ペプチドは、繰り返しの処置のために使用され得る複数のカスタマイズされた腫瘍抗原ペプチドを提供するために、複数の腫瘍抗原ペプチドのそれぞれに対する個体の特異的免疫応答及び／または活性化T細胞に対する個体の臨床応答に基づいて調整またはカスタマイズされ得る。いくつかの実施形態では、強力な特異的免疫応答を誘発しない腫瘍抗原ペプチドは、パルシングしたD Cまたは活性化T細胞の将来の調製のための抗原ペプチドプールから除去することができる。

40

【0242】

1つ以上の腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答は、当技術分野で公知の任意の方法を使用して、例えば、個々の腫瘍抗原ペプチドによる刺激の後、T細胞（またはP B M C）からの細胞傷害性因子（例えばパーフォリンまたはグランザイムB）またはサイトカイン（例えばI F N γ またはT N F α ）の放出レベルを測定することによって判定することができる。E L I S P O Tなどの抗体ベースのアッセイを使用して、細胞傷害性因子またはサイトカイン（例えばI F N γ ）のレベルを定量化してもよい。いくつかの実施形態では、腫瘍抗原ペプチドに応じたT細胞（またはP B M C）からのサイトカイン（例えば

50

IFN γ)の放出レベルを、ベースラインサイトカイン放出レベルなどの基準、または無関係なペプチドに応じたT細胞(またはPBM C)からの非特異的サイトカイン放出レベルに対して正規化して、サイトカイン(例えばIFN γ)の変化倍率値を提供する。いくつかの実施形態では、ELISPOTアッセイにおける、約1.2超、1.5超、2超、2.5超、3超、4超、5超、6超、8超、10超、またはそれ以上のうちのいずれか1つのサイトカイン(例えばIFN γ)の変化倍率値は、腫瘍抗原ペプチドに対する強力な特異的免疫応答を示す。いくつかの実施形態では、ELISPOTアッセイにおいて、約10未満、8未満、6未満、5未満、4未満、3未満、2.5未満、2未満、1.5未満、1.2未満、またはそれ以下のうちのいずれか1つのサイトカイン(例えばIFN γ)変化倍率値を有する腫瘍抗原ペプチドは、将来の処置のための複数のカスタマイズされた腫瘍抗原ペプチドを提供するために、複数の腫瘍抗原ペプチドから除去される。

10

【0243】

本明細書に記載の処置方法に対する個体の臨床応答は、医師により、画像検査法、血液検査、バイオマーカー評価、及び生検などの当技術分野で公知の方法によって評価され得る。いくつかの実施形態では、臨床応答は、活性化T細胞を受ける前及び後の個体の循環腫瘍細胞(CTC)の数を判定することによってモニタリングされる。いくつかの実施形態では、CTCは、原発性腫瘍から離脱し、体液中を循環する。いくつかの実施形態では、CTCは、原発性腫瘍から離脱し、血流中を循環する。いくつかの実施形態では、CTCは、転移の指標である。CTC数は、Cell Search方法、Epic Science方法、isoflux、及びmaintracを含むがこれらに限定されない、当技術分野で公知の種々の方法によって判定され得る。いくつかの実施形態では、個体の血液試料における、CTCの特定のサブタイプを含む単一CTCの数が判定される。いくつかの実施形態では、処置を受けた後の個体の血液試料1mL当たり、約10超、20超、50超、100超、150超、200超、300超、またはそれ以上のうちのいずれかの数の単一CTCは、転移のリスクの増加、及び／または処置方法に対する臨床応答の不良を示す。いくつかの実施形態では、処置を受ける前と比較した、処置を受けた後の個体の単一CTCの数の増加(例えば、少なくとも約1.5、2、3、4、5、10、またはそれ以上のうちのいずれか1つの倍率の増加)は、処置方法に対する臨床応答の不良を示す。いくつかの実施形態では、個体の血液試料中のCTCクラスターの数が判定される。いくつかの実施形態では、処置を受けた後の個体の血液試料における、少なくとも約1個、5個、10個、50個、100個、またはそれ以上のうちのいずれかのCTCクラスターの検出は、転移のリスクの増加、及び／または処置に対する臨床応答の不良を示す。いくつかの実施形態では、処置を受ける前と比較した、処置を受けた後の個体のCTCクラスターの数の増加(例えば、少なくとも約1.5、2、3、4、5、10、またはそれ以上のうちのいずれか1つの倍率の増加)は、処置に対する臨床応答の不良を示す。

20

30

【0244】

III. 腫瘍特異的TCR

本明細書では、セクションIIに記載の方法のうちのいずれか1つを使用して得られる腫瘍特異的TCRも提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、CEA、RSG-5、またはHPV18-E7を特異的に認識する。腫瘍特異的TCRをコードする核酸及びベクター、腫瘍特異的TCRを発現する工学操作された免疫細胞も、本出願の範囲内である。

40

【0245】

例示的な腫瘍特異的TCR

本明細書に記載の方法を使用して識別される例示的なTCRを、以下の表1に示す。V、J、Cの各セグメントは、IMG Tデータベースに従って命名されている。当技術分野で公知である他の命名法及びセグメント描写アルゴリズムを使用してもよい。例えば、IMG Tによれば、TCR鎖は、アミノ酸1~26位のFR1、アミノ酸27~38位のCDR1、アミノ酸39~55位のFR2、アミノ酸56~65位のCDR2、アミノ酸66~104位のFR3、及びアミノ酸105~117位のCDR3(再配列されたV-J

50

ー遺伝子及びV－D－J－遺伝子の場合)、ならびにアミノ酸118～129位のFR4を含む。例えば、Lefranc, M.－P., The Immunologist, 7, 132－136 (1999)、及びワールドワイドウェブimgt.org/IMGTScientificChart/Nomenclature/IMGT-FRCDReffinition.htmlを参照されたい。例示的なTCRのCDR1、CDR2、及びCDR3を、「配列表」のセクション及び表5に示す。

【表1－1】

表1。例示的な腫瘍特異的TCR

TCR ID	クローン番号	抗原	TCR鎖	V	J	C	配列番号					
							プロ ペプチド	CDR3	全鎖		可変領域	
									ア ミノ 酸	核 酸	ア ミノ 酸	核 酸
	1	CE A	アル ファ	TRAV 26- 1*01	TRA J48 *01	Cα		4	5	6		
			ベータ	TRBV 18*0 1	TRB J1-	Cβ1		7	8	9		

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

				2*0 1								
	2		アル ファ	TRAV 16*0 1	TRA J27 *01	C α		10	1 1	12		
			ベー タ	TRBV 2*01	TRB J1- 3*0 1	C β 1		13	1 4	15		
	3		アル ファ	TRAV 23/D V6*0 1	TRA J20 *01	C α		16	1 7	18		
			ベー タ	TRBV 18*0 1	TRB J1- 4*0 1	C β 1		19	2 0	21		
	1		アル ファ	TRAV 38- 2/DV 8*01	TRA J20 *01	C α		22	2 3	24		
			ベー タ	TRBV 19*0 1	TRB J2- 1*0 1	C β 2		25	2 6	27		
P0 9E 06	2	RG S 5	アル ファ	TRAV 26- 1*01	TRA J43 *01	C α	82	28	2 9	30	21 4	215
			ベー タ	TRBV 11- 2*01	TRB J1- 1*0 1	C β 1		31	3 2	33	21 2	213
09 D0 1	3		アル ファ	TRAV 12- 1*01	TRA J12 *01	C α	82	34	3 5	36	24 2	243
			ベー タ	TRBV 20- 1*05	TRB J2- 3*0 1	C β 2		37	3 8	39	24 0	241
09 H0 5	4		アル ファ	TRAV 12- 1*01	TRA J12 *01	C α	82	40	4 1	42	23 8	239

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

			ペー タ	TRBV 20- 1*05	TRB J2- 5*0 1	C β 2		43	4 4	45	23 6	237
09 E0 1	5		アル ファ	TRAV 25*0 1	TRA J49 *01	C α	83	46	4 7	48	22 2	223
			ペー タ	TRBV 6- 5*01	TRB J1- 5*0 1	C β 1		49	5 0	51	22 0	221
09 B0 3	6		アル ファ	TRAV 16*0 1	TRA J23 *01	C α	82	52	5 3	54	21 0	211
			ペー タ	TRBV 30*0 1 [#]	TRB J2- 2*0 1	C β 2		55	5 6	57	20 8	209
P0 9B 08	1		アル ファ	TRAV 12-3	TRA J38 *01	C α	85	58	5 9	60	23 4	235
			ペー タ	TRBV 19*0 1	TRB J2- 1*0 1	C β 2		61	6 2	63	23 2	233
	2	HP V1 8 E7	アル ファ	TRAV 16*0 1	TRA J43 *01	C α		64	6 5	66		
			ペー タ	TRBV 7- 9*01	TRB J2- 1*0 1	C β 2		67	6 8	69		
10 F0 4	3		アル ファ	TRAV 12- 3*01	TRA J41 *01	C α	85	70	7 1	72	22 6	227
			ペー タ	TRBV 19*0 1	TRB J1- 4*0 1	C β 1		73	7 4	75	22 4	225
09 B1 2	4		アル ファ	TRAV 9- 2*01	TRA J53 *01	C α	85	76	7 7	78	21 8	219

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

		ベータ	TRBV 9*01	TRB J2- 7*0 1	C β 2		79	8 0	81	21 6	217
33 A0 2	5	アル ファ	TRAV 8- 3*02	TRA J54 *01	C α		87	8 8	89	24 6	247
		ベータ	TRBV 20- 1*01	TRB J2- 1*0 1	C β 2	84	90	9 1	92	24 4	245
33 D0 5	6	アル ファ	TRAV 8- 2*01	TRA J3* 01	C α		93	9 4	95	23 0	231
		ベータ	TRBV 7- 9*01	TRB J2- 5*0 1	C β 2	86	96	9 7	98	22 8	229

10

20

【 0 2 4 6 】

いくつかの実施形態では、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C E A ペプチドのエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。

【 0 2 4 7 】

いくつかの実施形態では、ヒト R G S 5 などの R G S 5 のエピトープ、例えばヒト R G S 5 のアミノ酸 1 ~ 3 0 またはアミノ酸 1 6 ~ 3 0 に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む R G S 5 ペプチドのエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む R G S 5 のエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む R G S 5 のエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。

30

【 0 2 4 8 】

いくつかの実施形態では、ヒト H P V 1 8 - E 7 などの H P V 1 8 - E 7 のエピトープ、例えば、ヒト H P V 1 8 - E 7 のアミノ酸 8 0 ~ 9 4、7 6 ~ 1 0 5、または 8 4 ~ 1 0 2 に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 ペプチドのエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 のエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 のエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 のエピトープに特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、T C R）が提供される。

40

【 0 2 4 9 】

配列番号 8 2 ~ 8 6 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つを含む単離された腫瘍エピトープも提供される。

50

【0250】

いくつかの実施形態では、配列番号4、7、10、13、16、19、22、25、28、31、34、37、40、43、46、49、52、55、58、61、64、67、70、73、76、79、87、90、93、及び96のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的TCR）が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的TCR）であって、（a）配列番号4、10、及び16のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、ならびに配列番号7、13、及び19のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（b）配列番号22、28、34、40、46、及び52のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、ならびに配列番号7、13、19、25、31、37、43、49、及び55のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、または（c）配列番号58、64、70、76、87、及び93のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、ならびに配列番号61、67、73、79、90、及び96のアミノ酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列を含む、腫瘍特異的抗原結合構築物が提供される。

【0251】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的TCR）であって、（a）配列番号4と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号7と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（b）配列番号10と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号13と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（c）配列番号16と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号19と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（d）配列番号22と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号25と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（e）配列番号28と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号31と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（f）配列番号34と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号37と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（g）配列番号40と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号43と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（h）配列番号46と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号49と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（i）配列番号52と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号55と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（j）配列番号58と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番号61と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第2のアミノ酸配列か、（k）配列番号64と少なくとも約90%の配列同一性（例えば、100%の同一性）を有する第1のアミノ酸配列、及び配列番

号 6 7 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 2 のアミノ酸配列か、（l）配列番号 7 0 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 1 のアミノ酸配列、及び配列番号 7 3 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 2 のアミノ酸配列か、（m）配列番号 7 6 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 1 のアミノ酸配列、及び配列番号 7 9 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 2 のアミノ酸配列か、（n）配列番号 8 7 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 1 のアミノ酸配列、及び配列番号 9 0 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 2 のアミノ酸配列か、または（o）配列番号 9 3 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 1 のアミノ酸配列、及び配列番号 9 6 と少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する第 2 のアミノ酸配列を含む、腫瘍特異的抗原結合構築物が提供される。いくつかの実施形態では、（a）～（c）のうちのいずれか 1 つの抗原結合構築物は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C E A ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（d）～（i）のうちのいずれか 1 つの抗原結合構築物は、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む R G S - 5 ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（e）～（g）及び（i）のうちのいずれか 1 つの抗原結合構築物は、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含む R G S - 5 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（h）の抗原結合構築物は、配列番号 8 3 のアミノ酸配列を含む R G S - 5 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（j）～（o）のうちのいずれか 1 つの抗原結合構築物は、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（n）の抗原結合構築物は、配列番号 8 4 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（j）、（l）、及び（m）のうちのいずれか 1 つの抗原結合構築物は、配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、（o）の抗原結合構築物は、配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含む H P V 1 8 - E 7 エピトープに特異的に結合する。

【0252】

いくつかの実施形態では、配列番号 4、7、10、13、16、19、22、25、28、31、34、37、40、43、46、49、52、55、58、61、64、67、70、73、76、79、87、90、93、及び 96 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的 T C R）が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R であって、（a）配列番号 4、10、及び 16 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有する相補性決定領域（C D R）3 を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 7、13、及び 19 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、（b）配列番号 22、28、34、40、46、及び 52 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域（C D R）3 を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 7、13、19、25、31、37、43、49、及び 55 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖か、または（c）配列番号 58、64、70、76、87、及び 93 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域（C D R）3 を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 61、67、73、79、90、及び 96 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 9 0 % の配列同一性（例えば、1 0 0 % の同一性）を有するアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖を含む、腫瘍特異的 T C R が提供される。

[illegible]

50

CDR3を含むTCRβ鎖を含む、腫瘍特異的TCRが提供される。いくつかの実施形態では、(a)～(c)のうちのいずれか1つの腫瘍特異的TCRは、配列番号1のアミノ酸配列を含むCEAペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(d)～(i)のうちのいずれか1つの腫瘍特異的TCRは、配列番号2のアミノ酸配列を含むRGS-5ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(e)～(g)及び(i)のうちのいずれか1つの腫瘍特異的TCRは、配列番号82のアミノ酸配列を含むRGS-5エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(h)の腫瘍特異的TCRは、配列番号83のアミノ酸配列を含むRGS-5エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(j)～(o)のうちのいずれか1つの腫瘍特異的TCRは、配列番号3のアミノ酸配列を含むHPV18-E7ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(n)の腫瘍特異的TCRは、配列番号84のアミノ酸配列を含むHPV18-E7エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(j)、(l)、及び(m)のうちのいずれか1つの腫瘍特異的TCRは、配列番号85のアミノ酸配列を含むHPV18-E7エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(o)の腫瘍特異的TCRは、配列番号86のアミノ酸配列を含むHPV18-E7エピトープに特異的に結合する。

【0254】

本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれも、Vエレメント及び／またはJエレメントを含み得る。任意の好適なV及びJエレメントが適用可能であり得る。例えば、IMGデータベースを参照されたい。表1は、Vエレメント及びJエレメントの例示的な組み合わせを示す。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、配列番号5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、88、及び94のうちのいずれか1つ、またはそのバリエーションのTRAVエレメントを含むTCRα鎖、ならびに配列番号8、14、20、26、32、38、44、56、62、68、74、80、91、及び97のアミノ酸配列のうちのいずれか1つ、またはそのバリエーションのTRBVエレメントを含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、配列番号5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、88、及び94のうちのいずれか1つ、またはそのバリエーションのTRAJエレメントを含むTCRα鎖、ならびに配列番号8、14、20、26、32、38、44、56、62、68、74、80、91、及び97のアミノ酸配列のうちのいずれか1つ、またはそのバリエーションのTRBJエレメントを含むTCRβ鎖を含む。

【0255】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRであって、(a)配列番号5、11、及び17のアミノ酸配列のうちのいずれか1つのCDRを含むTCRα鎖、ならびに配列番号8、14、及び20のアミノ酸配列のうちのいずれか1つのCDRを含むTCRβ鎖か、(b)配列番号23、29、35、41、47、及び53のアミノ酸配列のうちのいずれか1つのCDRを含むTCRα鎖、ならびに配列番号26、32、38、44、50、及び56のアミノ酸配列のうちのいずれか1つのCDRを含むTCRβ鎖か、または(c)配列番号59、65、71、77、88、及び94のアミノ酸配列のうちのいずれか1つのCDRを含むTCRα鎖、ならびに配列番号62、68、74、80、91、及び97のアミノ酸配列のうちのいずれか1つのCDRを含むTCRβ鎖を含む、腫瘍特異的TCRが提供される。

【0256】

本明細書に記載の腫瘍特異的TCRは、TCR定常ドメインも含む。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、配列番号5、11、17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、88、及び94のうちのいずれか1つ、またはそのバリエーションのTCRα定常ドメイン(TRAC)を含むTCRα鎖、ならびに配列番号8、14、20、26、32、38、44、56、62、68、74、80、91、及び97のアミノ酸配列のうちのいずれか1つ、またはそのバリエーションのTCRβ定常ドメイン(TRBC)を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、ヒ

ト T R A C 及びヒト T R B C、例えばヒト C α 及びヒト C β 1、またはヒト C α 及びヒト C β 2 を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、配列番号 198 のアミノ酸配列、またはそのバリエーションを含む T R A C を含む T C R α 鎖、及び配列番号 202 または 204 のアミノ酸配列を含む T R B C を含む T C R β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、マウス T R A C 及びマウス T R B C、例えばマウス C α 及びマウス C β 1 を含む。いくつかの実施形態では、マウス T R A C は、117 位の修飾（例えば S 117 L）及び／または 110 位の修飾（例えば G 110 V）を含む。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、配列番号 200 のアミノ酸配列、またはそのバリエーションを含む T R A C を含む T C R α 鎖、及び配列番号 206 のアミノ酸配列を含む T R B C を含む T C R β 鎖を含む。

10

【0257】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、ヒト T C R である。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、マウス化 T C R、例えば、T C R α 及び β 鎖のマウス定常領域を含む T C R などの、キメラ T C R である。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R は、ヒト T C R 可変領域と、マウスなどの非ヒト種由来の T C R 定常領域とを含む。

【0258】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R であって、（a）配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、もしくはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、（b）配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、または（c）配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80 及び 91 及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R β 鎖を含む、腫瘍特異的 T C R が提供される。

20

30

【0259】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的 T C R であって、（a）配列番号 5 と少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、配列番号 8 と少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、（b）配列番号 11 と少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、配列番号 14 と少なくとも約 80 % の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85 %、90 %、95 %、98 %、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100 % の同一性を有する）アミノ酸配列を含む

40

50

50

同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、配列番号 74 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、(m) 配列番号 77 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、配列番号 80 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、(n) 配列番号 88 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、配列番号 91 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R β 鎖か、または (o) 配列番号 94 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R α 鎖、配列番号 97 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する) アミノ酸配列を含む T C R β 鎖を含む、腫瘍特異的 T C R が提供される。いくつかの実施形態では、(a) ~ (c) のうちのいずれか 1 つの腫瘍特異的 T C R は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C E A ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(d) ~ (i) のうちのいずれか 1 つの腫瘍特異的 T C R は、配列番号 2 のアミノ酸配列を含む R G S - 5 ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(e) ~ (g) 及び (i) のうちのいずれか 1 つの腫瘍特異的 T C R は、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む R G S - 5 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(h) の腫瘍特異的 T C R は、配列番号 83 のアミノ酸配列を含む R G S - 5 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(j) ~ (o) のうちのいずれか 1 つの腫瘍特異的 T C R は、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む H P V 18 - E 7 ペプチドのエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(n) の腫瘍特異的 T C R は、配列番号 84 のアミノ酸配列を含む H P V 18 - E 7 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(j)、(l)、及び (m) のうちのいずれか 1 つの腫瘍特異的 T C R は、配列番号 85 のアミノ酸配列を含む H P V 18 - E 7 エピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、(o) の腫瘍特異的 T C R は、配列番号 86 のアミノ酸配列を含む H P V 18 - E 7 エピトープに特異的に結合する。

【0260】

いくつかの実施形態では、M H C / R G S 5 エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物 (例えば、T C R) が提供され、R G S 5 エピトープは、配列番号 82 のアミノ酸配列を含み、M H C は、H L A - D P A 1 * 02 : 02 / D P B 1 * 05 : 01 である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 28 を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖、及び配列番号 31 を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 254 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 255 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 28 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R α 鎖と、配列番号 256 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 257 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 31 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む T C R β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 214 の C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む T C R α 鎖と、配列番号 212 の C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む T C R β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 214 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 10

0%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号212と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒトTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号29と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号32と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号103と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号105と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号147または149のアミノ酸配列を含む。

【0261】

いくつかの実施形態では、MHC/RGS5エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物(例えば、TCR)が提供され、RGS5エピトープは、配列番号82のアミノ酸配列を含み、MHCは、HLA-DRA/DRB1*09:01またはHLA-DRA/DRB4*01:03である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号34を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号37を含むCDR3を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号258のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号259のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号34のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号260のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号261のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号37のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号242のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号240のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号242と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号240と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒトTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号35と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号38と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号107と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号109と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも

10

20

30

40

50

約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 151、153、155、及び 157 のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0262】

いくつかの実施形態では、MHC/RGS5 エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物 (例えば、TCR) が提供され、RGS5 エピトープは、配列番号 82 のアミノ酸配列を含み、MHC は、HLA-DRA/DRB1*09:01 または HLA-DRA/DRB4*01:03 である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 40 を含む CDR3 を含む TCRα鎖、及び配列番号 43 を含む CDR3 を含む TCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 262 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 263 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 40 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCRα鎖と、配列番号 264 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 265 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 43 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 238 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCRα鎖と、配列番号 236 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 238 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRα鎖、配列番号 236 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒト TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化 TCR、例えば、TCRα 及び β鎖のマウス定常領域を含む TCR などの、キメラ TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 41 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRα鎖、配列番号 44 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 111 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRα鎖、配列番号 113 と少なくとも約 80% の同一性を有する (例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) アミノ酸配列を含む TCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 159、161、163、及び 165 のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0263】

いくつかの実施形態では、MHC/RGS5 エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物 (例えば、TCR) が提供され、RGS5 エピトープは、配列番号 83 のアミノ酸配列を含み、MHC は、HLA-DRA/DRB1*09:01 または HLA-DRA/DRB4*01:03 である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 46 を含む CDR3 を含む TCRα鎖、及び配列番号 49 を含む CDR3 を含む TCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 266 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 267 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 46 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCRα鎖と、配列番号 268 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 269 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 49 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築

10

20

30

40

50

物は、配列番号 222 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 220 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 222 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 220 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒト TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化 TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含む TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 47 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 50 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 115 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 117 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 167 及び 169 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

【0264】

いくつかの実施形態では、MHC/RGS5 エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、TCR）が提供され、RGS5 エピトープは、配列番号 82 のアミノ酸配列を含み、MHC は、HLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01 である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 52 を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 55 を含む CDR3 を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 270 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 271 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 52 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 272 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 273 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 55 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 210 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 208 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 210 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 208 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒト TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化 TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含む TCR などの、キメラ TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 53 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 56 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識

10

20

30

40

50

構築物は、配列番号 119 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 121 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 143 及び 145 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

【0265】

いくつかの実施形態では、MHC/HPV18-E7 エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、TCR）が提供され、HPV18-E7 エピトープは、配列番号 85 のアミノ酸配列を含み、MHC は、HLA-DRA/DRB1*09:01 である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 58 を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 61 を含む CDR3 を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 274 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 275 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 58 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 276 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 277 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 61 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 234 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 232 の CDR1、CDR2、及び CDR3 を含む TCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 234 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 232 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒト TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化 TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含む TCR などの、キメラ TCR である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 59 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 62 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 123 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR α 鎖、配列番号 125 と少なくとも約 80% の同一性を有する（例えば、少なくとも約 85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか 1 つの同一性、または 100% の同一性を有する）アミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 179 及び 181 のうちのいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む。

【0266】

いくつかの実施形態では、MHC/HPV18-E7 エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、TCR）が提供され、HPV18-E7 エピトープは、配列番号 85 のアミノ酸配列を含み、MHC は、HLA-DRA/DRB1*09:01 または HLA-DRA/DRB4*01:03 である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 70 を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 73 を含む CDR3 を含む TCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号 278 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 279 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 70 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 280 のア

10

20

30

40

50

ミノ酸配列を含むCDR1、配列番号281のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号73のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号226のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCRα鎖と、配列番号224のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号226と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号224と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒトTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化TCR、例えば、TCRα及びβ鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号71と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号74と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号127と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号129と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号183及び185のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0267】

いくつかの実施形態では、MHC／HPV18－E7エピトープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、TCR）が提供され、HPV18－E7エピトープは、配列番号85のアミノ酸配列を含み、MHCは、HLA－IIである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号76を含むCDR3を含むTCRα鎖、及び配列番号79を含むCDR3を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号282のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号283のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号76のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCRα鎖と、配列番号284のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号285のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号79のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号218のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCRα鎖と、配列番号216のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号218と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号216と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒトTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化TCR、例えば、TCRα及びβ鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号77と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号80と少なくとも約

10

20

30

40

50

80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号131と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号133と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号187及び189のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

10

【0268】

いくつかの実施形態では、MHC／HPV18－E7エпитープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、TCR）が提供され、HPV18－E7エпитープは、配列番号84のアミノ酸配列を含み、MHCは、HLA－DRA／DRB1*09：01である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号87を含むCDR3を含むTCRα鎖、及び配列番号90を含むCDR3を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号286のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号287のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号87のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCRα鎖と、配列番号288のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号289のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号90のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号246のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCRα鎖と、配列番号244のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCRβ鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号246と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号244と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒトTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化TCR、例えば、TCRα及びβ鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号88と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号91と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号135と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRα鎖、配列番号137と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCRβ鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号171、173、175、及び177のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

20

30

40

【0269】

いくつかの実施形態では、MHC／HPV18－E7エпитープ複合体に特異的に結合する抗原認識構築物（例えば、TCR）が提供され、HPV18－E7エпитープは、配列番号86のアミノ酸配列を含み、MHCは、HLA－DPA1*02：02／DPB1*05：01、HLA－DPA1*01：03／DPB1*02：01、またはHLA－D

50

PA1*01:03 / DPB1*05:01である。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号93を含むCDR3を含むTCR α 鎖、及び配列番号96を含むCDR3を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号290のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号291のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号93のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号292のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号96のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号230のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号228のCDR1、CDR2、及びCDR3を含むTCR β 鎖とを含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号230と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号228と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、ヒトTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、マウス化TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号94と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号97と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号139と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCR α 鎖、配列番号141と少なくとも約80%の同一性を有する（例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する）アミノ酸配列を含むTCR β 鎖を含む。いくつかの実施形態では、抗原認識構築物は、配列番号191及び193のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0270】

天然に存在するTCRは、T細胞の表面上で対合する $\alpha\beta$ または $\gamma\delta$ 鎖から構成されるヘテロ二量体受容体である。 α 、 β 、 γ 、及び δ の各鎖は、相補性決定領域（CDR）によって抗原認識を提供する可変ドメイン（V）と、その後続く、連結ペプチド及び膜貫通（TM）領域によって細胞膜に固定された定常ドメイン（C）という、2つのIg様ドメインから構成されている。TM領域は、CD3シグナル伝達装置の不変サブユニットと会合する。Vドメインのそれぞれは、3つのCDRを有する。これらのCDRは、主要組織適合抗原によってコードされるタンパク質に結合した抗原性ペプチドの複合体（pMHC）と相互作用する（Davis and Bjorkman (1988) Nature, 334, 395-402、Davis et al. (1998) Annu Rev Immunol, 16, 523-544、Murphy (2012), xix, 868 p.）。

【0271】

「相同性」は、2つのポリペプチド間または2つの核酸分子間の配列類似性または配列同一性を指す。2つの比較される配列の両方において、ある位置が同じ塩基またはアミノ酸単量体サブユニットによって占められている場合、例えば、2つのDNA分子のそれぞれにおいて、ある位置がアデニンによって占められている場合、これらの分子は、その位置において「相同」である。2つの配列間の「相同性パーセント」または「配列同一性パーセント」は、あらゆる保存的置換を配列同一性の一部として考慮して、2つの配列に共

10

20

30

40

50

通するマッチするまたは相同の位置の数を、比較した位置の数で除し、100を乗じた関数である。例えば、2つの配列において10中6の位置がマッチする、または相同である場合、これら2つの配列は60%相同である。例として、DNA配列ATTGCC及びTATGGCは、50%の相同性を共有する。一般に、2つの配列が最大の相同性を提供するようにアラインされるときに比較が行われる。アミノ酸配列同一性パーセントを判定する目的のためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内にある様々な方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR)、またはMUSCLEソフトウェアなどの公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者であれば、比較されている配列の全長にわたって最大のアライメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含め、アライメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的では、アミノ酸配列同一性%の値は、配列比較コンピュータプログラムMUSCLE (Edgar, R. C., Nucleic Acids Research 32 (5): 1792-1797, 2004, Edgar, R. C., BMC Bioinformatics 5 (1): 113, 2004) を使用して生成される。

【0272】

本明細書に記載のTCRのうちのいずれか1つが認識するエピトープ及びMHC／エピトープ複合体も提供される。さらに、本明細書に記載のTCRのうちのいずれか1つと同じMHC／エピトープ複合体に競合的に結合するTCRが提供される。

【0273】

HLA制限

本明細書に記載の腫瘍特異的TCRは、MHCクラスIまたはMHCクラスII制限されている。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、HLAハプロタイプに制限されている。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、アジア人に多く見られるHLAハプロタイプ制限を有する。図25A～25Bは、例示的なTCRのHLA制限を示す。

【0274】

MHCクラスIタンパク質は、主要組織適合抗原 (MHC) 分子の2つの主要クラスのうちの1つであり (もう1つはMHCクラスIIである)、身体のほぼすべての有核細胞において見出される。それらの機能は、細胞内からタンパク質の断片をT細胞に提示することである。健康な細胞は無視されるが、外来タンパク質または突然変異タンパク質を含む細胞は免疫系によって攻撃される。MHCクラスIタンパク質は、細胞質タンパク質に由来するペプチドを提示するため、MHCクラスI提示の経路は、細胞質経路または内在性経路と呼ばれることが多い。クラスI MHC分子は、プロテアソームによる細胞質タンパク質の分解から主に生成されたペプチドに結合する。MHC I: ペプチド複合体は、次いで、細胞の原形質膜に挿入される。ペプチドは、クラスI MHC分子の細胞外部分に結合する。したがって、クラスI MHCの機能は、細胞傷害性T細胞 (CTL) に細胞内タンパク質を提示することである。しかしながら、クラスI MHCは、交差提示として知られるプロセスにおいて、外因性タンパク質から生成されたペプチドを提示することもできる。

【0275】

MHCクラスIタンパク質は、 α -ミクログロブリン及び β 2-ミクログロブリン (β 2M) という2つのポリペプチド鎖からなる。2つの鎖は、 β 2M及び α 3ドメインの相互作用を介して非共有結合的に連結している。 α 鎖のみが多型であり、HLA遺伝子によってコードされるが、 β 2Mサブユニットは多型ではなく、 β -2ミクログロブリン遺伝子によってコードされる。 α 3ドメインは原形質膜貫通性であり、T細胞のCD8共受容体と相互作用する。 α 3-CD8相互作用はMHC I分子を適所に保ち、一方、細胞傷害性T細胞の表面上のT細胞受容体 (TCR) は、その α 1- α 2ヘテロ二量体リガンドに結合し、共役したペプチドの抗原性をチェックする。 α 1及び α 2ドメインは、ペプチドが結合するための溝を作るようにフォールディングする。MHCクラスIタンパク質は、8～10アミノ酸長であるペプチドに結合する。

【0276】

MHCクラスII分子は、通常は樹状細胞、単核食細胞、一部の内皮細胞、胸腺上皮細胞、及びB細胞などの抗原提示細胞のみに見出される分子のファミリーである。クラスIIペプチドによって提示される抗原は、細胞外タンパク質に由来する（クラスIIのように細胞質ではない）。したがって、抗原提示のMHCクラスII依存性経路は、エンドサイトーシス経路または外因性経路と呼ばれる。MHCクラスII分子の負荷はファゴサイトーシスによって起こる。細胞外タンパク質が形質膜陥入し、リソソーム中で消化され、結果として得られるエピトープペプチド断片が、細胞表面に移動する前にMHCクラスII分子上に負荷される。

【0277】

MHCクラスII分子と同様に、クラスII分子もヘテロ二量体であるが、この場合、2つの均質なペプチド、 α 及び β 鎖からなる。 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ などの下位名称は、HLA遺伝子内の別々のドメインを指す。各ドメインは通常、遺伝子内の異なるエクソンによってコードされ、いくつかの遺伝子は、リーダー配列、膜貫通配列などをコードするさらなるドメインを有する。MHCクラスII分子の抗原結合溝は、両末端で開放しているが、対応するクラスII分子上の溝は、各末端で閉鎖しているため、MHCクラスII分子によって提示される抗原は、一般的に15～24アミノ酸残基長と比較的長い。

【0278】

ヒト白血球抗原（HLA）遺伝子は、MHC遺伝子のヒト版である。ヒトにおける3つの主なMHCクラスIIタンパク質は、HLA-A、HLA-B、及びHLA-Cであり、3つのマイナーなものは、HLA-E、HLA-F、及びHLA-Gである。ヒトにおける抗原提示に関与する3つの主なMHCクラスIIタンパク質は、HLA-DP、HLA-DQ、及びHLA-DRであり、他のMHCクラスIIタンパク質であるHLA-DM及びHLA-DOは、抗原の内部プロセッシング及び負荷に関与している。HLA-Aは、ヒトの遺伝子の中で最も早く進化するコード配列と位置付けられる。2013年12月時点では、1740種の活性タンパク質及び117種のヌルタンパク質をコードする2432種のHLA-Aアレルが公知であった。HLA-A遺伝子は、第6染色体の短腕上に位置し、HLA-Aの構成要素であるより大きな α 鎖をコードする。HLA-A α 鎖のバリエーションは、HLA機能にとって重要である。このバリエーションは、集団内の遺伝子多様性を促進する。各HLAは、ある特定の構造のペプチドに対して異なる親和性を有するため、HLAの多様化は、細胞表面上で「提示される」抗原の多様化を意味し、集団のサブセットがあらゆる外来性侵入物に対する耐性をもつ可能性が高まる。これは、単一の病原体がヒトの全人口を一掃する能力を有する可能性を減少させる。各個体は、両親のそれぞれから1種で最大2種のHLA-Aを発現することができる。一部の個体では、両方の親から同じHLA-Aが遺伝し、各自のHLA多様性が減少するが、大多数の個人はHLA-Aの2つの異なるコピーを受ける。これと同じパターンが、すべてのHLA群で続く。換言すれば、一個人は、2432種の公知のHLA-Aアレルのうち1つまたは2つしか発現することができない。

【0279】

すべてのアレルは、少なくとも4桁の分類を受ける（例えば、HLA-A*02:12）。Aは、アレルがどのHLA遺伝子に属するかを表す。多くのHLA-Aアレルが存在するため、血清型による分類はカテゴリー化を単純化する。次の数字の対は、この割り当てを示す。例えば、HLA-A*02:02、HLA-A*02:04、及びHLA-A*02:324はすべて、A2血清型（*02の接頭辞により指定される）のメンバーである。この群は、HLA適合性に関与する主要な要因である。この後の数字はいずれも、血清型検査によって決定することはできず、遺伝子シーケンシングによって指定される。数字の第2のセットは、どのHLAタンパク質が生成されるかを示す。これらは発見順に割り当てられ、2013年12月時点では、456種の異なるHLA-A02タンパク質が公知である（HLA-A*02:01～HLA-A*02:456の名称が割り当てられている）。可能性のある最も短いHLA名は、これらの詳細の両方を含む。それ以降の各拡

10

20

30

40

50

張部分は、タンパク質を変化させる場合も変化させない場合もあるヌクレオチドの変化を表す。

【0280】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、標的腫瘍抗原ペプチド及びMHCクラスIIタンパク質を含む複合体に特異的に結合し、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、またはHLA-Gである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A、HLA-B、またはHLA-Cである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-Aである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-Bである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-Cである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74、またはHLA-A80である。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A02である。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22、またはHLA-A*02:24など、HLA-A*02:01～555のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A*02:01である。HLA-A*02:01は、全コーカサス人の39～46%において発現される。HLA-A*02:01制限を有する腫瘍特異的TCRは、コーカサス人患者を処置するのに特に好適であり得る。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-A*1101である。HLA-A*1101は、全中国人の約25～30%において発現される。HLA-A*1101制限を有する腫瘍特異的TCRは、中国人患者を処置するのに特に好適であり得る。

【0281】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、標的腫瘍抗原ペプチド及びMHCクラスIIタンパク質を含む複合体に特異的に結合し、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-DP、HLA-DQ、またはHLA-DRである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-DPである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-DQである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-DRである。いくつかの実施形態では、MHCクラスIIタンパク質は、HLA-DPB1*0401である。HLA-DPB1*0401は、全コーカサス人の35～40%において発現される。HLA-DPB1*0401制限を有する腫瘍特異的TCRは、コーカサス人患者を処置するのに特に好適であり得る。

【0282】

バリエーション

いくつかの実施形態では、本明細書において提供される腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的TCR）のアミノ酸配列バリエーションが想定される。例えば、腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的TCR）の結合親和性及び／または他の生物学的特性を向上させることが望ましい場合がある。腫瘍特異的TCRのアミノ酸配列バリエーションは、腫瘍特異的TCRのTCR α もしくはTCR β 鎖をコードするヌクレオチド配列（複数可）に適切な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって調製され得る。

。かかる修飾としては、例えば、腫瘍特異的 T C R のアミノ酸配列内の残基からの欠失、及び／またはその残基への挿入、及び／またはその残基の置換が挙げられる。最終構築物に到達するために欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせを行うことができるが、最終構築物が所望の特性、例えば、抗原結合性を保有することを条件とする。

【0283】

いくつかの実施形態では、1つ以上のアミノ酸置換を有する腫瘍特異的抗原結合構築物（例えば、腫瘍特異的 T C R）バリエーションが提供される。置換型突然変異誘発の目的の部位には、C D R 及び F R が含まれる。アミノ酸置換を目的の腫瘍特異的 T C R に導入し、生成物を所望の活性、例えば、保持された／向上した抗原結合性または減少した免疫原性についてスクリーニングしてもよい。

【0284】

保存的置換を以下の表 2 に示す。

【表 2】

表 2：保存的置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala (A)	Val、Leu、Ile	Val
Arg (R)	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn (N)	Gln、His、Asp、Lys、Arg	Gln
Asp (D)	Glu、Asn	Glu
Cys (C)	Ser、Ala	Ser
Gln (Q)	Asn、Glu	Asn
Glu (E)	Asp、Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn、Gln、Lys、Arg	A r g
Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile
Lys (K)	Arg、Gln、Asn	Arg
Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe (F)	Trp、Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val、Ser	Ser
Trp (W)	Tyr、Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val (V)	Ile、Leu、Met、Phe、Ala、ノルロイシン	Leu

【0285】

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って異なるクラスにグループ化され得る：

- 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile、
- 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln、
- 酸性：Asp、Glu、
- 塩基性：His、Lys、Arg、

e. 鎖配向に影響する残基：G l y、P r o、

f. 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0286】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの1つのメンバーの別のクラスとの交換を伴う。

【0287】

例示的な置換型バリエーションは、例えば、ファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を使用して簡便に生成され得る、親和性成熟した腫瘍特異的TCRである。簡潔に述べると、1つ以上のCDR残基を突然変異させ、バリエーション腫瘍特異的TCR部分をファージに提示させ、特定の生物学的活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングする。CDR内に変化（例えば置換）を生じさせて、腫瘍特異的TCR親和性を向上させてもよい。

【0288】

親和性成熟のいくつかの実施形態では、種々の方法（例えば、エラープロードPCR、鎖シャッフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性突然変異誘発）のうちのいずれかにより、成熟のために選択される可変遺伝子に多様性を導入する。次いで、二次ライブラリを作成する。次いで、このライブラリをスクリーニングして、所望の親和性を有するあらゆる腫瘍特異的TCRバリエーションを識別する。多様性を導入する別の方法は、いくつかのCDR残基（例えば、一度に4〜6つの残基）がランダム化されるCDR指向性アプローチを伴う。例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発またはモデリングを使用して、抗原結合に関与するCDR残基を特異的に識別してもよい。

【0289】

いくつかの実施形態では、置換、挿入、または欠失が、抗原に結合する腫瘍特異的TCRの能力を実質的に低減させない限り、かかる変化が1つ以上のCDR内で生じてもよい。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的変化（例えば、本明細書において提供される保存的置換）が、CDR内で生じてもよい。上記で提供したバリエーションTCR α またはTCR β 配列のいくつかの実施形態において、各CDRは、変化なし、または1つ、2つ、もしくは3つ以下のアミノ酸置換を含むかのいずれかである。

【0290】

アミノ酸配列挿入としては、長さが1残基から100以上の残基を含むポリペプチドまで及ぶアミノ末端及び／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が挙げられる。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCR構築物は、TCR α 鎖またはTCR β 鎖のN末端にリーダー配列を含む。いくつかの実施形態では、リーダー配列は、配列番号101のアミノ酸配列を含む。

【0291】

いくつかの実施形態では、TCR α 鎖ポリペプチド、自己切断性リンカー、及びTCR β 鎖ポリペプチドを含むポリペプチドを含む腫瘍特異的TCR構築物が提供される。いくつかの実施形態では、自己切断性リンカーは、P2Aペプチド、T2Aペプチド、E2Aペプチド、またはF2Aペプチドである。いくつかの実施形態では、自己切断性リンカーは、配列番号99、195、196、及び197のアミノ酸配列のうちのいずれか1つを含む。

【0292】

本明細書に記載の腫瘍特異的TCRの抗原結合性断片及び誘導体も想定される。

【0293】

核酸

本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのいずれかに係るいくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRをコードする核酸（または一組の核酸）が提供される。本発明は、本発明の1つ以上の核酸が組み込まれたベクターも提供する。

【0294】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRまたはその構成要素もしくは誘導体（例えばTCR α 鎖、TCR β 鎖、腫瘍特異的TCR、または腫瘍特異的TCR構築物）をコードする単離核酸が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRまたはその構

10

20

30

40

50

【 0 2 9 5 】

10

20

30

50

同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRβ鎖コード核酸、(l) 配列番号72と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRα鎖コード核酸、配列番号75と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRβ鎖コード核酸、(m) 配列番号78と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRα鎖コード核酸、配列番号81と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRβ鎖コード核酸、(n) 配列番号89と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRα鎖コード核酸、配列番号92と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRβ鎖コード核酸、または(o) 配列番号95と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRα鎖コード核酸、配列番号98と少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含むTCRβ鎖コード核酸を含む、1つ以上のベクターが提供される。

【0298】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCR構築物を含む単離核酸(例えばベクター)が提供され、この核酸は、配列番号144、146、148、150、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、及び194からなる群から選択される核酸配列のうちのいずれか1つと少なくとも約80%の同一性を有する(例えば、少なくとも約85%、90%、95%、98%、またはそれ以上のうちのいずれか1つの同一性、または100%の同一性を有する) 核酸配列を含む。

【0299】

簡単に要約すると、腫瘍特異的TCRをコードする核酸による腫瘍特異的TCRの発現は、核酸が、例えばプロモーター(例えば、リンパ球特異的プロモーター)及び3'非翻訳領域(UTR)を含む5'及び3'調節性エレメントに作動可能に連結するように、核酸を適切な発現ベクターに挿入することによって、達成することができる。ベクターは、真核宿主細胞における複製及び統合に好適であり得る。典型的なクローニングベクター及び発現ベクターは、転写及び翻訳ターミネーター、開始配列、及び所望の核酸配列の発現の調節に有用なプロモーターを含有する。

【0300】

本発明の核酸は、標準的な遺伝子送達プロトコールを使用した、核酸免疫化及び遺伝子療法に使用することもできる。遺伝子送達の方法は当技術分野で公知である。例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,399,346号、同第5,580,859号、同第5,589,466号を参照されたい。いくつかの実施形態では、本発明は、遺伝子療法ベクターを提供する。

【0301】

核酸は、いくつかのタイプのベクターにクローニングすることができる。例えば、核酸を、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス、及びコスミドを含むがこれらに限定されない、ベクターにクローニングすることができる。特に関心対象である

ベクターとしては、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター、及びシーケンシングベクターが挙げられる。

【0302】

さらに、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で細胞に提供されてもよい。ウイルスベクター技術は当技術分野で周知であり、例えば、Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)、ならびに他のウイルス学及び分子生物学のマニュアルに記載されている。ベクターとして有用なウイルスとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。概して、好適なベクターは、少なくとも1つの生物において機能的な複製起点、プロモーター配列、簡便な制限エンドヌクレアーゼ部位、及び1つ以上の選択マーカーを含有する（例えば、WO01/96584、WO01/29058、及び米国特許第6,326,193号を参照されたい）。

【0303】

いくつかのウイルスベースの系が、哺乳動物細胞への遺伝子移入のために開発されている。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達系のための簡便なプラットフォームを提供する。当技術分野で公知の技術を使用して、選択した遺伝子をベクターに挿入し、レトロウイルス粒子中にパッケージングすることができる。次いで、組換えウイルスを単離し、インビボまたはエクスピボのいずれかで対象の細胞に送達することができる。いくつかのレトロウイルス系が当技術分野で公知である。いくつかの実施形態では、アデノウイルスベクターが使用される。いくつかのアデノウイルスベクターが当技術分野で公知である。いくつかの実施形態では、レンチウイルスベクターが使用される。レンチウイルスなどのレトロウイルスに由来するベクターは、導入遺伝子の長期の安定した組込み及び娘細胞におけるその繁殖を可能にするため、長期の遺伝子移入を達成するのに好適なツールである。レンチウイルスベクターは、非増殖性細胞に形質導入することができるという点で、マウス白血病ウイルスなどのオンコレトロウイルスに由来するベクターに勝る付加的な利点を有する。レンチウイルスベクターは、低い免疫原性という付加的な利点も有する。

【0304】

さらなるプロモーターエレメント、例えばエンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。典型的にこれらは、開始部位から30～110bp上流の領域に位置するが、いくつかのプロモーターは、開始部位の下流にも機能的エレメントを含有することが近年示されている。プロモーターエレメント間の間隔は、エレメントが反転されたり互いに対して移動したりするときにプロモーター機能が保存されるように、柔軟であることが多い。チミジンキナーゼ（tk）プロモーターでは、活性が低下し始める前に、プロモーターエレメント間の間隔を50bpまで増加させることができる。

【0305】

好適なプロモーターの一例は、最初期サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター配列である。このプロモーター配列は、作動可能に連結したあらゆるポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を駆動することができる強力な構成的プロモーター配列である。好適なプロモーターの別の例は、伸長成長因子1 α （EF-1 α ）である。しかしながら、サルウイルス40（SV40）初期プロモーター、マウス乳癌ウイルス（MMTV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）末端反復配列（LTR）プロモーター、MoMuLVプロモーター、トリ白血病ウイルスプロモーター、エプスタイン・バーウイルス最初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーターを含むがこれらに限定されない他の構成的プロモーター配列、ならびにアクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、ヘモグロビンプロモーター、及びクレアチンキナーゼプロモーターなどだがこれらに限定されないヒト遺伝子プロモーターを使用してもよい。

【0306】

さらに、本発明は、構成的プロモーターの使用に限定されるものではない。誘導性プロ

モーターも本発明の一部として想定される。誘導性プロモーターの使用は、作動可能に連結したポリヌクレオチド配列の発現が所望される場合に、かかる発現を始めたり、または発現が所望されない場合に発現を止めたりすることができる、分子スイッチを提供する。真核細胞において使用するための例示的な誘導性プロモーター系としては、ホルモン調節エレメント（例えば、Mader, S. and White, J. H. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5603-5607を参照されたい）、合成リガンド調節エレメント（例えば、Spencer, D. M. et al (1993) *Science* 262:1019-1024を参照されたい）、及び電離放射線調節エレメント（例えば、Manome, Y. et al. (1993) *Biochemistry* 32:10607-10613、Datta, R. et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:1014-10153を参照されたい）が挙げられるが、これらに限定されない。インビトロまたはインビボの哺乳動物系で使用するためのさらなる例示的な誘導性プロモーター系は、Gingrich et al. (1998) *Annual Rev. Neurosci* 21:377-405において概説されている。

【0307】

ポリペプチドまたはその一部分の発現を評価するために、細胞に導入される発現ベクターは、ウイルスベクターによるトランスフェクションまたは感染が求められる細胞集団からの発現細胞の識別及び選択を容易にするように、選択マーカー遺伝子もしくはレポーター遺伝子のいずれか、またはその両方を含有してもよい。他の態様では、選択マーカーを別のDNA片に搭載し、コトランスフェクション手順において使用してもよい。選択マーカー及びレポーター遺伝子の両方には、宿主細胞における発現が可能になるように、適切な制御配列がフランキングしていてもよい。有用な選択マーカーとしては、例えば、neoなどの抗生物質耐性遺伝子が挙げられる。

【0308】

レポーター遺伝子は、トランスフェクトされた可能性のある細胞を識別し、制御配列の機能性を評価するために使用される。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエント生物もしくは組織に存在せず、またはそれによって発現されず、発現がいくつかの容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性により明らかになるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、DNAがレシピエント細胞に導入された後の好適な時点でアッセイされる。好適なレポーター遺伝子としては、ルシフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼ、または緑色蛍光タンパク質遺伝子をコードする遺伝子を挙げることができる（例えば、Uietel et al., 2000 *FEBS Letters* 479:79-82）。好適な発現系は周知であり、公知の技術を使用して調製されるか、または商業的に入手され得る。一般に、最小限の5'フランキング領域が最高レベルのレポーター遺伝子の発現を示す構築物が、プロモーターとして識別される。そのようなプロモーター領域をレポーター遺伝子に連結し、プロモーター駆動性転写をモジュレートする能力について薬剤を評価するために使用することができる。

【0309】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのいずれかに係る腫瘍特異的TCRをコードする核酸が提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRをコードする核酸は、腫瘍特異的TCRのTCR α 鎖をコードする第1の核酸配列と、腫瘍特異的TCRのTCR β 鎖をコードする第2の核酸配列とを含む。いくつかの実施形態では、第1の核酸配列は、第1のベクター上に位置し、第2の核酸配列は、第2のベクター上に位置する。いくつかの実施形態では、第1及び第2の核酸配列は、同じベクター上に位置する。いくつかの実施形態では、第1の核酸配列は、P2A、T2A、E2A、またはF2Aペプチドなどの自己切断性リンカーをコードする第3の核酸配列を介して第2の核酸配列に融合している。ベクターは、例えば、哺乳動物発現ベクター及びウイルスベクター（例えば、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイ

10

20

30

40

50

ルス、及びレンチウイルスに由来するもの）からなる群から選択され得る。いくつかの実施形態では、第1の核酸配列は、第1のプロモーターの制御下にあり、第2の核酸配列は、第2のプロモーターの制御下にある。いくつかの実施形態では、第1及び第2のプロモーターは、同じ配列を有する。いくつかの実施形態では、第1及び第2のプロモーターは、異なる配列を有する。いくつかの実施形態では、第1及び第2の核酸配列は、マルチシストロン性（例えばバイシストロン性）ベクターにおいて単一のプロモーターの制御下で単一の転写物として発現される。例えば、Kim, J H, et al., PLoS One 6 (4) : e18556, 2011を参照されたい。いくつかの実施形態では、第1、第2、及び／または単一のプロモーターは、誘導性である。

【0310】

工学操作された免疫細胞

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのいずれかに係る腫瘍特異的TCRを発現する工学操作された免疫細胞（例えばT細胞）が提供される。いくつかの実施形態では、工学操作された免疫細胞は、腫瘍特異的TCRをコードする核酸を含み、腫瘍特異的TCRは、核酸から発現され、工学操作された免疫細胞の表面に局在化している。いくつかの実施形態では、工学操作された免疫細胞は、T細胞である。いくつかの実施形態では、工学操作された免疫細胞は、PBMC、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、及び調節性T細胞からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、工学操作された免疫細胞は、内在性TCRを発現しない。

【0311】

いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRまたはその構成要素もしくは誘導体（例えばTCR α 鎖、TCR β 鎖、腫瘍特異的TCR、または腫瘍特異的TCR構築物）のいずれかに係る腫瘍特異的TCRを含む工学操作されたT細胞が提供される。いくつかの実施形態では、工学操作されたT細胞の内在性TCRは、ノックアウトされている。いくつかの実施形態では、工学操作されたT細胞は、TCR-T細胞である。いくつかの実施形態では、工学操作されたT細胞と、薬学的に許容される賦形剤とを含む、医薬組成物が提供される。いくつかの実施形態では、工学操作されたT細胞は、TCR-T処置を受けている個体に由来する。いくつかの実施形態では、工学操作されたT細胞は、同種間個体に由来する。

【0312】

いくつかの実施形態では、工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）は、本明細書に記載の方法のうちのいずれか1つを使用して得られる、複数（例えば、約2個、3個、4個、5個、10個、またはそれ以上のうちのいずれか1つ）の腫瘍特異的TCRを発現する。いくつかの実施形態では、工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）は、複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する腫瘍特異的TCRを発現する。

【0313】

工学操作された免疫細胞またはその医薬組成物は、腫瘍特異的TCRが得られる個体を処置するため（例えば、維持療法として）、あるいは、同種間個体、または同じMHC遺伝子型、HLAハプロタイプを有する個体、及び／またはがん細胞上の同じエピトープを発現する個体など、別の個体を処置するために有用であり得る。

【0314】

腫瘍特異的TCRを使用した処置方法

本出願は、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、個体のがんを処置する細胞ベースの免疫治療法を提供する。いくつかの実施形態では、本方法は、個体が受けた過去のMASTの維持療法として使用される。

【0315】

本明細書に記載の方法は、液性がん及び固形がんを含む様々ながんを処置するのに好適である。いくつかの実施形態では、がんは、肝細胞癌、子宮頸癌、肺癌、結腸直腸癌、リンパ腫、腎癌、乳癌、膵癌、胃癌、食道癌、卵巣癌、前立腺癌、上咽頭癌、黒色腫、子宮

10

20

30

40

50

内膜癌、及び脳癌からなる群から選択される。これらの方法は、早期、進行期、及び転移がんを含む全ての病期のがんに適用される。例えば、本明細書に記載のC E A 特異的T C R、R G S 5 特異的T C R、及びH P V 1 8 - E 7 T C Rのうちのいずれか1つは、子宮頸癌を処置するのに有用であり得る。

【0316】

いくつかの実施形態では、本方法は、がんに関連する1つ以上の症状の重症度を、処置前の同じ個体における対応する症状と比較して、または処置方法を受けていない他の個体における対応する症状と比較して、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%のうちのいずれかだけ低減させる。いくつかの実施形態では、本方法は、がんの進行を遅延させる。

【0317】

いくつかの実施形態では、本方法は、肝細胞癌(HCC)を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、HCCは、早期HCC、非転移性HCC、原発性HCC、進行性HCC、局所進行性HCC、転移性HCC、寛解期のHCC、または再発性HCCである。いくつかの実施形態では、HCCは、局所切除可能(すなわち、肝臓の一部分に制限され、完全な外科的除去が可能な腫瘍)、局所切除不能(すなわち、重要な血管構造が関与しているため、または肝臓が損なわれているため、局所性腫瘍が切除不能であり得る)、または切除不能(すなわち、腫瘍がすべての肝葉を含む、及び/または他の器官(例えば、肺、リンパ節、骨)を含むように広がっている)である。いくつかの実施形態では、HCCは、TNM分類によれば、I期腫瘍(血管侵入がない単一の腫瘍)、II期腫瘍(血管侵入がある単一の腫瘍、または5cmを超えるものがない複数の腫瘍)、III期腫瘍(いずれかが5cmを超える複数の腫瘍、または門脈もしくは肝静脈の主要分枝を含む腫瘍)、IV期腫瘍(胆嚢以外の隣接器官の直接浸潤、または臓側腹膜の穿孔がある腫瘍)、N1腫瘍(限局性リンパ節転移)、またはM1腫瘍(遠隔転移)である。いくつかの実施形態では、HCCは、AJCC(American Joint Commission on Cancer)の病期決定基準に従う、T1期、T2期、T3期、またはT4期HCCである。いくつかの実施形態では、HCCは、肝細胞癌、HCCの線維層板型バリエーション、及び混合型肝細胞性胆管癌のうちのいずれか1つである。いくつかの実施形態では、HCCは、B型肝炎ウイルス(HBV)感染によって引き起こされる。

【0318】

いくつかの実施形態では、本方法は、肺癌を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、肺癌は、非小細胞肺癌(NSCLC)である。NSCLCの例としては、大細胞癌(例えば、大細胞神経内分泌癌、混合型大細胞神経内分泌癌、類基底細胞癌、リンパ上皮腫様癌、明細胞癌、及びラブドイド表現型を伴う大細胞癌)、腺癌(例えば、腺房、乳頭(例えば、細気管支肺胞上皮癌、非粘液性、粘液性、粘液性及び非粘液性の混合型、ならびに不確定細胞型)、ムチンを伴う固形腺癌、混合型サブタイプを有する腺癌、高分化型胎児性腺癌、粘液性(コロイド)腺癌、粘液性嚢胞腺癌、印環腺癌、及び明細胞腺癌)、神経内分泌肺腫瘍、及び扁平上皮癌(例えば、乳頭、明細胞、小細胞、及び類基底)が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、NSCLCは、TNM分類によれば、T期腫瘍(原発性腫瘍)、N期腫瘍(限局性リンパ節)、またはM期腫瘍(遠隔転移)であってもよい。

【0319】

いくつかの実施形態では、肺癌は、カルチノイド(定型または非定型)、腺扁平上皮癌、円柱腫、または唾液腺の癌(例えば、腺様嚢胞癌または粘表皮癌)である。いくつかの実施形態では、肺癌は、多形性要素、肉腫様要素、もしくは肉腫要素を伴う癌(例えば、紡錘及び/または巨細胞を含む癌、紡錘細胞癌、巨細胞癌、癌肉腫、または肺芽腫)である。いくつかの実施形態では、肺癌は、小細胞肺癌(SCLC; 燕麦細胞癌とも呼ばれる)である。小細胞肺癌は、限局型、進展型、または再発性の小細胞肺癌であり得る。いくつかの実施形態では、個体は、肺癌に関連することが疑われる、もしくは示されている遺伝子、遺伝子突然変異、もしくは多型(例えば、SASH1、LATS1、IGF2R、

10

20

30

40

50

PARK2、KRAS、PTEN、Kras2、Krag、Pas1、ERCC1、XP D、IL8RA、EGFR、 α_1 -AD、EPHX、MMP1、MMP2、MMP3、MMP12、IL1 β 、RAS、及び／またはAKT)を有するか、または肺癌に関連する遺伝子の1つ以上の余分なコピーを有するヒトであり得る。

【0320】

いくつかの実施形態では、本方法は、子宮頸癌を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、子宮頸癌は、早期子宮頸癌、非転移性子宮頸癌、局所進行性子宮頸癌、転移性子宮頸癌、寛解期の子宮頸癌、切除不能子宮頸癌、アジュバント設定における子宮頸癌、またはネオアジュバント設定における子宮頸癌である。いくつかの実施形態では、子宮頸癌は、ヒトパピローマウイルス (HPV) 感染によって引き起こされる。いくつかの実施形態では、子宮頸癌は、TNM分類によれば、T期腫瘍 (原発性腫瘍)、N期腫瘍 (限局性リンパ節)、またはM期腫瘍 (遠隔転移) であってもよい。いくつかの実施形態では、子宮頸癌は、0期、I期 (Tis、N0、M0)、IA期 (T1a、N0、M0)、IB期 (T1b、N0、M0)、IIA期 (T2a、N0、M0)、IIB期 (T2b、N0、M0)、IIIA期 (T3a、N0、M0)、IIIB期 (T3b、N0、M0)、またはT1-3、N1、M0)、IVA期 (T4、N0、M0)、またはIVB期 (T1-T3、N0-N1、M1) のうちのいずれかの子宮頸癌である。いくつかの実施形態では、子宮頸癌は、子宮頸部扁平上皮癌、子宮頸部腺癌、または腺扁平上皮癌である。

【0321】

いくつかの実施形態では、本方法は、乳癌を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、乳癌は、早期乳癌、非転移性乳癌、局所進行性乳癌、転移性乳癌、ホルモン受容体陽性転移性乳癌、寛解期の乳癌、アジュバント設定における乳癌、乳管内上皮内癌 (DCIS)、浸潤性乳管癌 (IDC)、またはネオアジュバント設定における乳癌である。いくつかの実施形態では、乳癌は、ホルモン受容体陽性転移性乳癌である。いくつかの実施形態では、乳癌 (HER2陽性であってもHER2陰性であってもよい) は、進行性乳癌である。いくつかの実施形態では、乳癌は、乳管内上皮内癌である。いくつかの実施形態では、個体は、乳癌に関連する遺伝子、遺伝子突然変異、もしくは多型 (例えば、BRCA1、BRCA2、ATM、CHEK2、RAD51、AR、DIRAS3、ERBB2、TP53、AKT、PTEN、及び／またはPI3K) を有するか、または乳癌に関連する遺伝子の1つ以上の余分なコピー (例えば、HER2遺伝子の1つ以上の余分なコピー) を有するヒトであり得る。

【0322】

いくつかの実施形態では、本方法は、膵癌を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、膵癌としては、漿液性嚢胞腺腫、膵管内乳頭粘液性腫瘍、粘液性嚢胞腫瘍、固形偽乳頭腫瘍、膵臓腺癌、膵管癌、または膵芽腫が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、膵癌は、早期膵癌、非転移性膵癌、原発性膵癌、切除膵癌、進行性膵癌、局所進行性膵癌、転移性膵癌、切除不能膵癌、寛解期の膵癌、再発性膵癌、アジュバント設定における膵癌、またはネオアジュバント設定における膵癌のうちのいずれかである。

【0323】

いくつかの実施形態では、本方法は、卵巣癌を処置するためのものである。いくつかの実施形態では、卵巣癌は、卵巣上皮癌である。例示的な卵巣上皮癌組織学的分類は、漿液性嚢腫 (例えば、漿液性良性嚢胞腺腫、上皮細胞の増殖活性及び核異常を伴うが浸潤性の破壊的な成長は伴わない漿液性嚢胞腺腫、または漿液性嚢胞腺癌)、粘液性嚢腫 (例えば、粘液性良性嚢胞腺腫、上皮細胞の増殖活性及び核異常を伴うが浸潤性の破壊的な成長は伴わない粘液性嚢胞腺腫、または粘液性嚢胞腺癌)、類内膜腫瘍 (例えば、類内膜良性嚢胞、上皮細胞の増殖活性及び核異常を伴うが浸潤性の破壊的な成長は伴わない類内膜腫瘍、または類内膜腺癌)、明細胞 (中腎性) 腫瘍 (例えば、良性明細胞腫瘍、上皮細胞の増殖活性及び核異常を伴うが浸潤性の破壊的な成長は伴わない明細胞腫瘍、または明細胞嚢胞腺癌)、上記の群のうちの1つに当てはめられない未分類の腫瘍、または他の

悪性腫瘍を含む。様々な実施形態において、卵巢上皮癌は、Ⅰ期（例えば、ⅠＡ期、ⅠＢ期、またはⅠＣ期）、Ⅱ期（例えば、ⅡＡ期、ⅡＢ期、またはⅡＣ期）、Ⅲ期（例えば、ⅢＡ期、ⅢＢ期、またはⅢＣ期）、またはⅣ期である。いくつかの実施形態では、個体は、卵巢癌に関連する遺伝子、遺伝子突然変異、もしくは多型（例えば、BRCA1またはBRCA2）を有するか、または卵巢癌に関連する遺伝子の1つ以上の余分なコピー（例えば、HER2遺伝子の1つ以上の余分なコピー）を有するヒトであり得る。いくつかの実施形態では、卵巢癌は、卵巢胚細胞腫瘍である。例示的な組織学的サブタイプは、未分化胚細胞腫または他の胚細胞腫瘍（例えば、内胚葉洞腫瘍、例えば肝様もしくは腸腫瘍、胚性癌腫、多胚腫（*polyembryomas*）、絨毛癌、奇形腫、または混合型腫瘍）を含む。例示的な奇形腫は、未熟奇形腫、成熟奇形腫、固形奇形腫、及び嚢胞性奇形腫（例えば、成熟嚢胞性奇形腫などの類皮嚢胞、及び悪性形質転換を伴う類皮嚢胞）である。いくつかの奇形腫は、単一胚葉性及び高度分化型、例えば卵巢甲状腺腫、カルチノイド、卵巢甲状腺腫、及びカルチノイドなど（例えば、悪性神経外胚葉性及び上衣腫）である。いくつかの実施形態では、卵巢胚細胞腫瘍は、Ⅰ期（例えば、ⅠＡ期、ⅠＢ期、またはⅠＣ期）、Ⅱ期（例えば、ⅡＡ期、ⅡＢ期、またはⅡＣ期）、Ⅲ期（例えば、ⅢＡ期、ⅢＢ期、またはⅢＣ期）、またはⅣ期である。

【0324】

いくつかのウイルスは、ヒトのがんに関連している。例えば、B型肝炎ウイルス（HBV）は、肝臓の慢性感染を引き起こし、個体の肝臓癌または肝細胞癌（HCC）の危険性を増加させ得る。ヒトパピローマウイルス（HPV）は、皮膚または口、喉、もしくは膣などの粘膜に感染し増殖するとパピローマまたは疣贅を引き起こす、150種を超える関連ウイルスの群である。いくつかの型のHPV（16型、18型、31型、33型、35型、39型、45型、51型、52型、56型、58型、59型、及び6型を含む）が、子宮頸癌を引き起こすことで知られている。HPVはまた、他の生殖器癌を誘導するまたは引き起こすことに関与し、いくつかの口腔癌及び咽喉癌に関連付けられている。エプスタイン・バーウイルス（EBV）は、慢性的に感染し、Bリンパ球において潜伏状態を保つヘルペスウイルスの一種である。EBV感染は、個体が上咽頭癌及びバーキットリンパ腫などのある特定のタイプの急速に増殖するリンパ腫を発症するリスクを増加させる。EBVは、ホジキンリンパ腫及び胃癌のいくつかの症例にも関連付けられている。がんを引き起こすこと、またはがんを発症するリスクを増加させるに加えて、HBV、HPV、及びEBVによる感染などのウイルス感染は、組織または器官への損傷を提供する場合があります、がんを患う個体の疾患負荷を増加させ、がん進行を助長し得る。当技術分野では、ヒトの身体が、HBV、HPV、及びEBVなどの（それらの様々なサブタイプを含む）いくつかのがん関連ウイルスに対して、細胞傷害性T細胞応答を含む効果的かつ特異的な免疫応答をしかけるように誘導され得ることは公知である。したがって、いくつかの実施形態では、個体のウイルス関連がんを処置する方法であって、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えばT細胞）を有効量で個体に投与することを含み、標的腫瘍抗原がウイルスに由来する、方法が提供される。いくつかの実施形態では、がんは、HBV関連肝細胞癌、HPV関連子宮頸癌、またはEBV関連上咽頭癌である。

【0325】

本明細書に記載の処置方法は、次の目的のうちのいずれか1つ以上のために使用することができる：がんの1つ以上の症状の緩和、がんの進行の遅延、がん腫瘍サイズの縮小、がん間質の崩壊（例えば破壊）、がん腫瘍成長の阻害、生存期間全体の延長、無病生存期間の延長、がん疾患進行までの時間の延長、がん腫瘍転移の防止もしくは遅延、既存のがん腫瘍転移の低減（例えば根絶）、既存のがん腫瘍転移の発生率もしくは負荷の低減、がんの再発の防止、及び／またはがんの臨床的利益の向上。

【0326】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを

発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、個体におけるがん細胞増殖（例えば腫瘍成長）を阻害する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の有効量の抗原負荷DCを個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、30%、40%、60%、70%、80%、90%、または100%のうちのいずれかを含む）の細胞増殖が阻害される。

【0327】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、個体における腫瘍転移を阻害する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の有効量の抗原負荷DCを個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、30%、40%、60%、70%、80%、90%、または100%のうちのいずれかを含む）の転移が阻害される。いくつかの実施形態では、リンパ節への転移を阻害する方法が提供される。

【0328】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、個体における腫瘍サイズを低減させる方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の有効量の抗原負荷DCを個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、腫瘍サイズは、少なくとも約10%低減する（例えば、少なくとも約20%、30%、40%、60%、70%、80%、90%、または100%のうちのいずれかを含む）。

【0329】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、個体のがんの無進行生存期間を延長する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の有効量の抗原負荷DCを個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12週間のうちのいずれかだけ、疾患進行までの時間を延長する。

【0330】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、がんを有する個体の生存期間を延長する方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の有効量の抗原負荷DCを個体に投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、本方法は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12週間のうちのいずれか1つだけ、疾患進行までの時間を延長する。いくつかの実施形態では、本方法は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、18、または24か月のうちのいずれか1つだけ、個体の生存期間を延長する。

【0331】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）を有効量で個体に投与することを含む、がんを有する個体における有害作用（AE）及び重度有害作用（SAE）を低減させる方法が提供される。いくつかの実施形態では、本方法は、有効量の抗原負荷DCを個体に投与することをさらに含む。

【0332】

いくつかの実施形態では、本方法は、客観的応答（例えば部分応答または完全応答）を予測する、及び／または提供する。いくつかの実施形態では、本方法は、生活の質の向上を予測する、及び／または提供する。

【0333】

いくつかのがん免疫療法は、他のがん療法に通常関連する一般的な有害事象に加えて、免疫関連有害事象（irAE）に関連する。irAEは通常、正常な非腫瘍組織で発現する標的抗原に対するオンターゲットT細胞毒性、いわゆるオンターゲット・オフ腫瘍効果、または自己寛容の破壊もしくはエピトープ交差反応などのオフターゲット効果のいずれかに機構的に関連する。irAEは、皮膚科学的、胃腸管系、内分泌、肝臓、眼、神経性、及び他の組織または器官の重度の症状及び病態をもたらす得る。当技術分野で公知のがん免疫治療法について報告されている典型的なirAEとしては、胎児の免疫介在性皮膚炎、肺炎、大腸炎、リンパ球性下垂体炎、膵炎、リンパ節腫脹、内分泌障害、CNS毒性などが挙げられる。いくつかの実施形態では、処置方法は、irAEなどの有害事象の低い発生率と関連する。いくつかの実施形態では、約50%未満、40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満、4%未満、3%未満、2%未満、または1%未満のうちのいずれか1つの個体が、グレード2～5のirAEなどのirAEを経験する。

10

【0334】

概して、本明細書に記載の腫瘍特異的TCRのうちのいずれか1つを発現する工学操作された免疫細胞（例えばT細胞）の投与の投与量、スケジュール、及び経路は、個体のサイズ及び状態、ならびに標準的な薬務に従って決定され得る。例示的な投与経路としては、静脈内、動脈内、腹腔内、肺内、小胞内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、くも膜下腔内、または経皮が挙げられる。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRを発現する工学操作された免疫細胞（例えばT細胞）は、静脈内投与される。

【0335】

20

個体に投与される細胞の用量は、例えば、投与される細胞の特定のタイプ、投与経路、ならびに処置されるがんの特定のタイプ及び病期に従って異なり得る。この量は、重度の毒性または有害事象を伴わずに、がんに対する治療応答などの望ましい応答を提供するのに十分である必要がある。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRを発現する工学操作された免疫細胞（例えばT細胞）の投与量は、治療有効量である。いくつかの実施形態では、細胞の量は、処置前の同じ個体における対応する腫瘍サイズ、がん細胞の数、もしくは腫瘍増殖速度と比較して、または処置を受けていない他の個体における対応する活性と比較して、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%のうちのいずれかの、腫瘍のサイズの減少、がん細胞の数の減少、または腫瘍の増殖速度の低下を提供するのに十分な量である。この効果の大きさを測定するためには、精製された酵素を用いるインビトロアッセイ、細胞ベースのアッセイ、動物モデル、またはヒト試験などの標準的方法を使用することができる。

30

【0336】

いくつかの実施形態では、安定化剤またはヒトアルブミンなどの賦形剤が、腫瘍特異的TCR（複数可）を発現する工学操作された免疫細胞と共に使用される。

【0337】

処置方法は、単一の処置、または繰り返しの処置を含み得る。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRを発現する工学操作された免疫細胞は、少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超のうちのいずれか1つの回数で投与される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRを発現する工学操作された免疫細胞は、少なくとも3回投与される。いくつかの実施形態では、処置方法は、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、1か月に1回、2か月に1回、3か月に1回、4か月に1回、5か月に1回、6か月に1回、7か月に1回、8か月に1回、9か月に1回、または1年に1回繰り返される。

40

【0338】

本明細書において提供される処置方法は、アジュバント設定またはネオアジュバント設定下で、第1の療法、第2の療法、第3の療法、または当技術分野で公知の他のタイプのがん療法、例えば化学療法、手術、放射線、遺伝子療法、免疫療法、骨髄移植、幹細胞移植、標的化療法、凍結療法、超音波療法、光線力学療法、高周波アブレーションなどとの併用療法として使用され得る。いくつかの実施形態では、処置方法は、第1の療法として

50

使用される。いくつかの実施形態では、個体のために承認された抗がん療法は他に存在しない。いくつかの実施形態では、処置方法は、第2の療法として使用され、個体は、切除、高周波アブレーション、化学療法、放射線療法、または他のタイプのがん療法を過去に受けたことがある。いくつかの実施形態では、個体は、進行しているか、または標準的な抗がん療法を許容することができていないものである。いくつかの実施形態では、個体は、本明細書に記載の処置方法を受ける前に、それと同時に発生的に、またはそれを受けた後に、他のタイプのがん療法を受ける。例えば、本明細書に記載の処置方法は、分単位、日単位、週単位から月単位に及ぶ間隔で、他のがん療法（例えば化学療法、放射線、手術、またはそれらの組み合わせ）に先行するか、またはそれに続き得る。いくつかの実施形態では、第1の療法と第2の療法との間隔は、腫瘍特異的 TCR を発現する工学操作された免疫細胞（例えば、T細胞）、及び他のがん療法（例えば化学療法、放射線、手術、またはそれらの組み合わせ）が、有利に組み合わせられた効果を個体に及ぼすことができるようなものである。さらに、増殖性疾患を発症するリスクが比較的高い個人は、疾患を発症を阻害及び／または遅延させる処置を受けてもよい。

【0339】

V. 組成物、キット、及び製造品

本出願はさらに、本明細書に記載の標的腫瘍抗原ペプチドを認識する複数の TCR を得る方法及び処置方法のいずれかの実施形態において使用するための、キット、組成物（例えば医薬組成物）、及び製造品を提供する。

【0340】

いくつかの実施形態では、少なくとも10個の腫瘍抗原ペプチドを含む、がん免疫療法のために有用なキットが提供される。当業者は、第1のコア群における腫瘍抗原ペプチドの任意の組み合わせ、及び必要に応じて、第2の群におけるがんタイプ特異的抗原ペプチドの任意の組み合わせ、及び／またはネオ抗原ペプチドを使用して、DC集団に負荷することができ、これをさらに、個体のがんを処置するために、MASTCのための活性化T細胞、腫瘍抗原特異的T細胞、または単離腫瘍特異的TCRを調製するために使用してもよい。

【0341】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の腫瘍特異的TCR、またはその腫瘍特異的TCRをコードする核酸（複数可）もしくはベクターのうちのいずれか1つを含む、キットが提供される。いくつかの実施形態では、MASTCから臨床的利益を得ている複数の個体由来のT細胞もしくはPBMCを用いて本明細書に記載の方法のうちのいずれか1つを使用して得られた腫瘍特異的TCRのライブラリ、その腫瘍特異的TCRをコードする核酸、またはその腫瘍特異的TCRをコードするベクターを含む、キットが提供される。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、hTERT、p53、サイビン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、RGS5、MMP7、VEGFR1、VEGFR2、MUC1、HER2、MAGE-A1、MAGE-A3、CDCA1、WT1、KRAS、PARP4、MLL3、MTHFR、HPV16-E6、HPV16-E7、HPV18-E6、HPV18-E7、HPV58-E6、HPV58-E7、HBcAg、HBVポリメラーゼ、GPC3、SSX、及びAFPからなる群から選択される1つ以上の腫瘍抗原を特異的に認識する。いくつかの実施形態では、腫瘍特異的TCRは、ある特定の人種群に多く見られるHLAハプロタイプ制限を有する。

【0342】

本キットは、本明細書に記載の処置方法または細胞調製方法のいずれかの実施形態の実行を容易にするために、例えば容器、試薬、培養培地、サイトカイン、免疫チェックポイント阻害剤、TLRアゴニスト、緩衝液、抗体などのさらなる構成要素を含んでもよい。例えば、いくつかの実施形態では、本キットは、個体の末梢血を収集するために使用され得る、末梢血収集及び保管装置をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、ヒト末梢血の試料からPBMCを単離するために使用され得る、末梢血の密度勾配遠心分離のための容器及び試薬をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、末梢血

からDCを得るための、培養培地、サイトカイン、または緩衝液をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、複数の腫瘍抗原ペプチドをDC中に負荷するための、培養培地、TLRアゴニスト（例えばMPLA）、IFN γ 、PGE2、試薬及び緩衝液をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、T細胞、濃縮された活性化T細胞、または腫瘍抗原特異的T細胞を抗原負荷APC（例えばDC）と共培養するための、サイトカイン（例えば、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21）、免疫チェックポイント阻害剤（例えば、抗PD1抗体）、抗CD3抗体（例えば、OKT-3）、緩衝液、または培養培地をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、LCL細胞などの細胞株APCをさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、サイトカイン（例えば、IFN γ ）を発現する活性化T細胞を濃縮するための、抗体、磁気ビーズ、及びカラムをさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、PBMCまたはT細胞を凍結させ保管するための、容器、緩衝液、及び試薬をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、がん細胞における突然変異荷重（例えば、1つ以上のMHC遺伝子におけるもの）を判定するための試薬をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、処置方法との併用療法のための免疫チェックポイント阻害剤をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、腫瘍試料中のネオ抗原を（例えばシーケンシングによって）識別するための試薬をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、1つ以上の腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答を評価するためのELISPOTアッセイをさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、TCR遺伝子の増幅及び／またはTCR遺伝子の次世代シーケンシングのためのプライマー及び試薬をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、腫瘍特異的TCR（複数可）を発現する工学操作された免疫細胞を調製するための、免疫細胞、培養培地、及び試薬をさらに備える。

【0343】

本出願のキットは、好適なパッケージングに入っている。好適なパッケージングとしては、バイアル、ボトル、瓶、可撓性パッケージング（例えば、Mylarまたはプラスチック袋）などが挙げられるが、これらに限定されない。キットは、必要に応じて、緩衝液及び解説情報などの追加の構成要素を提供してもよい。したがって、本出願は、バイアル（密封バイアルなど）、ボトル、瓶、可撓性パッケージングなどを含む製造品も提供する。

【0344】

説明書は、腫瘍抗原ペプチド（及び必要に応じて上述の追加の構成要素）の使用に関する説明書を含んでもよい。いくつかの実施形態では、本キットは、本明細書に記載される処置方法の一実施形態または細胞調製方法の一実施形態のプロトコルに記載したマニュアルなどの説明マニュアルをさらに備える。説明書は、意図される処置のためにキットを使用して調製されたDC、活性化T細胞、または腫瘍特異的TCR（複数可）を発現する工学操作された免疫細胞の投与量、投薬スケジュール、及び投与経路に関する情報を含んでもよい。いくつかの実施形態では、本キットは、処置方法のために個体を選択するための説明書をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、例えば、免疫チェックポイント阻害剤の投与量、投薬スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む、免疫チェックポイント阻害剤を処置方法と組み合わせて投与するための説明書をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、腫瘍試料中のネオ抗原を（例えばシーケンシングによって）識別するための説明書をさらに備える。いくつかの実施形態では、本キットは、処置を受けた後の個体をモニタリングするための説明書をさらに備える。

【0345】

容器は、単位容量、バルクパッケージ（例えば、複数用量パッケージ）、または副次的単位用量であり得る。例えば、長期間、例えば3週間、6週間、9週間、3か月間、4か月間、5か月間、6か月間、8か月間、9か月間、1年間、またはそれ以上のうちのいずれかの期間にわたって、個体の効果的な処置を行うのに十分な腫瘍抗原特異的T細胞、抗原負荷APC（例えばDC）、及び／または腫瘍特異的TCR（複数可）を発現する工学操作された免疫細胞を調製するため、本明細書において開示される腫瘍抗原ペプチドを十分に含むキットが提供され得る。

【0346】

キットはまた、腫瘍抗原ペプチドまたは腫瘍特異的 TCR（または腫瘍特異的 TCR をコードする核酸）の複数の単位用量及び使用説明書を含み、薬局、例えば、病院の薬局及び調剤薬局における保管及び使用に十分な量でパッケージングされていてもよい。

【0347】

さらに、本明細書に記載の細胞（例えば DC、活性化 T 細胞、または腫瘍特異的 TCR を発現する工学操作された免疫細胞）の単離集団のうちのいずれか 1 つのキット、組成物（例えば医薬組成物）、及び製造品が提供される。

【0348】

本明細書に記載の細胞（例えば DC、活性化 T 細胞、または腫瘍特異的 TCR を発現する工学操作された免疫細胞）の単離集団は、記載される細胞の単離集団を、本明細書に記載の処置方法、投与方法、及び投与量レジメンにおいて使用するための、薬学的に許容される担体、賦形剤、安定化剤、及び／または当技術分野で公知の他の薬剤と組み合わせることにより、医薬組成物または製剤中に使用され得る。いくつかの実施形態では、ヒトアルブミンが薬学的に許容される担体として使用される。

【0349】

好適な薬学的担体としては、単独、または例えばレシチン、ステアリン酸ポリオキシエチレンなどの好適な分配剤（dispensing agent）と合わせた、滅菌水；食塩水、デキストロース；デキストロースを含む水または食塩水；ヒマシ油 1 モル当たり約 30～約 35 モルのエチレンオキシドを合わせたヒマシ油及びエチレンオキシドの縮合生成物；液体酸；低級アルカノール；例えばトウモロコシ油、ピーナッツ油、ゴマ油などの油類と、例えば脂肪酸のモノグリセリドまたはジグリセリド、またはホスファチド、例えばレシチンなどの乳化剤；グリコール；ポリアルキレングリコール；懸濁剤、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム；アルギン酸ナトリウム；ポリ（ビニルピロリドン）の存在下の水性媒体などが挙げられる。担体は、例えば保存安定剤、湿潤剤、乳化剤などのアジュバントを浸透促進剤と共に含有してもよい。最終形態は無菌であってもよく、中空針などの注射装置を容易に通過することができてもよい。適切な粘度は、溶媒または賦形剤の適切な選択によって達成及び維持され得る。

【0350】

本明細書に記載の医薬組成物は、組成物の特性を向上させるために他の薬剤、賦形剤、または安定剤を含んでもよい。好適な賦形剤及び希釈剤の例としては、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アカシアガム、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガント、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、食塩水溶液、シロップ、メチルセルロース、ヒドロキシ安息香酸メチル及びヒドロキシ安息香酸プロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ならびにミネラルオイルが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、例えば約 5.0～約 8.0、約 6.5～約 7.5、または約 6.5～約 7.0 のうちのいずれか 1 つの pH 範囲を含め、約 4.5～約 9.0 の範囲内の pH を有するように製剤化される。いくつかの実施形態では、グリセロールなどの好適な浸透圧調整剤の添加によって、医薬組成物を血液と等張にすることもできる。

【0351】

いくつかの実施形態では、単離細胞組成物（例えば DC、活性化 T 細胞、または腫瘍特異的 TCR を発現する工学操作された免疫細胞）は、ヒトへの投与に好適である。いくつかの実施形態では、組成物（例えば医薬組成物）は、非経口投与によるヒトへの投与に好適である。非経口投与に好適な製剤としては、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤、及び製剤を意図するレシipientの血液と適合させる溶質を含有し得る水性及び非水性の等張無菌注射液、ならびに懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、及び保存剤を含み得る水性及び非水性の無菌懸濁液が挙げられる。製剤は、アンプル及びバイアルなどの単位用量または複数用量の密封容器で提供することができ、本明細書に記載の処置方法、投与方法、及び投与量レジメンにおいて、使用直前に注射のための滅菌液賦形剤（すなわち水）の添加のみを必

10

20

30

40

50

要とする条件で保管することができる。いくつかの実施形態では、組成物（例えば医薬組成物）は、単回使用密封バイアルなどの単回使用バイアルに含まれている。いくつかの実施形態では、組成物（例えば医薬組成物）は、複数回使用バイアルに含まれている。いくつかの実施形態では、組成物（例えば医薬組成物）は、バルクで容器に含まれている。

【0352】

また、本明細書に記載の単離細胞組成物（例えば医薬組成物）及び製剤を含む単位剤形も提供される。これらの単位剤形は、単一または複数の単位投与量で好適なパッケージング中に保管されていてよく、さらに滅菌及び密封されていてよい。いくつかの実施形態では、組成物（例えば医薬組成物）は、がんを処置するのに有用である1つ以上の他の化合物（またはそれらの薬学的に許容される塩）も含む。

10

【0353】

本出願はさらに、本明細書に記載の処置方法、投与方法、及び投与量レジメンにおいて使用するための、本明細書に記載の細胞の単離集団、組成物（例えば医薬組成物）、製剤、単位投与量、及び製造品のうちのいずれかを備えるキットを提供する。

【0354】

VI. 例示的な実施形態

本明細書において提供される実施形態には、次のものがある。

1. 標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する複数のT細胞受容体（TCR）を得る方法であって、

a) 前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第1の樹状細胞（DC）集団を、個体由来のT細胞集団と共培養して、第1の共培養物を得ることを含む、第1の共培養ステップと、
b) 前記第1の共培養物を濃縮プロセスに供して、濃縮された活性化T細胞を得ることを含む、濃縮ステップと、

20

c) 前記濃縮された活性化T細胞を、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された第2のDC集団と共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第2の共培養ステップであり、前記腫瘍抗原特異的T細胞の少なくとも約10%が、前記標的腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答する、前記第2の共培養ステップと、

d) 前記腫瘍抗原特異的T細胞を次世代シーケンシングに供して、TCR α 及びTCR β をコードする複数の遺伝子対を識別することにより、TCR α 及びTCR β をコードする対合した遺伝子に基づいて前記複数のT細胞受容体を提供することを含む、シーケンシングステップと

30

を含み、

前記個体が、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された樹状細胞集団とT細胞集団を共培養することによって調製された活性化T細胞を有効量で前記個体に投与することを含む多重抗原特異的細胞療法（MAST）から臨床的利益を得ている、前記方法。

2. 前記第1の共培養ステップが、前記濃縮ステップの前に約1～約3日間にわたって行われる、実施形態1に記載の方法。

3. 前記T細胞集団の、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第1のDC集団に対する比が、約30：1以下である、実施形態1または2に記載の方法。

40

4. 前記第1の共培養ステップにおける前記T細胞集団が、PBM C中に存在する、実施形態1～3のいずれか1つに記載の方法。

5. 前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第1のDC集団と、前記T細胞集団とが、1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）及び免疫チェックポイント阻害剤を含む第1の共培養培地中で共培養される、実施形態1～4のいずれか1つに記載の方法。

6. 前記第1の共培養培地が、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む、実施形態5に記載の方法。

7. 前記第1の共培養培地が、IL-2及び抗PD-1抗体を含む、実施形態5に記載の方法。

50

8. 前記濃縮ステップが、前記第1の共培養物を、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞（APC）と接触させて、刺激された共培養物を得ることと、サイトカインを特異的に認識するリガンドを使用して、前記刺激された共培養物から、濃縮された活性化T細胞集団を単離することを含む、実施形態1～7のいずれか1つに記載の方法。

9. 前記サイトカインがIFN γ である、実施形態8に記載の方法。

10. 前記濃縮された活性化T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第2のDC集団との比が、約1：1～約20：1である、実施形態1～9のいずれか1つに記載の方法。

11. 前記濃縮された活性化T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第2のDC集団とが、約12～25日間にわたって共培養される、実施形態1～10のいずれか1つに記載の方法。

12. 前記第2の共培養ステップが、免疫チェックポイント阻害剤と、必要に応じて1種以上のサイトカイン（例えばIL-2または複数のサイトカイン）とを含む第2の初期共培養培地中で、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記第2のDC集団を、前記濃縮された活性化T細胞集団と共培養して、第2の共培養物を準備することと、前記第2の共培養物に抗CD3抗体を添加して、腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、実施形態1～11のいずれか1つに記載の方法。

13. 前記抗CD3抗体が、前記第2の共培養物に、前記第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、2日で）添加される、実施形態12に記載の方法。

14. 前記抗CD3抗体がOKT3である、実施形態12または13に記載の方法。

15. 前記第2の初期共培養培地が、IL-2、IL-7、IL-15、及びIL-21、ならびに抗PD-1抗体を含む、実施形態12～14のいずれか1つに記載の方法。

16. 前記第2の共培養ステップが、前記第2の共培養物に1種以上のサイトカインを添加することを含む、実施形態12～14のいずれか1つに記載の方法。

17. 前記1種以上のサイトカインが、IL-2を含む、実施形態16に記載の方法。

18. 前記1種以上のサイトカインが、前記第2の共培養物に、前記第2の共培養ステップの開始から約3日以内に（例えば、約2日で）添加される、実施形態16または17に記載の方法。

19. 前記第2の初期共培養培地が、IL-2及び抗PD-1抗体を含む、実施形態12～18のいずれか1つに記載の方法。

20. 前記腫瘍抗原特異的T細胞集団を、標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された抗原提示細胞（APC）集団と共培養して、第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団を得ることを含む、第3の共培養ステップをさらに含み、前記第2の腫瘍抗原特異的T細胞集団が、前記シーケンシングステップにおいて次世代シーケンシングに供される、実施形態1～19のいずれか1つに記載の方法。

21. 前記APCが、PBMC、DC、または細胞株APCである、実施形態20に記載の方法。

22. 前記腫瘍抗原特異的T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記APC集団との比が、約1：1～約20：1である、実施形態20または21に記載の方法。

23. 前記腫瘍抗原特異的T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記APC集団とが、約5～9日間にわたって共培養される、実施形態20～22のいずれか1つに記載の方法。

24. 前記腫瘍抗原特異的T細胞集団と、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記APC集団とが、1種以上のサイトカイン（例えば、複数のサイトカイン）及び抗CD3抗体を含む第3の共培養培地中で共培養される、実施形態20～23のいずれか1つに記載の方法。

25. 前記第3の共培養培地が、IL-2及びOKT3を含む、実施形態24に記載の方法。

26. 前記第3の共培養培地が、IL-2、IL-7、IL-15、及びOKT3を含

10

20

30

40

50

む、実施形態 24 に記載の方法。

27. 前記第3の共培養ステップが繰り返される、実施形態 20～26 のいずれか1つに記載の方法。

28. 前記標的腫瘍抗原ペプチドが、hTERT、p53、サバイビン、NY-ESO-1、CEA、CCND1、RGS5、MMP7、VEGFR1、VEGFR2、MUC1、HER2、MAGE-A1、MAGE-A3、CDCA1、WT1、KRAS、PARP4、MLL3、MTHFR、HPV16-E6、HPV16-E7、HPV18-E6、HPV18-E7、HPV58-E6、HPV58-E7、HBcAg、HBVポリメラーゼ、GPC3、SSX、及びAFPからなる群から選択される腫瘍抗原に由来する、実施形態 1～27 のいずれか1つに記載の方法。

10

29. 前記標的腫瘍抗原ペプチドから標的腫瘍エピトープを識別することであり、前記標的腫瘍エピトープが、前記濃縮された活性化T細胞集団による特異的応答を誘発する、前記識別することと、APC集団を前記標的腫瘍エピトープと接触させて、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記APC集団を得ることとをさらに含む、実施形態 1～28 に記載の方法。

30. 前記次世代シーケンシングが、単一細胞シーケンシングである、実施形態 1～29 のいずれか1つに記載の方法。

31. 前記個体が、前記MASTCを受けた後に部分応答(PR)、完全応答(CR)、または安定疾患(SD)を有する、及び／または前記個体が、腫瘍抗原特異的免疫応答(複数可)を有する、実施形態 1～30 のいずれか1つに記載の方法。

20

32. 前記MASTCが、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、活性化T細胞集団を得ることを含む、実施形態 1～31 のいずれか1つに記載の方法。

33. 前記MASTCが、

(i) 1種以上のサイトカイン(例えば、複数のサイトカイン)及び免疫チェックポイント阻害剤を含む初期共培養培地中で、前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団と、T細胞集団とを共培養して、共培養物を準備することと、

(ii) 前記共培養の開始から約3～7日後の前記共培養物に抗CD3抗体を添加することにより、前記活性化T細胞集団を得ることとを含む、実施形態 1～32 のいずれか1つに記載の方法。

30

34. 前記MASTCが、

(i) 前記標的腫瘍抗原ペプチドを含む複数の腫瘍抗原ペプチドとDC集団を接触させて、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷されたDC集団を得ることと、

(ii) MPLAを含むDC成熟培地中で、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記DC集団を培養することとを含む、実施形態 1～33 のいずれか1つに記載の方法。

35. 前記DC成熟培地が、INF γ 、MPLA、及びPGE2を含む、実施形態 34 に記載の方法。

36. 前記MASTCが、前記複数の腫瘍抗原ペプチドが負荷された前記DCを有効量で前記個体に投与することを含む、実施形態 1～35 のいずれか1つに記載の方法。

40

37. 前記個体が、前記MASTCを過去に少なくとも3回受けたことがある、実施形態 1～36 のいずれか1つに記載の方法。

38. 前記腫瘍抗原特異的T細胞が、前記次世代シーケンシングの前に、前記標的腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCで刺激される、実施形態 1～37 のいずれか1つに記載の方法。

39. 複数の標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識するTCRが、並行して得られる、実施形態 1～38 のいずれか1つに記載の方法。

40. TCR α 及びTCR β をコードする遺伝子対のそれぞれを宿主免疫細胞内で発現させて、TCRを発現する工学操作された免疫細胞を提供することと、前記工学操作され

50

た免疫細胞の、前記標的腫瘍抗原ペプチドに対する応答を評価することとをさらに含む、実施形態 1～39 のいずれか 1 つに記載の方法。

41. 実施形態 40 に記載の方法を含む、標的腫瘍抗原ペプチドを特異的に認識する TCR を得る方法であって、前記 TCR が、前記 TCR を発現する前記工学操作された免疫細胞の、前記標的腫瘍抗原ペプチドに対する前記応答に基づいて選択される、前記方法。

42. 前記 TCR の HLA 制限を判定することをさらに含む、実施形態 41 に記載の方法。

43. 前記 TCR が、アジア人に多く見られる HLA ハプロタイプ制限を有する、実施形態 42 に記載の方法。

44. 前記 TCR の親和性成熟をさらに含む、実施形態 41～43 のいずれか 1 つに記載の方法。

45. 前記 TCR における前記 TCR α 及び TCR β 鎖の対合を強化することをさらに含む、実施形態 41～44 のいずれか 1 つに記載の方法。

46. 前記 TCR の前記発現を強化することをさらに含む、実施形態 41～45 のいずれか 1 つに記載の方法。

47. 前記標的腫瘍抗原ペプチドが、CEA、RSG-5、または HPV 18-E7 に由来する、実施形態 41～46 のいずれか 1 つに記載の方法。

48. 実施形態 1～47 のいずれか 1 つに記載の方法を使用して得られた腫瘍特異的 TCR。

49. 腫瘍特異的 TCR であって、

(a) 配列番号 4、10、及び 16 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90% の配列同一性を有する相補性決定領域 (CDR) 3 を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 7、13、及び 19 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(b) 配列番号 22、28、34、40、46、及び 52 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90% の配列同一性を有する相補性決定領域 (CDR) 3 を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 7、13、19、25、31、37、43、49、及び 55 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、または

(c) 配列番号 58、64、70、76、87、及び 93 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90% の配列同一性を有する相補性決定領域 (CDR) 3 を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 61、67、73、79、90、及び 96 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 90% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖

を含む、前記腫瘍特異的 TCR。

50. 実施形態 49 に記載の腫瘍特異的 TCR であって、

(a) 配列番号 4 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 7 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(b) 配列番号 10 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 13 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(c) 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 19 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(d) 配列番号 22 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 25 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(e) 配列番号 28 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 31 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(f) 配列番号 34 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 37 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

(g) 配列番号 40 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 43 のアミノ酸配列を含む CDR 3 を含む TCR β 鎖か、

10

20

30

40

50

(h) 配列番号 46 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 49 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、

(i) 配列番号 52 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 55 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、

(j) 配列番号 58 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 61 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、

(k) 配列番号 64 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 67 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、

(l) 配列番号 70 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 73 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、

(m) 配列番号 76 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 79 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、

(n) 配列番号 87 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 90 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖か、または

(o) 配列番号 93 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖、及び配列番号 96 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖を含む、前記腫瘍特異的 TCR。

51. 腫瘍特異的 TCR であって、

(a) 配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの CDR を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの CDR を含む TCR β 鎖か、

(b) 配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの CDR を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの CDR を含む TCR β 鎖か、または

(c) 配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの CDR を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80、91、及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つの CDR を含む TCR β 鎖を含む、前記腫瘍特異的 TCR。

52. 実施形態 49～51 のいずれか 1 つに記載の腫瘍特異的 TCR であって、

(a) 配列番号 5、11、及び 17 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 8、14、及び 20 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR β 鎖か、

(b) 配列番号 23、29、35、41、47、及び 53 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 26、32、38、44、50、及び 56 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR β 鎖か、または

(c) 配列番号 59、65、71、77、88、及び 94 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR α 鎖、ならびに配列番号 62、68、74、80、91、及び 97 のアミノ酸配列のうちのいずれか 1 つと少なくとも約 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む TCR β 鎖を含む、前記腫瘍特異的 TCR。

53. MHC/RGS5 エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的 TCR であって、配列番号 254 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 255 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 28 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR α 鎖と、配列番号 256 のアミノ酸配列を含む CDR1、配列番号 257 のアミノ酸配列を含む CDR2、及び配列番号 31 のアミノ酸配列を含む CDR3 を含む TCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的 TCR。

54. 前記 RGS5 エピトープが、配列番号 82 のアミノ酸配列を含む、請求項 53 に記載の腫瘍特異的 TCR。

10

20

30

40

50

55. 前記MHCが、HLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01である、請求項53または54に記載の腫瘍特異的TCR。

56. MHC/RGS5エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号258のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号259のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号34のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号260のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号261のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号37のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

57. 前記RGS5エピトープが、配列番号82のアミノ酸配列を含む、請求項56に記載の腫瘍特異的TCR。

10

58. 前記MHCが、HLA-DRA/DRB1*09:01またはHLA-DRA/DRB4*01:03である、請求項56または57に記載の腫瘍特異的TCR。

59. MHC/RGS5エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号262のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号263のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号40のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号264のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号265のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号43のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

60. 前記RGS5エピトープが、配列番号82のアミノ酸配列を含む、請求項59に記載の腫瘍特異的TCR。

20

61. 前記MHCが、HLA-DRA/DRB1*09:01またはHLA-DRA/DRB4*01:03である、請求項59または60に記載の腫瘍特異的TCR。

62. MHC/RGS5エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号266のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号267のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号46のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号268のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号269のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号49のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

63. 前記RGS5エピトープが、配列番号83のアミノ酸配列を含む、請求項62に記載の腫瘍特異的TCR。

30

64. 前記MHCが、HLA-DRA/DRB1*09:01またはHLA-DRA/DRB4*01:03である、請求項62または63に記載の腫瘍特異的TCR。

65. MHC/RGS5エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号270のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号271のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号52のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号272のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号273のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号55のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、腫瘍特異的TCR。

66. 前記RGS5エピトープが、配列番号82のアミノ酸配列を含む、請求項65に記載の腫瘍特異的TCR。

40

67. 前記MHCが、HLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01である、請求項65または66に記載の腫瘍特異的TCR。

68. MHC/HPV18-E7エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号274のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号275のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号58のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号276のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号277のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号61のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

69. 前記HPV18-E7エピトープが、配列番号85のアミノ酸配列を含む、請求項68に記載の腫瘍特異的TCR。

50

70. 前記MHCが、HLA-DRA/DRB1*09:01である、請求項68または69に記載の腫瘍特異的TCR。

71. MHC/HPV18-E7エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号278のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号279のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号70のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号280のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号281のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号73のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

72. 前記HPV18-E7エピトープが、配列番号85のアミノ酸配列を含む、請求項71に記載の腫瘍特異的TCR。

73. 前記MHCが、HLA-DRA/DRB1*09:01またはHLA-DRA/DRB4*01:03である、請求項71または72に記載の腫瘍特異的TCR。

74. MHC/HPV18-E7エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号282のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号283のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号76のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号284のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号285のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号79のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

75. 前記HPV18-E7エピトープが、配列番号85のアミノ酸配列を含む、請求項74に記載の腫瘍特異的TCR。

76. 前記MHCが、HLA-IIである、請求項74または75に記載の腫瘍特異的TCR。

77. MHC/HPV18-E7エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号286のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号287のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号87のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号288のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号289のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号90のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

78. 前記HPV18-E7エピトープが、配列番号84のアミノ酸配列を含む、請求項77に記載の腫瘍特異的TCR。

79. 前記MHCが、HLA-DRA/DRB1*09:01である、請求項77または78に記載の腫瘍特異的TCR。

80. MHC/HPV18-E7エピトープ複合体に特異的に結合する腫瘍特異的TCRであって、配列番号290のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号291のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号93のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR α 鎖と、配列番号292のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号293のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号96のアミノ酸配列を含むCDR3を含むTCR β 鎖とを含む、前記腫瘍特異的TCR。

81. 前記HPV18-E7エピトープが、配列番号84のアミノ酸配列を含む、請求項80に記載の腫瘍特異的TCR。

82. 前記MHCが、HLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01、HLA-DPA1*01:03/DPB1*02:01、またはHLA-DPA1*01:03/DPB1*05:01である、請求項80または81に記載の腫瘍特異的TCR。

83. 前記TCRが、ヒトTCRである、実施形態49~51及び53~82のいずれか1つに記載の腫瘍特異的TCR。

84. 前記TCRが、マウス化TCR、例えば、TCR α 及び β 鎖のマウス定常領域を含むTCRなどの、キメラTCRである、実施形態49~51及び53~82のいずれか1つに記載の腫瘍特異的TCR。

85. 前記TCRが、マウスTCR定常領域を含む、実施形態49~51及び53~82のいずれか1つに記載の腫瘍特異的TCR。

10

20

30

40

50

86. 実施形態48～85のいずれか1つに記載の腫瘍特異的TCRの前記TCR α 鎖及び／または前記TCR β 鎖をコードする単離核酸。

87. 実施形態86に記載の単離核酸を含むベクター。

88. 実施形態48～85のいずれか1つに記載の腫瘍特異的TCR、実施形態86に記載の単離核酸、または実施形態87に記載のベクターを含む、工学操作された免疫細胞。

89. 前記免疫細胞がT細胞である、実施形態88に記載の工学操作された免疫細胞。

90. 実施形態88または89に記載の工学操作された免疫細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

91. 個体のがんを処置する方法であって、実施形態90に記載の医薬組成物を有効量で前記個体に投与することを含む、前記方法。

92. 実施形態1～47のいずれか1つに記載の方法を使用して得られた腫瘍特異的TCRのライブラリ。

93. 配列番号82または83のアミノ酸配列を含む、RGS-5のエピトープ。

94. 配列番号84、85、または86のアミノ酸配列を含む、HPV18-E7のエピトープ。

95. 実施形態93または94に記載のエピトープ及びMHC分子を含む、MHC／エピトープ複合体。

【実施例】

【0355】

以下の実施例は、単に本出願の例示となるよう意図されており、したがって、決して本発明を限定するものと解釈されるべきではない。以下の実施例及び詳細な説明は、例示として提供するものであり、制限するものではない。

【0356】

実施例1：MASCTで処置された患者の腫瘍抗原ペプチドに対する特異的免疫応答

女性患者WJは、41歳で血管侵入がある子宮頸癌と診断され、ヒトパピローマウイルス（HPV）DNAの検査で陽性反応を示した。同患者は、治癒的切除及び5か月の化学放射線療法を受けた。同患者は、第2のHPV DNA検査を受け、血清HPV DNAでは陰性であることが確認された。同患者の臨床歴及び応答は図2に要約されている。

【0357】

治癒的切除及び化学放射線療法の約2年後、同患者は、磁気共鳴画像法（MRI）及び放射型コンピュータ断層撮影法（ECT）により、右仙腸関節骨に転移腫瘍を有すると診断された。同患者はその後、1か月に1回の供与で、10回の局所照射療法処置と、それに続く3回のMASCT処置を受けた。MASCT処置では、12種の腫瘍関連抗原ペプチドのコア群、ならびにHPVのウイルスタンパク質に由来する子宮頸癌特異的な6種の抗原ペプチドの群を含む、18種の抗原ペプチドのプールをパルシングした樹状細胞を調製するために、患者自身の末梢血由来のPBMCを使用した。簡潔に述べると、患者のPBMC由来の単球を未熟DCに分化させ、次いで、腫瘍関連抗原及びHPV抗原を含む複数の合成ペプチド抗原をパルシングした。未熟DCをTLRリガンドによってさらに刺激して、成熟DC（mDC）に分化させた。mDCの半分を患者に皮下注射した。非付着性PBMCを、抗CD3抗体（例えばOKT3）、及びIL2と共に培養することにより、維持T細胞を調製した。mDCの残りの半分を、注入前にさらに7～9日間にわたり、維持T細胞と共培養した。同患者はHLA-A2血清型（HLA-A0201⁺）を有することが確認された。

【0358】

4回のMASCT処置後、同患者のECT結果は、右仙腸関節骨転移が低減したこと、及び新たな転移が検出されなかったことを示し、MASCTの肯定的な処置成績を示した。同患者は、約1か月または2か月の間隔を置いて供与された、さらに4回のMASCT処置を受けた。合計8回のMASCT処置後、同患者のPBMC試料を取得し、ELISPOTアッセイで試験して、同患者が抗原ペプチドプール及びプール内の抗原ペプチドのそれぞれに対して治療上有効なMHC制限T細胞応答を有したかどうかを判定した。EL

10

20

30

40

50

ISPO T結果は、子宮頸癌抗原ペプチドプール、ならびに腫瘍特異的抗原ペプチド（例えばhTERT、p53、CEA、及びRGS5）のコア群、及び子宮頸癌特異的な腫瘍抗原ペプチド（例えばHPV-3及びHPV-5）の群の両方における個々の抗原ペプチドに対して、強化されたT細胞応答を示した。合計8回のMASCT後の同患者のECTは、右仙腸関節骨転移がさらに低減したこと、及び新たな転移部位がなかったことを示し、MASCT処置レジメンが患者の腫瘍負荷の低減ならびに腫瘍進行及びさらなる転移の防止に成功したことを示した。

【0359】

患者の特異的免疫応答に基づき、特異的応答を誘導した応答性ペプチドを残し、特異的応答を誘導しなかった非応答性ペプチドを除去することにより、患者特異的な抗原ペプチドプールを提供するように、抗原ペプチドプールをカスタマイズした。患者特異的な抗原ペプチドプールを使用して調製した4サイクルのMASCT（本明細書では「高精度MASCT」という）で、同患者をさらに処置した。4回の高精度MASCTの後、同患者のECTは、右仙腸関節骨転移の進展も、新たな転移部位も示さなかった。

【0360】

患者の特異的免疫応答に基づいて、抗原ペプチドプールをさらに調整し、このさらに調整されたペプチド抗原プールを使用して、同患者を4サイクルの第2の高精度MASCTで処置した。第2の4サイクルの高精度MASCTの後、同患者は、安定疾患（SD）を有するものと評価された。患者特異的な抗原ペプチドプールは、ELISPO Tアッセイによって示されるように、強化された特異的応答を誘発した（図3A）。特に、HPV18-E7ペプチド、CEAペプチド、及びRGS5ペプチドは、最も強力な特異的応答を一貫してもたらした（図3B）。

【0361】

腫瘍特異的TCR工学操作T細胞の養子移入は、固形腫瘍に対する高い効力を示した。同患者の臨床的利益は、腫瘍特異的T細胞がインビボで増殖し、腫瘍進行を制御するのに重要な役割を果たしたことを示した。これらのT細胞は、腫瘍特異的TCRを単離するための良好な源であり得る。

【0362】

実施例2：対合した腫瘍抗原ペプチド特異的TCR α 及びTCR β 遺伝子の腫瘍抗原特異的T細胞からの識別

実施例1における患者由来のPBMC試料を得て、この実施例での腫瘍抗原特異的T細胞を調製するための出発物質として使用した。腫瘍抗原特異的T細胞試料の次世代シーケンシングにより、12対の腫瘍抗原特異的TCR α 及びTCR β 遺伝子（CEA特異的TCRで3対、RGS5特異的TCRで3対、及びHPV18-E7特異的TCRで6対）を識別した。

【0363】

方法2

細胞の調製

図4は、例示的な「方法2」のプロトコルの概要を提供する。簡潔に述べると、1日目に、Lymphoprep（Nycomed Pharma, Oslo, Norway）での密度勾配遠心分離によって、患者由来の末梢血単核細胞（PBMC）を得た。1000U/mLのGM-CSF及び500U/mLのIL-4を含むAIM-V培地中で付着性単球を継続的に培養して、未熟樹状細胞（DC）に分化させた。結果として得られた未熟DCに、CEA、RGS5、及びHPV18-E7（1 μ g/mL/ペプチド）に由来する3種の腫瘍抗原ペプチドを含むペプチドプールをパルシングし、次いでDC成熟培地中で培養して、成熟DCに分化させた。8日目、T細胞を含有するPBMCを、抗原負荷成熟DCと、T細胞と成熟抗原負荷DCとの比を約15：1として共培養し、共培養培地は、サイトカインカクテル及び抗PD-1抗体を含有した。11日目、ペプチドプールをパルシングしたPBMCで、共培養物を刺激した。12日目、IFN γ secretion assay-cell enrichment and detection k

it (Miltenyi Biotec) を使用して、 $\text{IFN}\gamma^+$ T細胞集団を単離した。12日目、 $\text{IFN}\gamma^+$ T細胞を、抗原負荷成熟DCと、T細胞と抗原負荷成熟DCとの比を約2:1として、サイトカインカクテル、抗PD-1抗体、及び抗CD3抗体を含有する培地中で、12日目から25~35日目まで共培養して、腫瘍抗原特異的T細胞を得た。

【0364】

増殖アッセイ

1日目(PBMC)、8日目(共培養の開始)、11日目($\text{IFN}\gamma$ 濃縮前及び $\text{IFN}\gamma$ 濃縮後)、ならびに17、21、25、27、31、及び32日目($\text{IFN}\gamma^+$ T細胞と抗原負荷成熟DCの共培養物)の細胞試料を使用して、細胞増殖を評価した。各試料中の細胞の数を計数した。

【0365】

図5に示すように、抗原負荷成熟DCとT細胞との初期共培養物は、少数の $\text{IFN}\gamma^+$ T細胞をもたらした(11日目)。濃縮された $\text{IFN}\gamma^+$ T細胞と抗原負荷成熟DCとの共培養物において、細胞数は31日目まで急速に増加し続け、31日時点で、共培養物中の総細胞数は、 10^8 超で定常に達した。

【0366】

腫瘍抗原特異的T細胞による $\text{IFN}\gamma$ 生成

様々な共培養物試料を、それぞれAIM-V培地中に播種し(T細胞: 1×10^6 細胞/ウェル、PBMC: 2.5×10^5 細胞/ウェル)、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ のペプチドプールで4時間にわたって刺激した。細胞内サイトカイン染色及びFACS分析により、各試料中の腫瘍抗原特異的T細胞による $\text{IFN}\gamma$ 生成レベルを検出した。 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ の無関係なペプチドと共にインキュベートした細胞試料を陰性対照として使用した。

【0367】

細胞表面に対する抗体(例えば、抗ヒトCD3-FITC)または細胞内サイトカイン(例えば、抗ヒト $\text{IFN}\gamma$ -APC)染色を、BD Biosciencesから得た。cytofix/cytoperm(BD Biosciences)を用いた細胞の固定及び透過処理により、細胞内サイトカイン染色を行った。FACS Canto II(BD Biosciences)フローサイトメーターを使用してフローサイトメトリーを行い、Flowjoプログラムを用いてデータを分析した。

【0368】

図6A~6Bは、腫瘍抗原ペプチドプールによる刺激に応じた $\text{IFN}\gamma^+$ CD3⁺細胞を評価することにより判定された、細胞試料中の腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。濃縮ステップ後、細胞試料中の腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージは83.5%に達した。21日目から32日目にかけて、共培養物は、腫瘍抗原ペプチドプールによる刺激に応じて $\text{IFN}\gamma$ を生成した腫瘍抗原特異的T細胞を約10%含有した。無関係なペプチドによる刺激に応じて $\text{IFN}\gamma$ を生成した非特異的T細胞は、25~32日目の共培養物の1%未満を構成した。

【0369】

方法2の最適化(「方法2m」)

細胞の調製

図7は、例示的な「方法2m」のプロトコルの概要を提供する。簡潔に述べると、1日目に、Lymphoprep(Nycomed Pharma, Oslo, Norway)での密度勾配遠心分離によって、患者由来の末梢血単核細胞(PBMC)を得た。 $1000 \text{ U}/\text{mL}$ のGM-CSF及び $500 \text{ U}/\text{mL}$ のIL-4を含むAIM-V培地中で付着性単球を継続的に培養して、未熟樹状細胞(DC)に分化させた。結果として得られた未熟DCに、CEA、RGS5、及びHPV18-E7($1 \mu\text{g}/\text{mL}$ /ペプチド)に由来する3種の腫瘍抗原ペプチドを含むペプチドプールをパルシングし、次いでDC成熟培地中で培養して、成熟DCに分化させた。8日目、T細胞を含有するPBMCを、抗原負荷成熟DCと、T細胞と成熟抗原負荷DCとの比を約20:1として共培養し、共培養

10

20

30

40

50

培地は、サイトカインカクテル及び抗PD-1抗体を含有した。11日目、ペプチドプールをパルシングしたPBMCで、共培養物を刺激した。12日目、IFN γ secretion assay-cell enrichment and detection kit (Miltenyi Biotec) を使用して、IFN γ ⁺T細胞集団を単離した。一方、DC成熟培地中で抗原負荷成熟DCを培養した。12日目、IFN γ ⁺T細胞を、抗原負荷成熟DCと、T細胞と抗原負荷成熟DCとの比を約1:1として、サイトカインカクテル、抗PD-1抗体を含有する培地中で共培養した。13日目または14日目に、抗CD3抗体(OKT3)を共培養物に添加し、これを30日目まで継続的に培養して、腫瘍抗原特異的T細胞を得た。

【0370】

増殖アッセイ

上述のように、1日目(PBMC)、9日目(共培養の開始)、12日目(IFN γ 濃縮前)、12日目(IFN γ 濃縮後)、ならびに22日目及び30日目(IFN γ ⁺T細胞と抗原負荷成熟DCの共培養物)の細胞試料を使用して、細胞増殖を評価した。

【0371】

図8に示すように、抗原負荷成熟DCとT細胞との初期共培養物は、少数のIFN γ ⁺T細胞をもたらした(12日目)。濃縮されたIFN γ ⁺T細胞と抗原負荷成熟DCとの共培養物において、細胞数は31日目まで急速に増加し続けた。14日目に抗CD3抗体を添加する方法は、より高いレベルの細胞増殖をもたらした。

【0372】

腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成

様々な共培養物試料中の腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成レベルを、上述のように判定した。図9A~9Bは、腫瘍抗原ペプチドプールによる刺激に応じたIFN γ ⁺CD3⁺細胞を評価することにより判定された、細胞試料中の腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。濃縮ステップ後、細胞試料中の腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージは90.4%に達した。22日目から30日目にかけて、共培養物は、腫瘍抗原ペプチドプールによる刺激に応じてIFN γ を生成した腫瘍抗原特異的T細胞を約6~10%含有した。14日目に抗CD3抗体を添加する方法は、より高いパーセンテージのIFN γ ⁺CD3⁺細胞をもたらした。IFN γ ⁺TNF α ⁺細胞を評価することにより、一貫性のある結果が得られた(図9C)。

【0373】

腫瘍抗原ペプチドプールのサブセットのスクリーン

3種の初期腫瘍抗原ペプチド、CEA、RGS5、及びHPV18-E7のそれぞれで5つの断片を設計し、合成した。初期腫瘍抗原ペプチド及びそれらの断片のサブプールを、図13に従って調製した。30日目に得られた腫瘍抗原特異的T細胞を、腫瘍抗原ペプチドのサブプールのそれぞれで刺激し、IFN γ ⁺CD3⁺細胞のパーセンテージを判定した。図14A~14Bに示すように、プール2及びプール8は、最も高いパーセンテージのIFN γ ⁺CD3⁺細胞を一貫してもたらした。これは、RGS5-OLP5断片が腫瘍抗原特異的T細胞による最も強力な特異的応答を誘発したことを示唆する。

【0374】

腫瘍抗原特異的T細胞の次世代シーケンシング

方法2を使用して調製した腫瘍抗原特異的T細胞の4つの試料を得て、次世代シーケンシングと合わせたTCR α 及びTCR β 増幅に供した。4つの試料は、(1)CEAペプチドによって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞、(2)RGS5ペプチドによって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞、(3)HPV18-E7ペプチドによって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞、及び(4)ビーズで濃縮したCEAペプチドによって刺激されたIFN γ ⁺CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞である。対照として、同じ患者由来のPBMC試料も同じ次世代シーケンシング分析に供した。

【0375】

図10は、CEA、RGS5、及びHPV18-E7の各ペプチドによって刺激された

10

20

30

40

50

腫瘍抗原特異的T細胞のフローサイトメトリー結果を示す。各試料は、腫瘍抗原特異的T細胞（CD8⁺細胞及びCD4⁺細胞の組み合わせ）を90%超含有した。

【0376】

図11は、様々な試料におけるTCRα及びTCRβ配列のユニークなクローン型の頻度を示す。特異的腫瘍抗原ペプチドによって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞では、無関係なペプチドで刺激された腫瘍抗原特異的T細胞よりも、ユニークなTCRクローン型の頻度が増加していた。腫瘍抗原ペプチドによって刺激された、IFNγでソートされた腫瘍抗原特異的T細胞は、TCRのユニークなクローン型のさらに高い頻度を示した。

【0377】

3つの異なる時点（T1=2016年6月、T2=2016年9月、及びT3=2017年5月）で患者から得られた凍結PBMC試料を、同じ腫瘍抗原特異的T細胞調製及びシーケンシング分析に供した。図12は、バルク次世代シーケンシング結果から識別されたユニークなTCRα及びTCRβクローン型の頻度を示す。ある特定のTCRα及びTCRβ遺伝子は、2つまたは3つすべての凍結PBMC試料に由来する、対応する腫瘍抗原特異的T細胞試料に見出された。

【0378】

TCRα及びTCRβ遺伝子の同族対合情報を得るために、IPAIR（商標）技術（iRepertoire, Inc.）を使用した次世代シーケンシングと合わせた単一細胞TCRα及びTCRβ増幅を、腫瘍抗原特異的T細胞試料に適用した。3対のCEA特異的TCRα及びTCRβ遺伝子（クローン1～3）、3対のRGS5特異的TCRα及びTCRβ遺伝子（クローン1～3）、及び6対のHPV18-E7特異的TCRα及びTCRβ遺伝子（クローン1～6）を識別し、合成した。例示的なTCRクローンの配列情報については、表1を参照されたい。TCRα及びTCRβ遺伝子の各対を発現する工学操作されたT細胞を調製し、ELISPOTアッセイを使用して工学操作されたT細胞による腫瘍抗原特異的免疫応答を評価することにより、TCRを検証した。

【0379】

サイトカインカクテルと、IL-2及び抗原ペプチドプールと、単一の抗原ペプチドとの比較

細胞の調製

図20は、サイトカインカクテルの添加とIL-2単独の添加、及び抗原ペプチドのプールが負荷されたDCでの刺激と単一の抗原ペプチドが負荷されたDCでの刺激を比較するプロトコルの概要を提供する。簡潔に述べると、1日目に、Lymphoprep（Nycomed Pharma, Oslo, Norway）での密度勾配遠心分離によって、患者由来の末梢血単核細胞（PBMC）を得た。1000U/mLのGM-CSF及び500U/mLのIL-4を含むAIM-V培地中で付着性単球を継続的に培養して、未熟樹状細胞（DC）に分化させた。結果として得られた未熟DCに、CEA、RGS5、及びHPV18-E7（1μg/mL／ペプチド）に由来する3種の腫瘍抗原ペプチドを含むペプチドプールをパルシングし、次いでDC成熟培地中で培養して、成熟DCに分化させた。9日目、T細胞を含有するPBMCを、抗原負荷成熟DCと、T細胞と成熟抗原負荷DCとの比を約15：1～約20：1として共培養し、共培養培地は、サイトカインカクテルまたはIL-2（約200IU/mL以下）及び抗PD-1抗体を含有した。11日目、ペプチドプールまたは個々のペプチドそれぞれをパルシングしたPBMCで、共培養物を刺激した。12日目、IFNγ secretion assay-cell enrichment and detection kit（Miltenyi Biotec）を使用して、IFNγ⁺T細胞集団を単離した。一方、DC成熟培地中で抗原負荷成熟DCを培養した。IFNγ⁺T細胞を、抗原負荷成熟DCと、T細胞と抗原負荷成熟DCとの比を約1：1～約3：1として、12日目に添加したサイトカインカクテル、または14日目に添加したIL-2単独（少なくとも約2000IU/mL）、及び抗PD-1抗体を含有する培地中で共培養した。14日目に、抗CD3抗体（OKT3）を共培養物に添加し、これを29～30日目まで継続的に培養して、腫瘍抗原特異的T細胞を

10

20

30

40

50

得た。

【0380】

増殖アッセイ及び腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成

実施例2に記載の方法により、1日目(PBMC)、9日目(共培養の開始)、12日目(IFN γ 濃縮前)、12日目(IFN γ 濃縮後)、ならびに19、24、及び29日目(IFN γ +T細胞と抗原負荷成熟DCの共培養物)の細胞試料を使用して、細胞増殖を評価した。

【0381】

図21Aに示すように、抗原負荷成熟DCとT細胞との初期共培養物は、少数のIFN γ +T細胞をもたらした(12日目)。濃縮されたIFN γ +T細胞と抗原負荷成熟DCとの共培養物において、細胞数は29日目まで急速に増加し続けた。

【0382】

様々な共培養物試料中の腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成レベルを、実施例2に記載の方法によって判定した。図21Bに示すように、9日目の共培養物にサイトカインカクテルまたはIL-2単独を添加し、12日目の濃縮ステップ後に同様のパーセンテージのIFN γ +T細胞が得られた。

【0383】

以下の表3は、腫瘍抗原ペプチドプールまたは個々の抗原ペプチドによる刺激に応じた、IFN γ +CD3⁺細胞及びIFN γ +TNF α ⁺細胞を評価することにより判定された、19日目(試験1)及び29日目(試験2)における細胞試料中の腫瘍特異的T細胞のパーセンテージを比較する。サイトカインカクテルまたはIL-2単独の9日目の添加、及び腫瘍抗原プールまたは単一の腫瘍抗原をパルスングしたDCとの共培養を用いるプロトコールは、T細胞増殖及び腫瘍特異的T細胞のパーセンテージという点で比較可能な結果を提供する。

【表3-1】

表3。細胞試料中の腫瘍特異的T細胞のパーセンテージ。

9日目の IL-2			
		試験 1	試験 2

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

腫瘍特異的 T 細胞	b \ a	プール	CEA	RGS5	HPV18E7	プール	CEA	RGS5	HPV18E7
CD3+ IFN γ + (%)	プール	9.40	0.36	2.47	6.74	8.97	0.63	2.60	5.30
	CEA	13.90	0.27	6.69	5.46	6.66	0.70	3.64	3.29
	RGS5	9.44	0.54	3.00	5.89	5.86	0.59	2.40	3.39
	HPV18E7	12.65	0.50	4.44	6.05	7.16	1.31	2.50	4.39
IFN γ + T NF α + (%)	プール	4.15	0.16	1.08	4.07	5.32	0.52	2.40	3.94
	CEA	8.96	0.21	4.25	4.07	3.76	0.64	1.85	2.69
	RGS5	6.38	0.29	1.36	4.61	3.81	0.37	1.66	2.80
	HPV18E7	7.90	0.44	2.85	3.65	4.69	0.91	1.92	2.90
9 日目のカクテル									
CD3+ IFN γ + (%)	プール	9.96	0.68	1.82	5.72	8.13	2.51	3.80	4.30
	CEA	11.21	0.79	5.37	5.71	5.86	0.71	2.86	4.26
	RGS5	9.09	0.20	2.25	5.44	8.79	1.37	4.35	6.38
	HPV18E7	12.08	1.16	6.09	4.16	9.73	1.87	4.93	3.83
IFN γ + T NF α + (%)	プール	5.33	0.56	0.89	3.54	4.07	1.06	1.91	2.42
	CEA	6.96	0.62	3.51	3.67	2.84	0.69	0.42	2.71
	RGS5	5.67	0.50	1.59	4.00	5.06	0.08	1.29	3.62
	HPV18E7	6.48	0.69	3.84	2.30	4.63	0.62	2.56	2.52

a : 刺激／試験条件

b : 培養条件

【0384】

図 22A～22B は、9 日目及び 12 日目に IL-2 または サイトカインカクテルを添加するプロトコルを使用した、様々な共培養物試料中の T 細胞数及び腫瘍抗原特異的 T 細胞のパーセンテージを比較する。9 日目の IL-2 の添加、12 日目の腫瘍抗原ペプチドプールをパルスングした DC との共培養、及び 14 日目の IL-2 の添加を用いるプロトコルは、19 日目及び 29 日目の最も高いパーセンテージの腫瘍抗原特異的 T 細胞をもたらした。

【0385】

実施例 3 : 対合した RGS5 特異的 TCR α 及び TCR β 遺伝子の腫瘍抗原特異的 T 細胞からの識別

この実施例では、RGS5 特異的 T 細胞のパーセンテージが（例えば 50% まで）増加した腫瘍抗原特異的 T 細胞集団を調製するために、方法 2 及び方法 2m を使用して調製した腫瘍抗原特異的 T 細胞の凍結ストックを使用した。腫瘍抗原特異的 T 細胞試料の単一細胞

胞シーケンシングにより、3対のRGS5特異的TCR α 及びTCR β 遺伝子を識別した。

【0386】

細胞の調製

図15A～15Bは、この実施例で使用したプロトコルの概要を提供する。簡潔に述べると、方法2を使用した32日目の腫瘍抗原特異的T細胞、または実施例2に記載した方法2mを使用した30日目の腫瘍抗原特異的T細胞の共培養物の試料を凍結して、腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックを準備した。この実験の1日目には、腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックの試料を解凍し、サイトカインのカクテル（IL-2、IL-7、IL-15）、抗CD3抗体（OKT-3）、及びRGS5-OLP5を含む共培養培地中で、フィーダー細胞ありまたはなしで、RGS5-OLP5（1 μ g/mL）が負荷されたLCL細胞（APC細胞株）と、9日目まで共培養した。腫瘍抗原特異的T細胞と抗原負荷LCL細胞との比は、約4：1であった。腫瘍抗原特異的T細胞、フィーダー細胞、及び抗原負荷LCL細胞の比は、約4：4：1であった。9日目及び16日目に、フィーダー細胞の存在ありまたはなしで、腫瘍抗原特異的T細胞を抗原負荷LCL細胞と共培養することにより、サイクルを繰り返した。

10

【0387】

PBMC及び樹状細胞をLCL細胞の代わりに使用して、抗原負荷APCを準備してもよい。APCには、単一の腫瘍抗原ペプチド、単一の腫瘍抗原ペプチドのエピトープ断片、腫瘍抗原ペプチドのプール、または腫瘍抗原ペプチドのエピトープ断片のプールを負荷してもよい。

20

【0388】

増殖アッセイ

実施例2に記載の方法により、1、9、16、及び23日目の共培養物の細胞試料を使用して、細胞増殖を評価した。

【0389】

図16に示すように、凍結した腫瘍抗原特異的T細胞の解凍した集団を、フィーダー細胞ありまたはなしで、抗原負荷LCL細胞と共培養したとき、細胞は16日目まで増殖し続けた。総細胞数は23日目までに減少した。

【0390】

腫瘍抗原特異的T細胞によるサイトカイン生成

様々な共培養物試料中の腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成レベルを、実施例2に記載の方法によって判定した。

30

【0391】

図17Aは、RGS5-OLP5ペプチドによる刺激に応じたIFN γ ⁺CD3⁺細胞を評価することにより判定された、細胞試料中の腫瘍抗原特異的T細胞のパーセンテージを示す。16日目、方法2mを使用した腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックに由来する共培養物は、RGS5-OLP5ペプチドによる刺激に応じてIFN γ を生成した腫瘍抗原特異的T細胞を約38.6%含有した。注目すべきことに、23日目には、方法2mを使用した腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックに由来する共培養物は、RGS5-OLP5ペプチドによる刺激に応じてIFN γ を生成した腫瘍抗原特異的T細胞を約53.8%含有した。方法2を使用した腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックに由来する共培養物は、RGS5-OLP5ペプチドによる刺激に応じてIFN γ を生成した腫瘍抗原特異的T細胞の16日目及び23日目における低いパーセンテージをもたらした。IFN γ ⁺TNF α ⁺細胞を評価することにより、一貫性のある結果が得られた（図17B）。これらの結果は、腫瘍抗原ペプチドが負荷されたAPCで腫瘍抗原特異的T細胞を繰り返し刺激すると、腫瘍抗原ペプチドに特異的に応答するT細胞のパーセンテージが増加し得ることを示唆する。

40

【0392】

腫瘍抗原特異的T細胞の次世代シーケンシング

方法2mを使用して調製した腫瘍抗原特異的T細胞の凍結ストックに由来する腫瘍抗原

50

特異的T細胞の3つの試料を調製し、IPAIR（商標）技術（iRepertoire，Inc.）を使用した次世代シーケンシングと合わせた、バルク及び単一細胞のTCR α 及びTCR β 増幅に供した。3つの試料は、（1）無関係なペプチドによって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞、（2）RGS5-OLP5によって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞、及び（3）ビーズで濃縮したRGS5-OLP5によって刺激されたINF γ ⁺CD3⁺腫瘍抗原特異的T細胞である。対照として、同じ患者由来のPBMC試料も同じ次世代シーケンシング分析に供した。

【0393】

図18A及び18Bは、様々な試料におけるTCR α 及びTCR β 配列のユニークなクローン型の頻度を示す。RGS5-OLP5によって刺激された腫瘍抗原特異的T細胞と、RGS5-OLP5によって刺激された、INF γ でソートされた腫瘍抗原特異的T細胞とでは、対照T細胞、すなわち無関係なペプチドによって刺激されたPBMC及び腫瘍抗原特異的T細胞よりも、TCR α 及びTCR β 配列のユニークなクローン型の頻度が大幅に高い。

【0394】

注目すべきことに、IPAIR（商標）Analyzerソフトウェアを使用すると、96個中69個の単一細胞TCR α 及びTCR β シーケンシング試料で、同族のTCR α 及びTCR β 対合が達成された（図19）。一対のRGS5特異的TCR α 及びTCR β 遺伝子（クローン4）を、図19に示す96ウェルプレートから識別した。最も多く見られるクローン型から、3対のRGS5特異的TCR α 及びTCR β 遺伝子（クローン4～6）を識別し、合成した。例示的なTCRクローンの詳細情報については、表1を参照されたい。RGS5特異的TCR α 及びTCR β 遺伝子の各対を発現する工学操作されたT細胞を調製し、工学操作されたT細胞によるRGS5特異的免疫応答を評価することにより、TCRを検証した。

【0395】

実施例4：RGS5及びHPV18 E7特異的TCRの検証

図23に示すアッセイを使用して、実施例2及び3から識別された腫瘍抗原特異的TCRを検証した。5つのRGS5特異的TCR及び5つのHPV18-E7特異的TCRを検証した。

【0396】

ヒト（すなわち野生型）TCRと、対応するマウス化TCR構築物を調製した（図24）。マウス化TCR構築物は、マウス定常ドメイン（mC α 及びmC β 1）を有する。N末端19アミノ酸リーダー配列（配列番号101）を有する3つのTCRバリエーションが発見され、それらのマウス化版を調製した。図25A～25Bは、調製及び検証した26個のTCR構築物を示す。RGS5のアミノ酸16～30及びHPV18-E7のアミノ酸84～102などの同じエピトープを認識する複数のTCRが発見された。TCR構築物の検証アッセイ結果を図26A～35Gに示す。

【0397】

TCR発現アッセイ

染色されたTCR V β 鎖を検出したFACSアッセイを使用して、TCR発現を評価した。簡潔に述べると、TCR移入T細胞を収集し、10mLのPBS（2%のウシ胎児血清を含有する）を添加することによって洗浄し、5分間350gで遠心分離し、上清を完全に吸引した。細胞ペレットを再懸濁し、PBS（2%のウシ胎児血清を含有する）を添加することにより、約 2×10^6 細胞/mLに調整した。100 μ L/試料の細胞懸濁液を収集し、TCR V β 鎖表面染色に使用し、FACSによって検出した。

【0398】

LCL刺激アッセイ

次のようにLCL刺激アッセイを行った。まず、LCLにペプチドを負荷し、LCLを15mLの管に収集し、10mLのPBSを添加することによって洗浄し、5分間350gで遠心分離し、上清を完全に吸引した。細胞ペレットを培養培地（10%のFBSを含

10

20

30

40

50

有するRPMI1640)に再懸濁し、 1×10^6 細胞/mLに調整した。腫瘍抗原ペプチドを $5 \mu\text{g/mL}$ の最終濃度になるまでLCLに添加し、インキュベータ内で8~24時間インキュベートした。次いで、次のように、TCR-T細胞をペプチド負荷LCLで刺激した。ペプチド負荷LCLを収集し、10mLのPBSを添加することによって洗浄し、5分間350gで遠心分離し、上清を完全に吸引した。LCLを再懸濁し、AIM-V培地(10%のウシ胎児血清を含有する)を添加することにより、 1×10^6 細胞/mLまたは 1×10^5 細胞/mLに調整した。TCR形質導入T細胞を収集し、10mLのPBSを添加することによって洗浄し、5分間350gで遠心分離し、上清を完全に吸引した。次いで、TCR形質導入T細胞を再懸濁し、AIM-V培地(10%のウシ胎児血清を含有する)を添加することにより、 2×10^6 細胞/mLまたは 5×10^5 細胞/mLに調整した。 $100 \mu\text{L}$ /ウェルのLCL(1×10^6 細胞/mL)及び $100 \mu\text{L}$ /ウェルのTCR形質導入T細胞(2×10^6 細胞/mL)を、96ウェルプレート中で混合した。プレフェルジンA($3 \mu\text{g/mL}$ の最終濃度)をウェルに加え、4時間インキュベートした。4時間後、細胞を収集し、細胞内IFN- γ 及びTNF- α 染色に使用し、FACSによって検出した。IFN- γ のELISA検出のために、 $100 \mu\text{L}$ /ウェルのLCL(1×10^5 細胞/mL)及び $100 \mu\text{L}$ /ウェルのTCR形質導入T細胞(5×10^5 細胞/mL)を、96ウェルプレート中で混合し、インキュベータ内で24時間インキュベートした。24時間後、96ウェルプレートのウェル1つ当たり $175 \mu\text{L}$ の上清を収集し、IFN- γ ELISA HRPキットを使用したIFN- γ のELISA検出に使用した。

【0399】

HLAブロッキングアッセイ

次のようにHLAブロッキングアッセイを行った。ペプチド負荷LCLをLCL刺激後に収集し、10mLのPBSを添加することによって洗浄し、5分間350gで遠心分離し、上清を完全に吸引した。細胞ペレットを再懸濁し、AIM-V培地(10%のウシ胎児血清を含有する)を添加することにより、 1×10^5 細胞/mLに調整した。 $100 \mu\text{L}$ /ウェルの細胞懸濁液を96ウェルプレートに加え、HLAブロッキング抗体を適切なウェルに加え($50 \mu\text{g/mL}$ の最終濃度)、インキュベータ内で2時間インキュベートした。TCR移入T細胞を収集し、10mLのPBSを添加することによって洗浄し、5分間350gで遠心分離し、上清を完全に吸引した。細胞ペレットを収集し、AIM-V培地(10%のウシ胎児血清を含有する)を添加することにより、 5×10^5 細胞/mLに調整した。 $100 \mu\text{L}$ /ウェルのTCR形質導入細胞懸濁液を対応するウェルに加え、LCLと混合し、インキュベータ内で24時間インキュベートした。24時間後、96ウェルプレートのウェル1つ当たり $175 \mu\text{L}$ の上清を収集し、IFN- γ ELISA HRPキットを使用したIFN- γ のELISA検出に供した。

【0400】

HLA制限アッセイ

HLA制限アッセイでは、様々なHLA-II遺伝子型を有する異なるドナーのLCL(表4)にペプチドを負荷して、TCR-Tを刺激した。残りのステップは、LCL刺激アッセイと同じであった。

【表4】

表4。異なるHLA遺伝子型を有するドナー。

ドナー		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
HLA-DR	DRA/DRB1*09:01	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
	DRA/DRB4*01:03	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+
HLA-DP	HLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+
	HLA-DPA1*01:03/DPB1*02:01	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
	HLA-DPA1*01:03/DPB1*05:01	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
	HLA-DPA1*02:02/DPB1*02:01	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
HLA-DQ	DQA1*03:02/DQB1*03:03	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-

【0401】

ヒトIFN- γ ELISA

1日目に、高タンパク質結合ELISAプレートを抗体1-D1K (IFN- γ ELISA HRPキット) でコーティングし、50 μ L/ウェルを添加することにより、PBS (pH 7.4) 中で2 μ g/mLに希釈し、4℃で一晩インキュベートした。2日目に、プレートをPBS (200 μ L/ウェル) で2回洗浄した。200 μ L/ウェルの培養培地を添加することによってプレートをブロッキングし、室温 (RT) で1時間インキュベートした。0.5 μ g/mLの濃度まで1%のBSAを含む2 mLのPBS中でヒトIFN- γ 標準物質 (IFN- γ ELISA HRPキット) を調製し、室温で15分間放置し、次いで管をボルテックスした。50 μ L/ウェルの試料または標準物質を培養培地中に希釈し、室温で2時間インキュベートした。試料及び標準プローブを二連で試験した。0.05%のTween (登録商標) 20を含有するPBSでプレートを5回洗浄した。50 μ L/ウェルの抗体7-B6-1-ビオチン (IFN- γ ELISA HRPキット) をPBS中1 μ g/mLで添加し、室温で1時間インキュベートし、洗浄した。PBS中1:1000に希釈した50 μ L/ウェルのストレプトアビジン-HRP (IFN- γ ELISA HRPキット) を添加し、室温で1時間インキュベートし、洗浄した。100 μ L/ウェルのTMB基質溶液を添加し、ウェル中の溶液が青色に見えるようになるまで、室温で15~30分間にわたって暗所でインキュベートした。50 μ L/ウェルの停止液を添加して、酵素反応を停止させた。溶液の色が青色から黄色に変化した。光学密度を450 nmにおいてELISAリーダーで測定した。

10

20

【0402】

実施例5: MASCTで処置された患者からの腫瘍特異的T細胞の2ラウンドの増幅

患者SMZは、転移性肺癌と診断され、一般的な腫瘍抗原ペプチド (hTERT、p53、サバイビン、NY-ESO-1、CEA、CDCA1、VEGFR1、VEGFR2、RGS5、CCND1、MUC1、Her2、MAGEA1、MAGEA3、WT-1) 及びネオ抗原ペプチド (SMX-1、SMX-2、及びSMX-3) のプールが負荷されたDCを使用して調製された活性化T細胞を用いた、5サイクルの改良型MASCT処置 (PCT/CN2018/081338及びPCT/CN2019/080535を参照されたい) を受けた。図36の上パネルは、ELISPOTアッセイにおける改良型MASCTの5回目のサイクルの後の、同患者のPBMC試料による抗原特異的T細胞応答を示す。特に、4種の腫瘍抗原、hTERT、CCND1、MAGE-A1、及びWT-1は、強力な免疫応答を誘導した。同患者をその後、改良型MASCTの追加のサイクル (サイクル6) で処置した。図36の下パネルは、ELISPOTアッセイにおける改良型MASCTの6回目のサイクルの後の、同患者のPBMC試料による抗原特異的T細胞応答を示す。ELISPOTアッセイでは、抗原hTERT、CCND1、MAGE-A1、及びWT-1に対応する腫瘍抗原ペプチドサブプールのそれぞれにおける単一ペプチドを使用して、抗原特異的免疫応答を検出し、免疫優性腫瘍抗原ペプチドを識別した。ペプチドhTERT-1及びhTERT-2は、特に強力な免疫応答を示した。

30

【0403】

患者SMZからPBMC試料を得て、2ラウンドプロトコルを使用して腫瘍特異的T細胞を調製した。

40

【0404】

ラウンド1

図37は、この実施例で使用した腫瘍特異的T細胞の調製のラウンド1のプロトコルの概要を提供する。簡潔に述べると、1日目に、Lymphoprep (Nycomed Pharma, Oslo, Norway) での密度勾配遠心分離によって、患者由来の末梢血単核細胞 (PBMC) を得た。1000 U/mLのGM-CSF及び500 U/mLのIL-4を含むAIM-V培地中で付着性単球を継続的に培養して、未熟樹状細胞 (DC) に分化させた。結果として得られた未熟DCに、hTERTに由来する2種の腫瘍抗原ペプチド (すなわち、hTERT1及びhTERT2、1 μ g/mL/ペプチド) を含

50

むペプチドプールをパルシングし、次いでDC成熟培地中で培養して、成熟DCに分化させた。8日目、PBMCをペプチドプールで刺激した。9日目、IFN γ secretion assay-cell enrichment and detection kit (Miltenyi Biotec) を使用して、刺激したPBMCからIFN γ ⁺T細胞集団を単離した。9日目、IL-2及び抗PD-1抗体を含有する培地中で、IFN γ ⁺T細胞を抗原負荷成熟DCと共培養した。11日目、ペプチドプールまたは個々のペプチドそれぞれをパルシングしたPBMCで、共培養物を刺激した。12日目、IFN γ secretion assay-cell enrichment and detection kit (Miltenyi Biotec) を使用して、IFN γ ⁺T細胞集団を単離した。一方で、抗原が負荷された成熟DC(「DC刺激」)またはPBMC(「PBMC刺激」)を調製し、IFN γ ⁺T細胞と共培養した。14日目に、抗CD3抗体(OKT3)及びIL-2(少なくとも約2000IU/mL)を共培養物に添加し、これを31日目まで継続的に培養して、腫瘍抗原特異的T細胞を得た。

【0405】

実施例2に記載の方法により、1日目(PBMC)、9日目(IFN γ 濃縮前)、12日目(IFN γ 濃縮後)、ならびに23、29、及び30日目(IFN γ ⁺T細胞と抗原負荷DCまたはPBMCの共培養物)の細胞試料を使用して、細胞増殖を評価した。図38Aに示すように、抗原負荷DCまたはPBMCを用いるプロトコールは、同様のT細胞増殖結果をもたらした。

【0406】

様々な共培養物試料中の腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成レベルを、実施例2に記載の方法によって判定した。図38Bは、濃縮ステップ後の様々なT細胞集団のパーセンテージを示す。図39A~39Eは、腫瘍抗原ペプチドプールまたは個々の抗原ペプチドによる刺激に応じた、IFN γ ⁺CD3⁺細胞、IFN γ ⁺CD4⁺細胞、及びIFN γ ⁺TNF α ⁺細胞を評価することにより判定された、23日目及び30日目における細胞試料中の様々な腫瘍特異的T細胞集団のパーセンテージを比較する。抗原負荷DCとの共培養は、最も高いパーセンテージの腫瘍特異的T細胞をもたらした。図39Fに示すように、30日目の試料におけるIFN γ ⁺CD4⁺細胞の98.6%は、CCR7⁻CD45RO⁻エフェクターT細胞である。

【0407】

ラウンド2

図40は、この実施例で使用した腫瘍特異的T細胞の調製のラウンド2のプロトコールの概要を提供する。簡潔に述べると、1日目に、サイトカインカクテル(IL-2、IL-7、及びIL-15)及び抗PD-1抗体を含む培地中で、ラウンド1の腫瘍特異的T細胞を培養した。hTERT-2ペプチドが負荷されたPBMCまたは成熟DCを調製した。腫瘍特異的T細胞と、抗原負荷DCまたはPBMCとを、T細胞とPBMCとの比を1:3、1:1、もしくは3:1として、またはT細胞とDCとの比を3:1及び1:1として共培養した。3日目に、抗CD3抗体(OKT3)及びIL-2を共培養物に添加し、これを8日目まで継続的に培養して、腫瘍抗原特異的T細胞を得た。

【0408】

実施例2に記載の方法により、1日目(ラウンド1の腫瘍特異的T細胞)、及び8日目(IFN γ ⁺T細胞と抗原負荷DCまたはPBMCの共培養物)の細胞試料を使用して、細胞増殖を評価した。様々な共培養物試料中の腫瘍抗原特異的T細胞によるIFN γ 生成レベルを、実施例2に記載の方法によって判定した。図41Aに示すように、抗原負荷DCとの共培養は、8日目に最も高い数のT細胞及び最も高いパーセンテージの腫瘍特異的T細胞をもたらした。

【0409】

図41B~41Cは、hTERT-2抗原ペプチドによる刺激に応じた、IFN γ ⁺CD3⁺細胞及びIFN γ ⁺TNF α ⁺細胞を評価することにより判定された、8日目における細胞試料中の様々な腫瘍特異的T細胞集団のパーセンテージを比較する。DCのT細胞に

10

20

30

40

50

【 0 4 1 0 】

配列表

配列番号 1 (C E A 配列)

配列番号 2 (R G S - 5 配列)

MCKGLAALPHSCLERAKEIKIKLGILLQKPDVGDLPVYNEKPEKPAKT

配列番号3 (HPV18-E7配列)

MHGPKATLQDIVLHLEPQNEIPVDLLCHEQLSDSEEENDEIDGVNHQHLPARRAEPQRH
TMLCMCKCEARIKLVVSSADDLRAFQQLFLNTLSFVCPWCASQQ

配列番号4 (CEAクローン1 TCR α CDR3)

CIGPFGNEKLTF

配列番号 5 (C E A クローン 1 T C R α 鎖 アミノ酸配列)

MRLVARVTVFLTFGTIIDAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQG
PQYIIHGLKNNETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVYYCIGPFGNEKLTFGTGTRL
TIIPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSM
FKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL
SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 6 (C E A クローン 1 T C R α 鎖核酸配列)

ATGAGGCTGGTGGCAAGAGTAACCTGTGTTTCTGACCTTTGGAACCTATAATTGATGCTAA
GACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAAGAGCTGCAAACCTGCCTTGTA
ATCACTCTACCATCAGTGGAAATGAGTATGTGTATTGGTATCGACAGATTCACCTCCAG
GGGCCACAGTATATCATTTCATGGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCT
GATCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCCACGCTACGCTGAGAG
ACACTGCTGTGTACTATTGCATCGGCCCTTTGGAAATGAGAAATTAACCTTTGGGACT
GGAACAAGACTCACCATCATACCCAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCT
GAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAA
CAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGAC
ATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTT
TGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCAGCC
CAGAAAGTTCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTA
AACTTTCAAAACCTGTCAAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGT
TAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 7 (C E A クローン 1 T C R β C D R 3)

CASSLDRTVYGYTF

配列番号 8 (C E A クローン 1 T C R β 鎖アミノ酸配列)

MDTRVLCCAVICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPMKGHSVYWYRQLP
EGLKFMVYLQKENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAAYFCASSLDRTV
YGYTFGSGTRLTVVEDLNKVFPPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWW
VNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSE
NDEWTQDRAKPVTOIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA

LVL MAMVKRKDF

配列番号 9 (C E A クローン 1 T C R β 鎖核酸配列)

ATGGACACCAGAGTACTCTGCTGTGCGGTCATCTGTCTTCTGGGGGCAGGTCTCTCAAA
TGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGGGACAGGAGGCAAGAC
TGAGATGCAGCCCAATGAAAGGACACAGTCATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAG
GAAGGTCTGAAATTCATGGTTTATCTCCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAAT
GCCAAAGGAACGATTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCC
AGCAGGTAGTGCGAGGAGATTTCGGCAGCTTATTTCTGTGCCAGCTCACTGGACAGGACC
GTCTATGGCTACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTAAACCGTTGTAGAGGACCTGAACAA
GGTGTTCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCC
AAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGC
TGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCAA
GGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGG
CCACCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTC
TCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGC
CGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCC
TGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTG
GTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTC

10

配列番号 10 (C E A クローン 2 T C R α C D R 3)

CALSGGANAGKSTF

20

配列番号 11 (C E A クローン 2 T C R α 鎖アミノ酸配列)

MKPTLISVLVIFILRGTRAQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSR
QRLQLLLRHISRESIKGFTADLNKGETSFHLKKPFAQEEDSAMYYCALSGGANAGKSTFG
DGTTLTVKPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLD
MRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFSPPESSCDVKLVEKSFETDTNLN
FQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 12 (C E A クローン 2 T C R α 鎖核酸配列)

ATGAAGCCCACCCTCATCTCAGTGCTTGTGATAATATTTATACTCAGAGGAACAAGAGC
CCAGAGAGTGAAGTCAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGGGGGCCCCAGTGGAGC
TGAAGTGCAACTATTCTATTCTGGGAGTCTGAACTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCC
AGACAACGCCTCCAGTTACTCTTGAGACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCAC
TGCTGACCTTAACAAAGGCGAGACATCTTCCACCTGAAGAAACCATTTGCTCAAGAGG
AAGACTCAGCCATGTATTACTGTGCTCTAAGTGGCGGAGCCAATGCAGGCAAATCAACC
TTTGGGGATGGGACTACGCTCACTGTGAAGCCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGT
GTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTACCGATTTTG
ATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAAC
GTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAA
ATCTGACTTTGCATGTGCAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCT
TCCCCAGCCCAGAAAGTTCTGTGATGTCAAGCTGGTTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGAT
ACGAACCTAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGT
GGCCGGGTTTAAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

30

配列番号 13 (C E A クローン 2 T C R β C D R 3)

CASSELGNTIYF

配列番号 14 (C E A クローン 2 T C R β 鎖アミノ酸配列)

MDTWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGEVILRCVPISNHLFYFYWYRQILG
QKVEFLVSFYNNSEIKSEIFDDQFSVERPDGSNFTLKIIRSTKLEDSAMYFCASSELGNTI
YFGEGSWLTVVEDLNKVFPPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWN
GKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSEND
EWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALV
LMAMVKRKDF

40

50

配列番号 15 (C E A クローン 2 T C R β 鎖核酸配列)

ATGGATACCTGGCTCGTATGCTGGGCAATTTTCTAGTCTCTTGAAAGCAGGACTCACAGA
ACCTGAAGTCACCCAGACTCCCAGCCATCAGGTCACACAGATGGGACAGGAAGTGATCT
TGCGCTGTGTCCCCATCTCTAATCACTTATACTTCTATTGGTACAGACAAATCTTGGGG
CAGAAAGTCGAGTTTCTGGTTTCTTTTATAATAATGAAATCTCAGAGAAGTCTGAAAT
ATTCGATGATCAATTCTCAGTTGAAAGGCCTGATGGATCAAATTTCACTCTGAAGATCC
GGTCCACAAAGCTGGAGGACTCAGCCATGTACTTCTGTGCCAGCAGTGAAGTAGGAAAC
ACCATATATTTTGGAGAGGGAAGTTGGCTCACTGTTGTAGAGGACCTGAACAAGGTGTT
CCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGG
CCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCA
GCCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCT
TCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAG
AATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGC
CTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCTGTCTG
CCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGC
GCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTT

10

配列番号 16 (C E A クローン 3 T C R α C D R 3)

CAAHADYKLSF

配列番号 17 (C E A クローン 3 T C R α 鎖アミノ酸配列)

MDKILGASFLVLWLQLCWVSGQQKEKSDQQQVKQSPQSLIVQKGGISIINCAYENTAFDY
FPWYQQFPKGKGPALLIAIRPDVSEKKEGRFTISFNKSAKQFSLHIMDSQPGDSATYFCAAH
ADYKLSFGAGTTVTVRANIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVY
ITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSF
ETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

20

配列番号 18 (C E A クローン 3 T C R α 鎖核酸配列)

ATGGACAAGATCTTAGGAGCATCATTTTTAGTTCTGTGGCTTCAACTATGCTGGGTGAG
TGGCCAACAGAAGGAGAAAAGTGACCAGCAGCAGGTGAAACAAAGTCCTCAATCTTTGA
TAGTCCAGAAAGGAGGGATTTCAATTATAAACTGTGCTTATGAGAACACTGCGTTTGAC
TACTTTCCATGGTACCAACAATTCCCTGGGAAAGGCCCTGCATTATTGATAGCCATACG
TCCAGATGTGAGTGAAAAGAAAGAAGGAAGATTACCAATCTCCTTCAATAAAAGTGCCA
AGCAGTTCTCATTGCATATCATGGATTCCCAGCCTGGAGACTCAGCCACCTACTTCTGT
GCAGCACACGCCGACTACAAGCTCAGCTTTGGAGCCGGAACCACAGTAACTGTAAGAGC
AAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACA
AGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGAT
TCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAG
CAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACA
ACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTTCTGTGATGTCAAG
CTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAACTTTCAAACCTGTGAGTGAT
TGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGC
TGTGGTCCAGC

30

配列番号 19 (C E A クローン 3 T C R β C D R 3)

CASSLD RATNEKLFF

配列番号 20 (C E A クローン 3 T C R β 鎖アミノ酸配列)

MDTRVLCCA VICLLGAGLSNAGVMQNPRHLVRRRGQEARLRCSPMKGHSHVYWYRQLP
EEGLKFMVYLQKENIIDESGMPKERFSAEFPKEGPSILRIQQVVRGDSAAYFCASSLD RAT
NEKLFFGSGTQLSVLEDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSW
WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLS
ENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVS
ALVLMAMVVRKDF

40

50

配列番号 2 1 (C E A クローン 3 T C R β 鎖核酸配列)

ATGGACACCAGAGTACTCTGCTGTGCGGTCATCTGTCTTCTG GGGGCAGGTCTCTCAAA
TGCCGGCGTCATGCAGAACCCAAGACACCTGGTCAGGAGGAGGGGACAGGAGGCAAGAC
TGAGATGCAGCCCAATGAAAGGACACAGTCATGTTTACTGGTATCGGCAGCTCCCAGAG
GAAGGTCTGAAATTCATGGTTTATCTCCAGAAAGAAAATATCATAGATGAGTCAGGAAT
GCCAAAGGAACGATTTTCTGCTGAATTTCCCAAAGAGGGCCCCAGCATCCTGAGGATCC
AGCAGGTAGTGCGAGGAGATTTCGGCAGCTTATTTCTGTGCCAGCTCTCTTGACAGGGCG
ACAAATGAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGAGGACCTGAA
CAAGGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACA
CCCAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTG
AGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGAGCCCCCT
CAAGGAGCAGCCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCT
CGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGG
CTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAG
CGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGG
TCCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTG
CTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTC

10

配列番号 2 2 (R S G 5 クローン 1 T C R α C D R 3)

CALNNDYKLSF

配列番号 2 3 (R S G 5 クローン 1 T C R α 鎖アミノ酸配列)

MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSYDYLLFWYKQ
PPSRQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDAAMYFCALNNDYK
LSFGAGTTVTVRANIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYITDK
TVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETD
TNLNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

20

配列番号 2 4 (R S G 5 クローン 1 T C R α 鎖核酸配列)

ATGGCATGCCCTGGCTTCTGTGGGCACTTGTGATCTCCACCTGTCTTGAATTTAGCAT
GGCTCAGACAGTCACTCAGTCTCAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCAGAGACCGTGA
CCCTGAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTGATTATTATTTATTCTGGTACAAGCAG
CCTCCCAGCAGGCAGATGATTCTCGTTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGC
AACAGAGAATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCTTCAGTCTCAAGA
TCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGCGATGTATTTCTGTGCCCTTAATAACGACTAC
AAGCTCAGCTTTGGAGCCGGAACACAGTAAGTGTAAAGAGCAAATATCCAGAACCCTGA
CCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCA
CCGATTTTGAATCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTG
GAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAG
ACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTT
GAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCT
CCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

30

40

配列番号 2 5 (R S G 5 クローン 1 T C R β C D R 3)

CASSDKGFDEQFF

配列番号 2 6 (R S G 5 クローン 1 T C R β 鎖アミノ酸配列)

MSNQVLCCVVLCLFGLANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSCNQNLNHDAMYWYRQDP
GQGLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSDKGFDE
QFFGPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWV
NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSEN
DEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA
VLMAMVKRKDSRG

配列番号 2 7 (R S G 5 クローン 1 T C R β 鎖核酸配列)

50

ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCCTGGGAGCAAACACCGTGGA
TGGTGGAATCACTCAGTCCCCAAAGTACCTGTTTCAGAAAGGAAGGACAGAATGTGACCC
TGAGTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTACCGACAGGACCCAGGG
CAAGGGCTGAGATTGATCTACTACTCACAGATAGTAAATGACTTTCAGAAAGGAGATAT
AGCTGAAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAAGAAGGAATCCTTTCTCTCACTGTGACAT
CGGCCCAAAGAACCCGACAGCTTTCTATCTCTGTGCCAGTAGTGATAAGGGGTTTGAT
GAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAACGTGTT
CCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGG
CCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCA
GCCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCT
TCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAG
AATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGC
CTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTG
CCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGT
GCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

配列番号 28 (RSG5 クローン 2 TCR α CDR3)

CIVRAWYNNNDMRF

配列番号 29 (RSG5 クローン 2 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化1】

MRLVARVTVFLTFGTIIDAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQ
YIIHGLKNNETNEMASLIITEDRKSSTLILPHATLRDTAVVYVCIVRAWYNNNDMRFAGTRLT
VKPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKS
NSAFAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILL
LKVAGFNLLMTLRWSS

配列番号 30 (RSG5 クローン 2 TCR α 鎖核酸配列)

ATGAGGCTGGTGGCAAGAGTAACTGTGTTTCTGACCTTTGGAACCTATAATTGATGCTAA
GACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAAGAGCTGCAAACCTGCCTTGTA
ATCACTCTACCATCAGTGGAAATGAGTATGTGTATTGGTATCGACAGATTCACTCCCAG
GGGCCACAGTATATCATTTCATGGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCT
GATCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCCACGCTACGCTGAGAG
ACACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGAGCTTGGTACAATAACAATGACATGCGCTTT
GGAGCAGGGACCAGACTGACAGTAAACCAATATCCAGAACCTGACCCTGCCGTGTA
CCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTACCGATTTTGATT
CTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTG
CTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATC
TGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCC
CCAGCCCAGAAAGTTCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACG
AACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGC
CGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 31 (RSG5 クローン 2 TCR β CDR3)

CASRDTEAFF

配列番号 32 (RSG5 クローン 2 TCR β 鎖アミノ酸配列)

【化2】

MGTRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIIKQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGP
KLLIQFQNGVVDSDQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLCASRDTEAFFGQGT
RLTVVEDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVNGKEVHSGVS
TDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVT
QIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMLAMVVKRKDF

配列番号 33 (RSG5 クローン2 TCRβ 鎖核酸配列)

ATGGGCACCAGGCTCCTCTGCTGGGCGGCCCTCTGTCTCCTGGGAGCAGAACTCACAGA
AGCTGGAGTTGCCAGTCTCCCAGATATAAGATTATAGAGAAAAGGCAGAGTGTGGCTT
TTTGGTGCAATCCTATATCTGGCCATGCTACCCTTTACTGGTACCAGCAGATCCTGGGA
CAGGGCCCAAAGCTTCTGATTCAAGTTTCAGAATAACGGTGTAGTGGATGATTCACAGTT
GCCTAAGGATCGATTTTCTGCAGAGAGGCTCAAAGGAGTAGACTCCACTCTCAAGATCC
AGCCTGCAAAGCTTGAGGACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGCAGGGACACTGAAGCT
TTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGACCTGAACAAGGTGTTCCCACC
CGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCCACAC
TGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAAT
GGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCGAGCCCCTCAAGGAGCAGCCCGC
CCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGC
AGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGAC
GAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGG
TAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCA
TCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTT
GTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTT

10

配列番号 34 (RSG5 クローン3 TCRα CDR3)

CVVNMRDSSYKLIF

配列番号 35 (RSG5 クローン3 TCRα 鎖アミノ酸配列)

20

【化3】

MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDC
RKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRSQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVNMRDSSYKLIEGS
GTRLLVRPDIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRS
MDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLQSVI
GFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 36 (RSG5 クローン3 TCRα 鎖核酸配列)

ATGATATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTGGAG
CCAACGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCTTCAATGTTCCAGAGGGAGCCACTG
TCGCTTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTCTTTCTTCTGGTACAGACAG
GATTGCAGGAAAGAACCTAAGTTGCTGATGTCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGG
AAGGTTTACAGCACAGCTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCTCATCAGAGACT
CCAAGCTCAGTGATTACAGCCACCTACCTCTGTGTGGTGAACATGAGGGATAGCAGCTAT
AAATTGATCTTCGGGAGTGGGACCAGACTGCTGGTCAGGCCTGATATCCAGAACCCTGA
CCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCA
CCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTG
GAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAG
ACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTT
GAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCT
CCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

30

40

配列番号 37 (RSG5 クローン3 TCRβ CDR3)

CSAHERITDTQYF

配列番号 38 (RSG5 クローン3 TCRβ 鎖アミノ酸配列)

50

【化 4】

MLLLLLLLGPAGSGLGAVVSQHPSRVICKSGTTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKKSLMLM
ATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSAHERITDTQYFGPGTR
LTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVST
DPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVQTQ
VSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLVLMAMVKRKDSRG

配列番号 39 (RSG5 クローン 3 TCR β 鎖核酸配列)

ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGGGGCCAGCAGGCTCCGGGCTTGGTGCTGTCGTCTC
TCAACATCCGAGCAGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTT
CCCTGGACTTTTCAGGCCACAACCTATGTTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAAAAGAGTCTC
ATGCTGATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCGAGAA
GGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAGTGACCAAGTG
CCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTGCAGTGCCCATGAGCGGATCACAGATACG
CAGTATTTTGGCCCAGGCACCCGGCTGACAGTGCTCGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCC
ACCCGAGGTCGCTGTGTTTGGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCA
CACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTG
AATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCTCAAGGAGCAGCC
CGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCT
GGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAAT
GACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTG
GGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTGCCA
CCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCC
CTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

配列番号 40 (RSG5 クローン 4 TCR α CDR3)

CVVNMKDSSYKLIF

配列番号 41 (RSG5 クローン 4 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化 5】

MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSF~~FWYRQDC~~
RKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRSQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVNMKDSSYKLIEGS
GTRLLVRPDIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRS
MDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL~~SVI~~
GFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 42 (RSG5 クローン 4 TCR α 鎖核酸配列)

ATGATATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTGGAG
CCAACGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCTTCAATGTTCCAGAGGGAGCCACTG
TCGCTTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTCTTTCTTCTGGTACAGACAG
GATTGCAGGAAAGAACCTAAGTTGCTGATGTCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGG
AAGGTTTACAGCACAGCTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCTCATCAGAGACT
CCAAGCTCAGTGATTACAGCCACCTACCTCTGTGTGGTGAACATGAAGGATAGCAGCTAT
AAATTGATCTTCGGGAGTGGGACCAGACTGCTGGTCAGGCCTGATATCCAGAACCCTGA
CCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCA
CCGATTTTGAATCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCAC
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTG
GAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAG
ACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTT
GAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCT
CCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 43 (RSG5 クローン 4 TCR β CDR3)

CSALEGTSGKETQYF

配列番号 4 4 (R S G 5 クローン 4 T C R β 鎖アミノ酸配列)

【化 6】

MLLLLLLLGPAGSGLGAVVSQHPSRVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKKSMLM
ATSNESKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSALEGTSGKETQYFGPG
TRLVLLEDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGKEVHSGV
STDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV
TQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMLAMVVKRDSR
G

10

配列番号 4 5 (R S G 5 クローン 4 T C R β 鎖核酸配列)

ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGGGGCCAGCAGGCTCCGGGCTTGGTGCTGTCGTCTC
TCAACATCCGAGCAGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTT
CCCTGGACTTTTCAGGCCACAACCTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAAAAGAGTCTC
ATGCTGATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCGAGAA
GGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCTACTCTGACAGTGACCAGTG
CCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTGCAGTGCTTTAGAGGGGACTAGCGGGAAA
GAGACCCAGTACTTCGGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGAGGACCTGAAAAACGT
GTTCCCAACCCGAGGTGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAA
AGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGG
TGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCCTCAAGGA
GCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCA
CCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCG
GAGAATGACGAGTGAGCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCAACCCAGATCGTCAGCGCCGA
GGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGT
CTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTC
AGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

20

配列番号 4 6 (R S G 5 クローン 5 T C R α C D R 3)

CAGPGNQFYF

配列番号 4 7 (R S G 5 クローン 5 T C R α 鎖アミノ酸配列)

30

【化 7】

MLLITSMVLVLMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTLSNIQWYKQRPGGHP
VFLIQLVKSGEVKKQKRLTFQFGEAKNSSLHITATQTTDVGTYFCAGPGNQFYFEGTGTS
IPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNS
AVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVKESFETDTNLFQNLVIGFRILLK
VAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 4 8 (R S G 5 クローン 5 T C R α 鎖核酸配列)

ATGCTACTCATCACATCAATGTTGGTCTTATGGATGCAATTGTACAGGTGAATGGACA
ACAGGTAATGCAAATTCCTCAGTACCAGCATGTACAAGAAGGAGAGGACTTCACCACGT
ACTGCAATTCCTCAACTACTTTAAGCAATATACAGTGGTATAAGCAAAGGCCTGGTGGA
CATCCCGTTTTTTTTGATACAGTTAGTGAAGAGTGGAGAAGTGAAGAAGCAGAAAAGACT
GACATTTTCAATTTGGAGAAGCAAAAAAGAACAGCTCCCTGCACATCACAGCCACCCAGA
CTACAGATGTAGGAACCTACTTCTGTGCAGGGCCCGGTAACCAAGTTCTATTTTGGGACA
GGGACAAGTTTGACGGTCATTCCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCT
GAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAA
CAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAACTGTGCTAGAC
ATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTT
TGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCC
CAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTA

40

50

AACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTT
TAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 49 (RSG5 クローン5 TCRβ CDR3)

CASSSWDRDQPQHF

配列番号 50 (RSG5 クローン5 TCRβ 鎖アミノ酸配列)

【化8】

MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSM TLQCAQDMNHEYMSWYRQDPG
MGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSSWDRDQPQ
HFGDGTRLSILEDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWNGKEV
HSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDR
AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKR
KDF

10

配列番号 51 (RSG5 クローン5 TCRβ 鎖核酸配列)

ATGAGCATCGGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTTGTCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGTGAA
TGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAATTCCAGGTCCTGAAGACAGGACAGAGCATGACAC
TGCAGTGTGCCCAGGATATGAACCATGAATACATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGC
ATGGGGCTGAGGCTGATTCACTACTCAGTTGGTGTGGTATCACTGACCAAGGAGAAGT
CCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGCTCAGGCTGCTGT
CGGCTGCTCCCTCCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTATGGGACAGGGAT
CAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTAGAGGACCTGAACAAGGT
GTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAA
AGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGG
TGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCAAGGA
GCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCA
CCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCG
GAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGA
GGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCTGT
CTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTC
AGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTT

20

30

配列番号 52 (RSG5 クローン6 TCRα CDR3)

CALSALPYNQGGKLIF

配列番号 53 (RSG5 クローン6 TCRα 鎖アミノ酸配列)

【化9】

MKPTLISVLVIIIFILRGTRAQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSR
QRLQLLLRHISRESIKGFTADLNKGETSFHLKKPFAQEEDSAMYYCALSALPYNQGGKLIFGQ
GTELSVKPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRS
MDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVI
GFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

40

配列番号 54 (RSG5 クローン6 TCRα 鎖核酸配列) ATGAAGCCCACCCTCATCTC
AGTGCTTGTGATAATATTTATACTCAGAGGAACAAGAGCCCAGAGAGTGACTCAGCCCG
AGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGGGGGCCCCAGTGGAGCTGAAGTGCAACTATTCCTAT
TCTGGGAGTCCTGAACTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCCAGACAACGCCTCCAGTTACT
CTTGAGACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCACTGCTGACCTTAACAAAGGCG
AGACATCTTTCCACCTGAAGAAACCATTTGCTCAAGAGGAAGACTCAGCCATGTATTAC
TGTGCTCTAAGTGCCCTCCCCCTATAACCAGGGAGGAAAGCTTATCTTCGGACAGGGAAC
GGAGTTATCTGTGAAACCCAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAG
ACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTACCGATTTTGATTCTCAAACAAAT
GTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAG

50

GTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCAT
GTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAA
AGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTT
TCAAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATC
TGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 55 (RSG5 クローン 6 TCRβ CDR3)

CAWARSRELF

配列番号 56 (RSG5 クローン 6 TCRβ 鎖アミノ酸配列)

【化10】

MLCSLLALLLGTFFGVRSQTIHQWPATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPNLYWYRQAAGRGLQ
LLFYSVGIGQISSEVPQNLSASRPQDRQFILSSKLLLSDSGFYLCWARSRELFEGEGSRLTVL
EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVNGKEVHSGVSTDPQP
LKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSA
EAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLVLMAMVKRKDSRG

10

配列番号 57 (RSG5 クローン 6 TCRβ 鎖核酸配列)

ATGCTCTGCTCTCTCCTTGCCCTTCTCCTGGGCACTTTCTTTGGGGTCAGATCTCAGACT
ATTCATCAATGGCCAGCGACCCTGGTGCAGCCTGTGGGCAGCCCGCTCTCTCTGGAGTG
CACTGTGGAGGGAACATCAAACCCCAACCTATACTGGTACCGACAGGCTGCAGGCAGGG
GCCTCCAGCTGCTCTTCTACTCCGTTGGTATTGGCCAGATCAGCTCTGAGGTGCCCCAG
AATCTCTCAGCCTCCAGACCCAGGACCGGCAGTTCATCCTGAGTTCTAAGAAGCTCCT
TCTCAGTGACTCTGGCTTCTATCTCTGTGCCTGGGCGAGGAGCAGGGAGCTGTTTTTTG
GAGAAGGCTCTAGGCTGACCGTACTGGAGGACCTGAAAAACGTGTTCCCACCCGAGGTC
GCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTG
CCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGG
AGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAAT
GACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCC
CCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGA
CCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCA
GACTGTGGCTTCACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTA
TGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGA
TGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

20

30

配列番号 58 (HPV18-E7 クローン 1 TCRα CDR3)

CAFYAGNNRKLW

配列番号 59 (HPV18-E7 クローン 1 TCRα 鎖アミノ酸配列)

【化11】

MMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQDPGPLSVPEGAIVSLNCTYSNSAFQYFMWYRQ
YSRKGPPELLMYTYSSGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFIRDSQPSDSATYLCAFYAGNNRKLW
GLGTSLAVNPNIQNPDAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDM
RSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL
SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

40

配列番号 60 (HPV18-E7 クローン 1 TCRα 鎖核酸配列)

ATGATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTG
GAGCCAACAGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCACTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCA
TTGTTTCTCTCAACTGCACTTACAGCAACAGTGCTTTTCAATACTTCATGTGGTACAGA
CAGTATTCCAGAAAAGGCCCTGAGTTGCTGATGTACATACTCCAGTGGTAAACAAGA
AGATGGAAGGTTTACAGCACAGGTGATAAATCCAGCAAGTATATCTCCTTGTTTCATCA
GAGACTCACAGCCCAGTGATTACGCCACCTACCTCTGTGCATTCTATGCTGGCAACAAC
CGTAAGCTGATTTGGGGATTGGGAACAAGCCTGGCAGTAAATCCGAATATCCAGAACCC

50

TGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTAT
TCACCGATTTTGAATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATC
ACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGC
CTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAG
AAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGC
TTTGAACAGATACGAACCTAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCT
CCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 6 1 (HPV 18 - E 7 クローン 1 TCR β CDR 3)

CASSIDPATSHQFF

配列番号 6 2 (HPV 18 - E 7 クローン 1 TCR β 鎖アミノ酸配列)

10

【化 1 2】

MSNQVLCCVVLCLFGANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSCQNLDAMYWYRQDPGQ
GLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSIDPATSHQFF
GPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGKEVH
SGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRA
KPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRK
DSRG

配列番号 6 3 (HPV 18 - E 7 クローン 1 TCR β 鎖核酸配列)

ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCCTGGGAGCAAACACCGTGGA
TGGTGGAATCACTCAGTCCCCAAAGTACCTGTTTCAAGAAAGGAAGGACAGAATGTGACCC
TGAGTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTACCGACAGGACCCAGGG
CAAGGGCTGAGATTGATCTACTACTCACAGATAGTAAATGACTTTTCAAGAAAGGAGATAT
AGCTGAAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAGAAGGAATCCTTTCTCTCACTGTGACAT
CGGCCCAAAGAACCCGACAGCTTTCTATCTCTGTGCCAGTAGTATAGATCCGGCGACT
AGTCATGAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAA
CGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCC
AAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGC
TGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAAGCACAGACCCGACAGCCCTCAA
GGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGG
CCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTC
TCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGC
CGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCC
TGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTG
GTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

20

30

配列番号 6 4 (HPV 18 - E 7 クローン 2 TCR α CDR 3)

CALSGRRDDMRF

配列番号 6 5 (HPV 18 - E 7 クローン 2 TCR α 鎖アミノ酸配列)

MKPTLISVLVIFILRGTRAQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSR
QRLQLLLRHISRESIKGFTADLNKGETSFHLKKPFAQEEDSAMYYCALSGRRDDMRFGAG
TRLTVKPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMR
SMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQ
NLSVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

40

配列番号 6 6 (HPV 18 - E 7 クローン 2 TCR α 鎖核酸配列)

ATGAAGCCCACCCTCATCTCAGTGCTTGTGATAATATTTATACTCAGAGGAACAAGAGC
CCAGAGAGTGACTCAGCCCGAGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGGGGCCCCAGTGGAGC
TGAAGTGCAACTATTCTATTCTGGGAGTCCTGAACTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCC
AGACAACGCCTCCAGTTACTCTTGAGACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCAC
TGCTGACCTTAACAAAGGCGAGACATCTTCCACCTGAAGAAACCATTTGCTCAAGAGG
AAGACTCAGCCATGTATTACTGTGCTCTAAGTGGCCGTCGGGATGACATGCGCTTTGGA

50

GCAGGGACCAGACTGACAGTAAAACCAAATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCA
GCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTACCGATTTTGATTCTC
AAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTA
GACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGA
CTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCA
GCCCAGAAAGTTCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAAC
CTAAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGG
GTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 67 (HPV18-E7 クローン2 TCRβ CDR3)

CASSFRGDEQFF

10

配列番号 68 (HPV18-E7 クローン2 TCRβ 鎖アミノ酸配列)

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTL
GQGPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASSFRGDE
QFFGPGTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWV
NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNP RNHFRCQVQFYGLSEN
DEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSA
VLMAMVKRKDSRG

配列番号 69 (HPV18-E7 クローン2 TCRβ 鎖核酸配列)

ATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGA
TACTGGAGTCTCCCAGAACCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTAACCTT
TCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGACAGACCTGGGG
CAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTAGAAAAATCAAGGCT
GCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTTGGAGATCC
AGCGCACAGAGCAGGGGGACTCGGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCTTCAGGGGAGAC
GAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAACGTGTT
CCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGG
CCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCTCAAGGAGCA
GCCC GCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCT
TCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAG
AATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGC
CTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTG
CCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGT
GCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

20

30

配列番号 70 (HPV18-E7 クローン3 TCRα CDR3)

CAMSPRSGYALNF

配列番号 71 (HPV18-E7 クローン3 TCRα 鎖アミノ酸配列)

【化13】

MMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQKEVEQDPGPLSVPEGAIVSLNCTYSNSAFQYFMWYRQ
YSRKGPPELLMYTYSSGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFIRDSQPSDSATYLCAMSPRSGYALNF
GKGTSLLVTPHIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDM
RSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL
SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

40

配列番号 72 (HPV18-E7 クローン3 TCRα 鎖核酸配列)

ATGATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTG
GAGCCAACAGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCACTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCA
TTGTTTCTCTCAACTGCACTTACAGCAACAGTGCTTTTCAATACTTCATGTGGTACAGA
CAGTATTCCAGAAAAGGCCCTGAGTTGCTGATGTACATACTCCAGTGGTAAACAAAGA
AGATGGAAGGTTTACAGCACAGGTCGATAAATCCAGCAAGTATATCTCCTTGTTTCATCA

50

GAGACTCACAGCCCAGTGATTGAGCCACCTACCTCTGTGCAATGAGCCCTCGGAGCGGG
TATGCACTCAACTTCGGCAAAGGCACCTCGCTGTTGGTCACACCCCATATCCAGAACCC
TGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTAT
TCACCGATTTTGAATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATC
ACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGC
CTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAG
AAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGC
TTTGAAACAGATACGAACCTAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCGAATCCT
CCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 73 (HPV18-E7 クローン3 TCRβ CDR3)

CASSMDAALGEKLFF

配列番号 74 (HPV18-E7 クローン3 TCRβ 鎖アミノ酸配列)

【化14】

MSNQVLCCVVLCLFLGANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSCQNLNHDAMYWYRQDPGQ
GLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSMDAALGEKL
FGSGTQLSVLEDLNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWNGKEV
HSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAFTWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDR
AKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMLAMVKR
KDF

配列番号 75 (HPV18-E7 クローン3 TCRβ 鎖核酸配列)

ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCTGGGAGCAAACACCGTGGA
TGGTGGAATCACTCAGTCCCCAAAGTACCTGTTTCAAGAAAGGAAGGACAGAATGTGACCC
TGAGTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTACCGACAGGACCCAGGG
CAAGGGCTGAGATTGATCTACTACTCACAGATAGTAAATGACTTTTCAAGAAAGGAGATAT
AGCTGAAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAAGAAGGAATCCTTTCTCTCACTGTGACAT
CGGCCCCAAAAGAACCCGACAGCTTTCTATCTCTGTGCCAGTAGTATGGACGCCGCCTTG
GGTGAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGAGGACCTGAACAA
GGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAAGCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCC
AAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGAGCTGAGC
TGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCGCAGCCCCTCAA
GGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGG
CCACCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGGCTC
TCGGAGAATGACGAGTGGAACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGC
CGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCC
TGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTG
GTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTT

配列番号 76 (HPV18-E7 クローン4 TCRα CDR3)

CALRSGGSNYKLTF

配列番号 77 (HPV18-E7 クローン4 TCRα 鎖アミノ酸配列)

【化15】

MNYSPLVSLILLLLGRTRGNSVTQMEGPVTLSEEAFLTINCTYTATGYPSLFWYVQYPGEGL
QLLLKATKADDKGSNKGFEATYRKETTSFHLEKGSVQVSDSAVYFCALRSGGSNYKLTFGK
GTLTVPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVDYITDKTVLDMRS
MDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSHIPEDTFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVSI
GFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 78 (HPV18-E7 クローン4 TCRα 鎖核酸配列)

ATGAACTATTCTCAGGCTTAGTATCTCTGATACTCTTACTGCTTGGAAGAACCCGTGG
AAATTCAGTGACCCAGATGGAAGGGCCAGTGAATCTCTCAGAAGAGGCCTTCTGACTA

TAAACTGCACGTACACAGCCACAGGATACCCTTCCCTTTTCTGGTATGTCCAATATCCT
GGAGAAGGTCTACAGCTCCTCCTGAAAGCCACGAAGGCTGATGACAAGGGAAGCAACAA
AGGTTTTGAAGCCACATACCGTAAAGAAACCACTTCTTTCCACTTGGAGAAAGGCTCAG
TTCAAGTGTGAGACTCAGCGGTGTACTTCTGTGCTCTGAGGAGTGGAGGTAGCAACTAT
AACTGACATTTGGAAAAGGAACTCTCTTAACCGTGAATCCAAATATCCAGAACCCTGA
CCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCA
CCGATTTTGAATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACA
GACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTG
GAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAG
ACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTTCGAGAAAAGCTTT
GAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTGAGTGATTGGGTTCGAATCCTCCT
CCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

配列番号 79 (HPV18-E7クローン4 TCRβ CDR3)

CASSVEWGTYEQYF

配列番号 80 (HPV18-E7クローン4 TCRβ 鎖アミノ酸配列)

【化16】

MGFRLLCCVAFCLLGAGPVD SGVTQTPKHLITATGQRVTLRCS PRSGDLSVYWYQQSLDQG
LQFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSVEWGTYEQYFG
PGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVWNGKEVHS
GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAK
PVTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDS
RG

配列番号 81 (HPV18-E7クローン4 TCRβ 鎖核酸配列)

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGA
TTCTGGAGTCACACAAACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGC
TGAGATGCTCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCTGTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGAC
CAGGGCCTCCAGTTCTCATTAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCAAAAGGAAACAT
TCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCCTGACTTGCCTCTGAACTAAACCTGAGCT
CTCTGGAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCGTAGAATGGGGTACC
TACGAGCAGTACTTCGGGCCGGGCACCGAGGCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAACGT
GTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAA
AGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGG
TGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGA
GCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCA
CCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCG
GAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTACCCAGATCGTCAGCGCCGA
GGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGT
CTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTC
AGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

配列番号 82 (RGS5 エピトープ1)

AKEIKIKLGILLQKP

配列番号 83 (RGS5 エピトープ2)

MCKGLAALPHSCLERAKEIKIKLGILLQKP

配列番号 84 (HPV18 E7 エピトープ1)

ADDLRAFQQLFLNTL

配列番号 85 (HPV18 E7 エピトープ2)

RAFQQLFLNTLSFVCPWCA

配列番号 86 (HPV18 E7 エピトープ3)

VESSADDLRAFQQLFLNTLSFVCPWCASQQ

配列番号 87 (HPV18-E7クローン5 TCR α CDR3)

CAVYQGAQKLVF

配列番号 88 (HPV18-E7クローン5 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化17】

MLLELIPLLLGIHFVLRRTARAQSVTPDIHITVSEGASLELRCNYSYGATPYLFWYVQSPGQGL
QLLLKYFSGDTLVQGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYFCVYQGAQKLVEFGQG
TRLTINPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSM
FKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLVIGF
RILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

10

配列番号 89 (HPV18-E7クローン5 TCR α 鎖核酸配列)

ATGCTCCTGGAGCTTATCCCACTGCTGGGGATACATTTTGTCTCTGAGAACTGCCAGAGC
CCAGTCAGTGACCCAGCCTGACATCCACATCACTGTCTCTGAAGGAGCCTCACTGGAGT
TGAGATGTAACCTATTCCTATGGGGCAACACCTTATCTCTTCTGGTATGTCCAGTCCCC
GGCCAAGGCCTCCAGCTGCTCCTGAAGTACTTTTCAGGAGACACTCTGGTTCAAGGCAT
TAAAGGCTTTGAGGCTGAATTTAAGAGGAGTCAATCTTCCTTCAACCTGAGGAAACCCT
CTGTGCATTGGAGTGATGCTGCTGAGTACTTCTGTGCTGTGTATCAGGGAGCCCAGAAG
CTGGTATTTGGCCAAGGAACCAGGCTGACTATCAACCCAAATATCCAGAACCCTGACCC
TGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTACCG
ATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGAC
AAACTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAG
CAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGAAGACA
CCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAA
ACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCCT
GAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

20

配列番号 90 (HPV18-E7クローン5 TCR β CDR3)

CSAPWLAGLYNEQFF

配列番号 91 (HPV18-E7クローン5 TCR β 鎖アミノ酸配列)

【化18】

MLLLLLLLGPGSGLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFEQATTMFYWRQFPKQSLMLM
ATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAPEDSSFYICSAPWLAGLYNEQFFGP
GTRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWVNGKEVHSG
VSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPРНHFRСQVQFYGLSENDEWTQDRAKP
VTQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVVRKDS
RG

30

配列番号 92 (HPV18-E7クローン5 TCR β 鎖核酸配列)

ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGGGGCCAGGCTCCGGGCTTGGTGCTGTCTCTCA
ACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCC
TGGACTTTCAGGCCACAACCTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATG
CTGATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCGAGAAGGA
CAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAGTGACCAAGTGCCC
ATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTGCAGTGCTCCGTGGCTAGCGGGGTTGTACAAT
GAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGACCTGAAAAACGTGTT
CCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGG
CCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
GTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCGAGCCCTCAAGGAGCA
GCCC GCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCGGCCACCT
TCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAG
AATGACGAGTGGAACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGC

40

50

CTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTCTTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTG
CCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCCGTGCTGGTCAGT
GCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

配列番号 93 (HPV18-E7 クローン6 TCR α CDR3)

CVVSAIGYSSASKIIF

配列番号 94 (HPV18-E7 クローン6 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化19】

MLLLLPVLEVIFTLGGTRAQSVTQLDSHVSVSEGTPVLLRCNYSSSYSPSLFWYVQHPNKGL
QLLLKYTSAATLVKGINGFEAEFKKSETSFHLTKPSAHMSDAAEYFCVVSAIGYSSASKIIFGS
GTRLRIRPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSM
DFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIG
FRILLKVAGFNLLMTLRLWSS

10

配列番号 95 (HPV18-E7 クローン6 TCR α 鎖核酸配列)

ATGCTCCTGCTGCTCGTCCAGTGCTCGAGGTGATTTTTACTCTGGGAGGAACCAGAGC
CCAGTCGGTGACCCAGCTTGACAGCCACGTCTCTGTCTCTGAAGGAACCCCGGTGCTGC
TGAGGTGCAACTACTCATCTTCTTATTCACCATCTCTCTTCTGGTATGTGCAACACCCCA
ACAAAGGACTCCAGCTTCTCCTGAAGTACACATCAGCGGCCACCCTGGTTAAAGGCATC
AACGGTTTTGAGGCTGAATTTAAGAAGAGTGAAACCTCCTTCCACCTGACGAAACCTC
AGCCCATATGAGCGACGCGGCTGAGTACTTCTGTGTTGTGAGTGCCATTGGGTACAGCA
GTGCTTCCAAGATAATCTTTGGATCAGGGACCAGACTCAGCATCCGGCCAAATATCCAG
AACCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTG
CCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGT
ATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCT
GTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAACGCCTTCAACAACAGCATTAT
TCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTGGTTCGAGA
AAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAACTTTCAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCCGA
ATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGTGGTCCAGC

20

配列番号 96 (HPV18-E7 クローン6 TCR β CDR3)

CASSLVAGGPAETQYF

30

配列番号 97 (HPV18-E7 クローン6 TCR β 鎖アミノ酸配列)

【化20】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNP RHKITKRQNVTFRCDP ISEHNRLYWYRQTLGQ
GPEFLTYFQNEAQLEKSRLLSDRFSAERP KGSFSTLEIQRTEQGDSAMYLCASSLVAGGPAET
QYFGPGTRLLVLEDLKNVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGK
EVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQ
DRAKPV TQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMV
KRKDSRG

配列番号 98 (HPV18-E7 クローン6 TCR β 鎖核酸配列)

40

ATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGA
TACTGGAGTCTCCAGAACCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTAACCTT
TCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGACAGACCCTGGGG
CAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTAGAAAAATCAAGGCT
GCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTTGGAGATCC
AGCGCACAGAGCAGGGGGACTCGGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCTTAGTTGCGGGA
GGGCCC GCAGAGACCCAGTACTTCGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGAGGACCT
GAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCC
ACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAG
CTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCGCAGCC

50

CCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGG
TCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGTTCTAC
GGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAGATCGT
CAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTCTTACCAGCAAG
GGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTATGCC
GTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGAGGC

配列番号 99 (P2A アミノ酸配列)

GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP

配列番号 100 (P2A 核酸配列)

GGAAGCGGCGCCACGAACCTTCTCTCTGTTAAAGCAAGCAGGAGACGTGGAAGAAAACCC
CGGTCCC

10

配列番号 101 (リーダーアミノ酸配列)

MEAVVTTLPREGGVRPSRK

配列番号 102 (リーダー核酸配列)

ATGGAGGCAGTGGTCACAACCTCTCCCCAGAGAAGGTGGTGTGAGGCCATCACGGAAG

配列番号 103 (マウス化 RSG5 クローン2 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化21】

MRLVARVTVFLTFGTIIDAKTTQPPSMDCAEGRAANLPCNHSTISGNEYVYWYRQIHSQGPQ
YIIHGLKNNETNEMASLIITEDRKSSSTLILPHATLRDTAVYYCIVRAWYNNNDMRFAGTRLT
VKPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKS
NSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFSPPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILL
LKVAGFNLLMTLRLWSS

20

配列番号 104 (マウス化 RSG5 クローン2 TCR α 鎖核酸配列)

ATGAGGCTGGTGGCAAGAGTAACTGTGTTTCTGACCTTTGGAATAAATTGATGCTAA
GACCACCCAGCCCCCTCCATGGATTGCGCTGAAGGAAGAGCTGCAAACCTGCCTTGTA
ATCACTCTACCATCAGTGGAAATGAGTATGTGTATTGGTATCGACAGATTCACTCCAG
GGGCCACAGTATATCATTTCATGGTCTAAAAACAATGAAACCAATGAAATGGCCTCTCT
GATCATCACAGAAGACAGAAAGTCCAGCACCTTGATCCTGCCCCACGCTACGCTGAGAG
ACACTGCTGTGTACTATTGCATCGTCAGAGCTTGGTACAATAACAATGACATGCGCTTT
GGAGCAGGGACCAGACTGACAGTAAACCAATATCCAGAACCCAGAACCTGCTGTGTA
CCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCTCTGCCTGTTACCGACTTTGACT
CCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATCACTGACAAAACCTGTG
CTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTGGAGCAACCAGAC
AAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACCCAGTTTCAGACG
TTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATGAACCTAACTTT
CAAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGCCGGATTTAACCT
GTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

30

配列番号 105 (マウス化 RSG5 クローン2 TCR β 鎖アミノ酸配列)

【化22】

MGTRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIIKQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGP
KLLIQFQNGGVDDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLCASRDTEAFFGQGT
RLTVVEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGV
STDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSAFVHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVQTQNIS
AEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKN

40

配列番号 106 (マウス化 RSG5 クローン2 TCR β 鎖核酸配列)

ATGGGCACCAGGCTCCTCTGCTGGGCGGCCCTCTGTCTCCTGGGAGCAGAACTCACAGA
AGCTGGAGTTGCCAGTCTCCAGATATAAGATTATAGAGAAAAGGCAGAGTGTGGCTT
TTGGTGCAATCCTATATCTGGCCATGCTACCCTTTACTGGTACCAGCAGATCCTGGGA

50

CAGGGCCCCAAAGCTTCTGATTCAAGTTTCAGAATAACGGTGTAGTGGATGATTCACAGTT
GCCTAAGGATCGATTTTCTGCAGAGAGGCTCAAAGGAGTAGACTCCACTCTCAAGATCC
AGCCTGCAAAGCTTGAGGACTCGGCCGTGTATCTCTGTGCCAGCAGGGACACTGAAGCT
TTCTTTGGACAAGGCACCAGACTCACAGTTGTAGAGGATCTGAGAAATGTGACTCCACC
CAAGGTCTCCTTGTGTTGAGCCATCAAAGCAGAGATTGCAAACAAACAAAAGGCTACCC
TCGTGTGCTTGGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAAT
GGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGAGAGCAATTA
TAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACAATCCTCGCA
ACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAAGTCCATGGGCTTTCAGAGGAGGACAAGTGGCCAGAG
GGCTCACCCAAACCTGTACACAGAACATCAGTGCAGAGGCCTGGGGCCGAGCAGACTG
TGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGA
TCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGAGTACACTGGTGGTGATGGCT
ATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 107 (マウス化 R S G 5 クローン 3 T C R α 鎖アミノ酸配列)
【化 2 3】

MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDC
RKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRSQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVNMRDSSYKLIFGS
GTRLLVRPDIQNPEPAVYQLKDPQSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAM
DSKSNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVLMVLRI
LLLKVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 108 (マウス化 R S G 5 クローン 3 T C R α 鎖核酸配列)

ATGATATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTGGAG
CCAACGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCTTCAATGTTCCAGAGGGAGCCACTG
TCGCTTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTCTTTCTTCTGGTACAGACAG
GATTGCAGGAAGAAGAACCTAAGTTGCTGATGTCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGG
AAGGTTTACAGCACAGCTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCTCATCAGAGACT
CCAAGCTCAGTGATTACAGCCACCTACCTCTGTGTGGTGAACATGAGGGATAGCAGCTAT
AAATTGATCTTCGGGAGTGGGACCAGACTGCTGGTCAGGCCTGATATCCAGAACCCAGA
ACCTGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCCCTCTGCCTGTTCA
CCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATCACT
GACAAAACCTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTG
GAGCAACCAGACAAGCTTACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACC
CCAGTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATG
AACCTAAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGC
CGGATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

配列番号 109 (マウス化 R S G 5 クローン 3 T C R β 鎖アミノ酸配列)
【化 2 4】

MLLLLLLLGPAGSGLGAVVSQHPSRVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKKSMLMLM
ATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSAHERITDTQYFGPGR
LTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVST
DPQAYKESNYSYCLSSRLRVSAFTWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTQNISAE
AWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

配列番号 110 (マウス化 R S G 5 クローン 3 T C R β 鎖核酸配列)

ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGGGGCCAGCAGGCTCCGGGCTTGGTGCTGTCTCTC
TCAACATCCGAGCAGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTT
CCCTGGACTTTTCAAGGCCACAACCTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAAAAGAGTCTC
ATGCTGATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCGAGAA
GGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAGTGACCAGTG

CCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTGCAGTGCCCATGAGCGGATCACAGATACG
CAGTATTTTGGCCAGGCACCCGGCTGACAGTGCTCGAGGATCTGAGAAATGTGACTCC
ACCCAAGGTCTCCTTGTTTGAGCCATCAAAAGCAGAGATTGCAAACAAACAAAAGGCTA
CCCTCGTGTGCTTGGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTG
AATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGAGAGCAA
TTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACAATCCTC
GCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAGTTCCATGGGCTTTTCAGAGGAGGACAAGTGGCCA
GAGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGCAGAGGCCTGGGGCCGAGCAGA
CTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCCTCTATG
AGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGAGTACACTGGTGGTGTG
GCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

10

配列番号 1 1 1 (マウス化 R S G 5 クローン 4 T C R α 鎖アミノ酸配列)

【化 2 5】

MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDC
RKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRSQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVNMKDDSSYKLIFGS
GTRLLVRPDIQNPEPAVYQLKDPQRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAM
DSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVLMVLRI
LLLKVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 1 1 2 (マウス化 R S G 5 クローン 4 T C R α 鎖核酸配列)

20

ATGATATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTGGAG
CCAACGGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCCTTCAATGTTCCAGAGGGAGCCACTG
TCGCTTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTCTTTCTTCTGGTACAGACAG
GATTGCAGGAAAGAACCTAAGTTGCTGATGTCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGG
AAGGTTTACAGCACAGCTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCCCTGCTCATCAGAGACT
CCAAGCTCAGTGATTACAGCCACCTACCTCTGTGTGGTGAACATGAAGGATAGCAGCTAT
AAATTGATCTTCGGGAGTGGGACCAGACTGCTGGTCAGGCCTGATATCCAGAACCCAGA
ACCTGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCCCTCTGCCTGTTCA
CCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATCACT
GACAAAACCTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTG
GAGCAACCAGACAAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACC
CCAGTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATG
AACCTAAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGC
CGGATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

30

配列番号 1 1 3 (マウス化 R S G 5 クローン 4 T C R β 鎖アミノ酸配列)

【化 2 6】

MLLLLLLLGPAGSGLGAVVSQHPSRVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKKSMLM
ATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSALEGTSGKETQYFGPG
TRLVLEDLRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVNGKEVHSGV
STDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVQTQNIS
AEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKN

40

配列番号 1 1 4 (マウス化 R S G 5 クローン 4 T C R β 鎖核酸配列)

ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGGGGCCAGCAGGCTCCGGGCTTGGTGCTGTCGTCTC
TCAACATCCGAGCAGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTT
CCCTGGACTTTTCAGGCCACAACCTATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAAAAGAGTCTC
ATGCTGATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCGAGAA
GGACAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAGTGACCAGTG
CCCATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTGCAGTGCTTTAGAGGGGACTAGCGGGAAA
GAGACCCAGTACTTCGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGAGGATCTGAGAAATGT

50

GACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTTTGAGCCATCAAAAGCAGAGATTGCAAACAAACAAA
AGGCTACCCTCGTGTGCTTGCCAGGGGCTTCTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGG
TGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGA
GAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACA
ATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAAGTTCATGGGGCTTTCAGAGGAGGACAAG
TGGCCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTACACAGAACATCAGTGACAGAGGCCTGGGGCCG
AGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCC
TCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGCTAGTACACTGGTG
GTGATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 115 (マウス化 R S G 5 クローン 5 T C R α 鎖アミノ酸配列)
【化 27】

10

MLLITSMVLVLMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTLSNIQWYKQRPGGHP
VFLIQLVKSGEVKKQKRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYFCAGPGNQFYFGTGTSLTV
IPNIQNPEPAVYQLKDPQSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMDSSKSN
AIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVLMVLRILLKVA
GFNLLMTLRLWSS

配列番号 116 (マウス化 R S G 5 クローン 5 T C R α 鎖核酸配列)

ATGCTACTCATCACATCAATGTTGGTCTTATGGATGCAATTGTACAGGTGAATGGACA
ACAGGTAATGCAAATTCCTCAGTACCAGCATGTACAAGAAGGAGAGGACTTCACCACGT
ACTGCAATTCCTCAACTACTTTAAGCAATATACAGTGGTATAAGCAAAGGCCTGGTGA
CATCCCGTTTTTTTTGATACAGTTAGTGAAGAGTGGAGAAGTGAAGAAGCAGAAAAGACT
GACATTTTCAAGTTTGGAGAAGCAAAAAAGAACAGCTCCCTGCACATCACAGCCACCCAGA
CTACAGATGTAGGAACCTACTTCTGTGCAGGGCCCCGGTAACCAAGTTCTATTTTGGGACA
GGGACAAGTTTGACGGTCATTCCAAATATCCAGAACCAGAACCTGCTGTGTACCAGTT
AAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCTCTGCCTGTTCAACCAAGTTTCACTCCCAA
TCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATCACTGACAAAACCTGTGCTGGAC
ATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTGGAGCAACCAGACAAGCTT
CACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACCCCAGTTTCAGACGTTCCCT
GTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATGAACCTAACTTTCAAAC
CTGCTGGTTATGTTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGCCGGATTTAACCTGCTCAT
GACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

20

30

配列番号 117 (マウス化 R S G 5 クローン 5 T C R β 鎖アミノ酸配列)
【化 28】

MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPG
MGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSSWDRDQPO
HFGDGTSLILEDLRNVTPPKVSLFEPSSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVNGKE
VHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNP RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKP
VTQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVVRKNS

40

配列番号 118 (マウス化 R S G 5 クローン 5 T C R β 鎖核酸配列)

ATGAGCATCGGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTTGTCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGTGAA
TGCTGGTGTCACTCAGACCCCAAAATTCCAGGTCTGAAGACAGGACAGAGCATGACAC
TGCAGTGTGCCAGGATATGAACCATGAATACATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGC
ATGGGGCTGAGGCTGATTCACTACTCAGTTGGTGTGCTGGTATCACTGACCAAGGAGAAGT
CCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGCTCAGGCTGCTGT
CGGCTGCTCCCTCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTTCATGGGACAGGGAT
CAGCCCCAGCATTTTGGTGATGGGACTCGACTCTCCATCCTAGAGGATCTGAGAAATGT
GACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTTTGAGCCATCAAAAGCAGAGATTGCAAACAAACAAA
AGGCTACCCTCGTGTGCTTGCCAGGGGCTTCTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGG

50

TGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGA
GAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACA
ATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAGTTCCATGGGCTTTCAGAGGAGGACAAG
TGGCCAGAGGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGCAGAGGCCTGGGGCCG
AGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCC
TCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGCTAGTACACTGGTG
GTGATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 1 1 9 (マウス化 R S G 5 クローン 6 T C R α 鎖アミノ酸配列)

【化 2 9】

MKPTLISVLVIIFILRGTRAQRVTQPEKLLSVFKGAPVELKCNYSYSGSPELFWYVQYSRQRLQ
LLLRHISRESIKGFTADLNKGETSFHLKKPFAQEEDSAMYYCALSALPYNQGGKLIFGQGT
SVKPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMDSKS
NGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNLVLMVLRILLK
VAGFNLLMTLRLWSS

10

配列番号 1 2 0 (マウス化 R S G 5 クローン 6 T C R α 鎖核酸配列)

ATGAAGCCCACCCTCATCTCAGTGCTTGTGATAATATTTATACTCAGAGGAACAAGAGC
CCAGAGAGTGACTCAGCCCGAGAAGCTCCTCTCTGTCTTTAAAGGGGCCCCAGTGGAGC
TGAAGTGCAACTATTCTATTCTGGGAGTCCTGAACTCTTCTGGTATGTCCAGTACTCC
AGACAACGCCTCCAGTTACTCTTGAGACACATCTCTAGAGAGAGCATCAAAGGCTTCAC
TGCTGACCTTAACAAAGGCGAGACATCTTCCACCTGAAGAAACCATTGTCTCAAGAGG
AAGACTCAGCCATGTATTACTGTGCTCTAAGTGCCCTCCCCTATAACCAGGGAGGAAAG
CTTATCTTCGGACAGGGAACGGAGTTATCTGTGAAACCCAATATCCAGAACCCAGAACC
TGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCCCTCTGCCTGTTACCG
ACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTCACTACTGAC
AAAACGTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTGGAG
CAACCAGACAAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACCCCA
GTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATGAAC
CTAAACTTTCAAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGCCGG
ATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

20

30

配列番号 1 2 1 (マウス化 R S G 5 クローン 6 T C R β 鎖アミノ酸配列)

【化 3 0】

MLCSLLALLLGTFFGVRSQTIHQWPATLVQPVGSPLSLECTVEGTSNPNLYWYRQAAGRGLQ
LLFYSVGIGQISSEVPQNLASRPQDRQFILSSKLLLSDSGFYLCAWARSRELFFGEGSRLTVL
EDLRNVTTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQ
AYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAW
GRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVVRKNS

配列番号 1 2 2 (マウス化 R S G 5 クローン 6 T C R β 鎖核酸配列)

ATGCTCTGCTCTCTCCTTGCCCTTCTCCTGGGCACTTTCTTTGGGGTCAGATCTCAGACT
ATTCATCAATGGCCAGCGACCCTGGTGCAGCCTGTGGGCAGCCCGCTCTCTCTGGAGTG
CACTGTGGAGGGAACATCAAACCCCAACCTATACTGGTACCGACAGGCTGCAGGCAGGG
GCCTCCAGCTGCTCTTCTACTCCGTTGGTATTGGCCAGATCAGCTCTGAGGTGCCCCAG
AATCTCTCAGCCTCCAGACCCAGGACCGGCAGTTCATCCTGAGTTCTAAGAAGCTCCT
TCTCAGTGACTCTGGCTTCTATCTCTGTGCCTGGGCGAGGAGCAGGGAGCTGTTTTTTG
GAGAAGGCTCTAGGCTGACCGTACTGGAGGATCTGAGAAATGTGACTCCACCCAAGGTC
TCCTTGTTTGAGCCATCAAAGCAGAGATTGCAAACAAACAAAAGGCTACCTCGTGTG
CTTGGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGCAAGG
AGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGAGAGCAATTATAGCTAC
TGCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACAATCCTCGCAACCACTT

40

50

CCGCTGCCAAGTGCAGTTCCATGGGCTTTCAGAGGAGGACAAGTGGCCAGAGGGCTCAC
CCAAACCTGTACACAGAACATCAGTGCAGAGGCCTGGGGCCGAGCAGACTGTGGGATT
ACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCT
AGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGCTAGTACACTGGTGGTGATGGCTATGGTCA
AAAGAAAAAATTCA

配列番号 1 2 3 (マウス化HPV18 E7クローン1 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化31】

MMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQDPGLSVPEGAIIVSLNCTYSNSAFQYFMWYRQ
YSRKGPPELLMYTYSSGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFIRDSQPSDSATYLCAFYAGNNRKLW
GLGTSLAVNPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMK
AMDSKSNGAIAWSNQTSTFCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVMV
LRILLKVAGFNLLMTLRLWSS

10

配列番号 1 2 4 (マウス化HPV18 E7クローン1 TCR α 鎖核酸配列)

ATGATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTG
GAGCCAACAGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCACTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCA
TTGTTTCTCTCAACTGCACTTACAGCAACAGTGCTTTTCAATACTTCATGTGGTACAGA
CAGTATTCCAGAAAAGGCCCTGAGTTGCTGATGTACACATACTCCAGTGGAACAAAGA
AGATGGAAGGTTTACAGCACAGGTGATAAATCCAGCAAGTATATCTCCTTGTTTCATCA
GAGACTCACAGCCCAGTGATTACGCCACCTACCTCTGTGCATTCTATGCTGGCAACAAC
CGTAAGCTGATTTGGGGATTGGGAACAAGCCTGGCAGTAAATCCGAATATCCAGAACCC
AGAACCTGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCCCTCTGCCTGT
TCACCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATC
ACTGACAAAACCTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGC
CTGGAGCAACCAGACAAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCT
ACCCAGTTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGAT
ATGAACCTAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGT
AGCCGGATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

20

配列番号 1 2 5 (マウス化HPV18 E7クローン1 TCR β 鎖アミノ酸配列)

【化32】

MSNQVLCCVVLCLFLGANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSCSEQNLNHDAMYWYRQDPGQ
GLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSIDPATSHQE
GPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVH
SGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNP RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV
TQ NISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

30

配列番号 1 2 6 (マウス化HPV18 E7クローン1 TCR β 鎖核酸配列)

ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCCTGGGAGCAAACACCGTGGA
TGGTGGAATCACTCAGTCCCCAAAGTACCTGTTTCAAGAAAGGAAGGACAGAATGTGACCC
TGAGTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTACCGACAGGACCCAGGG
CAAGGGCTGAGATTGATCTACTACTCACAGATAGTAAATGACTTTTCAAGAAAGGAGATAT
AGCTGAAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAAAGGAATCCTTTCTCTCACTGTGACAT
CGGCCCAAAGAACCCGACAGCTTTCTATCTCTGTGCCAGTAGTATAGATCCGGCGACT
AGTCATGAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGATCTGAGAAA
TGTGACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTTTGAGCCATCAAAGCAGAGATTGCAAACAAAC
AAAAGGCTACCCTCGTGTGCTTGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGC
TGGTGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCTCAGGCCTACAA
GGAGAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGC
ACAATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAGTTCATGGGCTTTCAGAGGAGGAC
AAGTGGCCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGCAGAGGCCTGGGG

40

50

CCGAGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCA
TCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTCTAGTACACTG
GTGGTGATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 127 (マウス化HPV18 E7クローン3 TCR α 鎖アミノ酸配列)
【化33】

MMKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQDPGPLSVPEGAIIVSLNCTYSNSAFQYFMWYRQ
YSRKGPPELLMYTYSSGNKEDGRFTAQVDKSSKYISLFIRDSQPSDSATYLCAMSPRSGYALNF
GKGTSLLVTPHIQNPEPAVYQLKDPQRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMK
AMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNLFQNLLVMV
LRILLKVAGFNLLMTLRLWSS

10

配列番号 128 (マウス化HPV18 E7クローン3 TCR α 鎖核酸配列)

ATGATGAAATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCTTCAGTTAAGCTGGGTTTG
GAGCCAACAGAAGGAGGTGGAGCAGGATCCTGGACCACTCAGTGTTCCAGAGGGAGCCA
TTGTTTCTCTCAACTGCACTTACAGCAACAGTGCTTTTCAATACTTCATGTGGTACAGA
CAGTATTCCAGAAAAGGCCCTGAGTTGCTGATGTACACATACTCCAGTGGTAAACAAAGA
AGATGGAAGGTTTACAGCACAGGTCGATAAATCCAGCAAGTATATCTCCTTGTTTCATCA
GAGACTCACAGCCCAGTGATTACGCCACCTACCTCTGTGCAATGAGCCCTCGGAGCGGG
TATGCACTCAACTTCGGCAAAGGCACCTCGCTGTTGGTCACACCCCATATCCAGAACCC
AGAACCTGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCCCTCTGCCTGT
TCACCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATC
ACTGACAAAACCTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGC
CTGGAGCAACCAGACAAGCTTACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCT
ACCCAGTTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGAT
ATGAACCTAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGT
AGCCGGATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

20

配列番号 129 (マウス化HPV18 E7クローン3 TCR β 鎖アミノ酸配列)
【化34】

MSNQVLCCVVLCLFLGANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSC EQNLNHDAMYWYRQDPGQ
GLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSMDAALGEKLF
FGSGTQLSVLEDLRNVTTPKVSLEFSPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEV
HSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV
TQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

30

配列番号 130 (マウス化HPV18 E7クローン3 TCR β 鎖核酸配列)

ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCCTGGGAGCAAACACCGTGGA
TGGTGGAATCACTCAGTCCCCAAAGTACCTGTTTCAGAAAGGAAGGACAGAAATGTGACCC
TGAGTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTACCGACAGGACCCAGGG
CAAGGGCTGAGATTGATCTACTACTCACAGATAGTAAATGACTTTTCAGAAAGGAGATAT
AGCTGAAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAAGAAGGAATCCTTTCTCTCACTGTGACAT
CGGCCCAAAGAACCAGACAGCTTTCTATCTCTGTGCCAGTAGTATGGACGCCGCCTTG
GGTGAAAACTGTTTTTTGGCAGTGGAACCCAGCTCTCTGTCTTGGAGGATCTGAGAAA
TGTGACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTTTGAGCCATCAAAGCAGAGATTGCAAACAAAC
AAAAGGCTACCCTCGTGTGCTTGGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGC
TGGTGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCTCAGGCCTACAA
GGAGAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGC
ACAATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGACGTTCCATGGGCTTTCAGAGGAGGAC
AAGTGGCCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGACAGAGGCCTGGGG
CCGAGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCA
TCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTCTAGTACACTG

40

50

GTGGTGATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 131 (マウス化HPV18 E7クローン4 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化35】

MNYSPLVSLILLLLGRTRGNSVTQMEGPVTLSEEAFLTINCTYTATGYPSLFWYVQYPGEGL
QLLLKATKADDDKGSNKGFEATYRKETTSFHLEKGSVQVSDSAVYFCALRSGGSNYKLTFGK
GTLTVPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAM
DSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVLMVLR
LLLKVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 132 (マウス化HPV18 E7クローン4 TCR α 鎖核酸配列)

ATGAACCTATTCTCCAGGCTTAGTATCTCTGATACTCTTACTGCTTGGAAGAACCCGTGG
AAATTCAGTGACCCAGATGGAAGGGCCAGTGAAGTCTCTCAGAAGAGGCCTTCCTGACTA
TAAACTGCACGTACACAGCCACAGGATACCCTTCCCTTTTCTGGTATGTCCAATATCCT
GGAGAAGGTCTACAGCTCCTCCTGAAAGCCACGAAGGCTGATGACAAGGGAAGCAACAA
AGGTTTTGAAGCCACATACCGTAAAGAAACCACTTCTTTCCACTTGAGAGAAAGGCTCAG
TTCAAGTGTCAGACTCAGCGGTGTACTTCTGTGCTCTGAGGAGTGGAGGTAGCAACTAT
AACTGACATTTGGAAAAGGAACTCTCTTAACCGTGAATCCAAATATCCAGAACCCAGA
ACCTGCTGTGTACCAAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCTCTGCCTGTTCA
CCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCACTACT
GACAAAAGTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTG
GAGCAACCAGACAAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACC
CCAGTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATG
AACCTAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGC
CGGATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

配列番号 133 (マウス化HPV18 E7クローン4 TCR β 鎖アミノ酸配列)

【化36】

MGFRLCCVAFCLLGAGPVD SGVTQTPKHLITATGQRVTLRCS PRSGDLSVYWYQQSLDQG
LQFLIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSVEWGTYEQYFEG
PGTRLTVTEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHS
GVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVQT
NISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVMMAMVKRKN

配列番号 134 (マウス化HPV18 E7クローン4 TCR β 鎖核酸配列)

ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCTGGGAGCAGGCCAGTGGA
TTCTGGAGTCACACAAACCCCAAAGCACCTGATCACAGCAACTGGACAGCGAGTGACGC
TGAGATGCTCCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCTGTGTACTGGTACCAACAGAGCCTGGAC
CAGGGCCTCCAGTTCTCATTAGTATTATAATGGAGAAGAGAGAGCAAAAGGAAACAT
TCTTGAACGATTCTCCGCACAACAGTTCCCTGACTTGCACTCTGAACTAAACCTGAGCT
CTCTGGAGCTGGGGGACTCAGCTTTGTATTTCTGTGCCAGCAGCGTAGAATGGGGTACC
TACGAGCAGTACTTCGGGCGGGGACCAGGCTCACGGTCACAGAGGATCTGAGAAATGT
GACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTGTTGAGCCATCAAAAGCAGAGATTGCAACAAACAAA
AGGCTACCCTCGTGTGCTTGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGG
TGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGA
GAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACA
ATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGACAGTTCCATGGGCTTTCAGAGGAGGACAAG
TGGCCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGCAGAGGCCTGGGGCCG
AGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCC
TCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGCTGCTGCTGCTG
GTGATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 135 (マウス化HPV18 E7クローン5 TCR α 鎖アミノ酸配列)

【化 3 7】

MLLELIPLLGIFVLRTARAQSVTPDIHITVSEGASLELRCNYSYGATPYLFWYVQSPGQGL
QLLLKYFSGDTLVQGIKGFEAEFKRSQSSFNLRKPSVHWSDAAEYFCVYQGAQKLVFGQG
TRLTINPNIQNPEPAVYQLKDPQSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMD
SKSNGAIAWSNQTSFTCDIFKETNATYPSSDVPDCA TLTEKSFETDMNLFQNL LVMVLRIL
LLKVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 1 3 6 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 5 T C R α 鎖核酸配列)

ATGCTCCTGGAGCTTATCCCACTGCTGGGGATACATTTTGTCTGAGAACTGCCAGAGC
CCAGTCAGTGACCCAGCCTGACATCCACATCACTGTCTCTGAAGGAGCCTCACTGGAGT
TGAGATGTAAC TATTCCTATGGGGCAACACCTTATCTCTTCTGGTATGTCCAGTCCCC
GGCCAAGGCCTCCAGCTGCTCCTGAAGTACTTTTCAGGAGACACTCTGGTTCAAGGCAT
TAAAGGCTTTGAGGCTGAATTTAAGAGGAGTCAATCTTCCTTCAACCTGAGGAAACCCT
CTGTGCATTGGAGTGATGCTGCTGAGTACTTCTGTGCTGTGTATCAGGGAGCCCAGAAG
CTGGTATTTGGCCAAGGAACCAGGCTGACTATCAACCCAAATATCCAGAACCAGAAC
TGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCTCTGCCTGTTACCG
ACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGTTTCATCACTGAC
AAAAC TGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCCATTGCCTGGAG
CAACCAGACAAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGCCACCTACCCCA
GTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAACAGATATGAAC
CTAAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTGAAAGTAGCCG
ATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

配列番号 1 3 7 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 5 T C R β 鎖アミノ酸配列)

【化 3 8】

MLLLLLLLGPGSGLGAVVSQHPSWVICKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLM
ATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSA PWLAGLYNEQFFGP
GTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVNGKEVHSG
VSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNPRNHFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV TQNI
SAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

配列番号 1 3 8 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 5 T C R β 鎖核酸配列)

ATGCTGCTGCTTCTGCTGCTTCTGGGGCCAGGCTCCGGGCTTGGTGCTGTGCTCTCTCA
ACATCCGAGCTGGGTTATCTGTAAGAGTGGAACCTCTGTGAAGATCGAGTGCCGTTCCC
TGGACTTTTCAGGCCACAAC TATGTTTTGGTATCGTCAGTTCCCGAAACAGAGTCTCATG
CTGATGGCAACTTCCAATGAGGGCTCCAAGGCCACATACGAGCAAGGCGTCGAGAAGGA
CAAGTTTCTCATCAACCATGCAAGCCTGACCTTGTCCACTCTGACAGTGACCAGTGCCC
ATCCTGAAGACAGCAGCTTCTACATCTGCAGTGCTCCGTGGCTAGCGGGGTTGTACAAT
GAGCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAGGATCTGAGAAATGTGAC
TCCACCCAAGGTCTCCTTGTGTTGAGCCATCAAAGCAGAGATTGCAAACAAACAAAAGG
CTACCCTCGTGCTTGGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAGCTGAGCTGGTGG
GTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGCCTACAAGGAGAG
CAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGCTACCTTCTGGCACAATC
CTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAAGTTCATGGGCTTTCAGAGGAGGACAAGTGG
CCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGCAAGAGGCTGGGGCCGAGC
AGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTGCCACCATCCTCT
ATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTGAGTACACTGGTGGTG
ATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 1 3 9 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 6 T C R α 鎖アミノ酸配列)

10

20

30

40

50

【化 3 9】

MLLLLVPVLEVIFTLGGTRAQSVTQLDSHVSVSEGTPVLLRCNYSSSYSPSLFWYVQHPNKG
QLLLKYTSAATLVKGINGFEAEFKKSETSFHLTKPSAHMSDAAEYFCVVSAIGYSSASKIIFGS
GTRLIRPNIQNPEPAVYQLKDPQSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAM
DSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLLVMVLR
LLLKVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 1 4 0 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 6 T C R α 鎖核酸配列)

ATGCTCCTGCTGCTCGTCCAGTGCTCGAGGTGATTTTTACTCTGGGAGGAACCCAGAGC
CCAGTCGGTGACCCAGCTTGACAGCCACGTCTCTGTCTCTGAAGGAACCCCGGTGCTGC
TGAGGTGCAACTACTCATCTTCTTATTACCATCTCTCTTCTGGTATGTGCAACACCCCA
ACAAAGGACTCCAGCTTCTCCTGAAGTACACATCAGCGGCCACCCTGGTTAAAGGCATC
AACGGTTTTGAGGCTGAATTTAAGAAGAGTGAAACCTCCTTCCACCTGACGAAACCTC
AGCCCATATGAGCGACGCGGCTGAGTACTTCTGTGTTGTGAGTGCCATTGGGTACAGCA
GTGCTTCCAAGATAATCTTTGGATCAGGGACCAGACTCAGCATCCGGCCAAATATCCAG
AACCAGAACCTGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCACCTCTG
CCTGTTACCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTGGAACGT
TCATCACTGACAAAACCTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAATGGGGCC
ATTGCCTGGAGCAACCAGACAAGCTTACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGACCAACGC
CACCTACCCAGTTGAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCTTTGAAA
CAGATATGAACCTAACTTTCAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTCCTGCTG
AAAGTAGCCGGATTTAACTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGT

配列番号 1 4 1 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 6 T C R β 鎖アミノ酸配列)

【化 4 0】

MGTSLLCWMALCLLGADHADTGVSQNPRHKITKRGQNVTFRCDPISEHNRLYWYRQTLGQ
GPEFLTYFQNEAQLEKSRLSDRFSERPKGSFSTLEIQRTREQGDSAMYLCASSLVAGGPAET
QYFGPGTRLVLLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGK
EVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKP
VTQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

配列番号 1 4 2 (マウス化 H P V 1 8 E 7 クローン 6 T C R β 鎖核酸配列)

ATGGGCACCAGCCTCCTCTGCTGGATGGCCCTGTGTCTCCTGGGGGCAGATCACGCAGA
TACTGGAGTCTCCAGAACCCAGACACAAGATCACAAAGAGGGGACAGAATGTAACCTT
TCAGGTGTGATCCAATTTCTGAACACAACCGCCTTTATTGGTACCGACAGACCCTGGGG
CAGGGCCCAGAGTTTCTGACTTACTTCCAGAATGAAGCTCAACTAGAAAAATCAAGGCT
GCTCAGTGATCGGTTCTCTGCAGAGAGGCCTAAGGGATCTTTCTCCACCTTGAGATCC
AGCGCACAGAGCAGGGGGACTCGGCCATGTATCTCTGTGCCAGCAGCTTAGTTGCGGGA
GGGCCCAGAGACCCAGTACTTCGGGCCAGGCACGCGGCTCCTGGTGCTCGAGGATCT
GAGAAATGTGACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTTGAGCCATCAAAGCAGAGATTGCAA
ACAAACAAAAGGCTACCCTCGTGCTTGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACGTGGAG
CTGAGCTGGTGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCTCAGGC
CTACAAGGAGAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCTGCTACCT
TCTGGCACAAATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAGTTCCATGGGCTTTTCAAG
GAGGACAAGTGGCCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTACACAGAACATCAGTGCAGAGGC
CTGGGGCCGAGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTTGTCTG
CCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTGTCAGT
ACACTGGTGGTGATGGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

配列番号 1 9 5 (T 2 A アミノ酸配列)

GSGEGRGSLLTGCDVEENPGP

配列番号 1 9 6 (E 2 A アミノ酸配列)

GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP

配列番号 197 (F2A アミノ酸配列)

GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP

配列番号 198 (C α アミノ酸配列)

IQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNS
AVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRI
LLLKVAGFNLLMTLRLWSS

配列番号 199 (C α 核酸配列)

ATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAATCCAGTGACAAGTC
TGTCTGCCTATTACCGATTTTGTATTCTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTG
ATGTGTATATCACAGACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAGAGCAAC
AGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGAC TTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACA
GCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCAAGCTG
GTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGG
GTTCCGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCTGT
GG TCCAGCTGA

10

配列番号 200 (mC α アミノ酸配列)

IQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKTVLDMKAMDSKSN
AIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVLMVLRILL
KVAGFNLLMTLRLWSS

20

配列番号 201 (mC α 核酸配列)

ATCCAGAACCAGAACCTGCTGTGTACCAGTTAAAAGATCCTCGGTCTCAGGACAGCAC
CCTCTGCCTGTTACCGACTTTGACTCCCAAATCAATGTGCCGAAAACCATGGAATCTG
GAACGTTTCATCACTGACAAAAGTGTGCTGGACATGAAAGCTATGGATTCCAAGAGCAAT
GGGGCCATTGCCTGGAGCAACCAGACAAGCTTCACCTGCCAAGATATCTTCAAAGAGAC
CAACGCCACCTACCCCAGTTCAGACGTTCCCTGTGATGCCACGTTGACTGAGAAAAGCT
TTGAAACAGATATGAACCTAACTTTCAAAACCTGCTGGTTATGGTTCTCCGAATCCTC
CTGCTGAAAGTAGCCGGATTTAACCTGCTCATGACGCTGAGGCTGTGGTCCAGTTGA

配列番号 202 (C β 1 アミノ酸配列)

EDLNKVFPPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVSTD
PQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV
TQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRKDF

30

配列番号 203 (C β 1 核酸配列)

AGGACCTGAACAAGGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAG
ATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCA
CGTGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACGGACC
CGCAGCCCCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGC
CTGAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCA
GTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCC
AGATCGTCAGCGCCGAGGCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTAC
CAGCAAGGGGTCCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCT
GTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTCT

40

配列番号 204 (C β 2 アミノ酸配列)

DLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSWVWNGKEVHSGVSTDP
QPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV
QIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKRKDSR
G

配列番号 205 (C β 2 核酸配列)

GACCTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAAGCAGAGAT
CTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACG

50

TGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCACAGACCCG
CAGCCCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCT
GAGGGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGCTGTCAAGTCCAGT
TCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCTGTCACCCAG
ATCGTCAGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTCACCTCCGAGTCTTACCA
GCAAGGGGTCCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGT
ATGCCGTGCTGGTCAGTGCCCTCGTGCTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGA
GGC

配列番号 206 (mC β 1 アミノ酸配列) DLNRNVTTPKVSLFEP SKAEIANKQKATLVCLA
RGFFPDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNP RNHFR
CQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV TQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVL SATILYEILLG
KATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS

10

配列番号 207 (mC β 1 核酸配列)

GATCTGAGAAATGTGACTCCACCCAAGGTCTCCTTGTTTGAGCCATCAAAAGCAGAGAT
TGCAAACAAACAAAAGGCTACCCTCGTGTGCTTGGCCAGGGGCTTCTTCCCTGACCACG
TGGAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGCAAGGAGGTCCACAGTGGGGTCAGCACGGACCCT
CAGGCCTACAAGGAGAGCAATTATAGCTACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGGTCTCTGC
TACCTTCTGGCACAAATCCTCGCAACCACTTCCGCTGCCAAGTGCAGTTCCATGGGCTTT
CAGAGGAGGACAAGTGGCCAGAGGGCTCACCCAAACCTGTCACACAGAACATCAGTGCA
GAGGCCTGGGGCCGAGCAGACTGTGGGATTACCTCAGCATCCTATCAACAAGGGGTCTT
GTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTGCTAGGGAAAGCCACCCTGTATGCTGTGCTTG
TCAGTACACTGGTGGTGTGCTATGGTCAAAAGAAAAAATTCA

20

30

40

50

【表 5】

表 5。例示的な T C R の C D R 配列。

TCR ID	TCR 鎖	CDR1	配列番号	CDR2	配列番号	CDR3	配列番号
P09E06	アルファ	TISGNE	254	GLKNN	255	CIVRAWYNNNDMRF	28
	ベータ	SGHAT	256	QFQNGV	257	CASRDTEAFF	31
09D01	アルファ	NSASQS	258	VYSSGN	259	CVVNMRDSSYKLIF	34
	ベータ	DFQATT	260	SNEGSKA	261	CSAHERITDTQYF	37
09H05	アルファ	NSASQS	262	VYSSGN	263	CVVNMKDSSYKLIF	40
	ベータ	DFQATT	264	SNEGSKA	265	CSALEGTSGKETQYF	43
09E01	アルファ	TTLN	266	LVKSGEV	267	CAGPGNQFYF	46
	ベータ	MNHEY	268	SVGAGI	269	CASSSWDRDQPPHF	49
09B03	アルファ	YSGSPE	270	HISR	271	CALSALPYNQGGKLIF	52
	ベータ	GTSNPN	272	SVGIG	273	CAWARSRELFF	55
P09B08	アルファ	NSAFQY	274	TYSSGN	275	CAFYAGNNRKLIF	58
	ベータ	LNHD	276	SQIVND	277	CASSIDPATSHQFF	61
10F04	アルファ	NSAFQY	278	TYSSGN	279	CAMSPRSGYALNF	70
	ベータ	LNHDA	280	SQIVND	281	CASSMDAALGEKLFF	73
09B12	アルファ	ATGYPS	282	ATKADDK	283	CALRSGGSNYKLTF	76
	ベータ	SGDLS	284	YYNGE	285	CASSVEWGTYEQYF	79
33A02	アルファ	YGATPY	286	YFSGDTLV	287	CAVYQGAQKLIF	87
	ベータ	DFQATT	288	SNEGSKA	289	CSAPWLAGLYNEQFF	90
33D05	アルファ	SSYSPS	290	YTSAATLV	291	CVVSAITGYSSASKIIF	93
	ベータ	SEHNR	292	FQNEAQ	293	CASSLVAGGPAETQYF	96

10

20

30

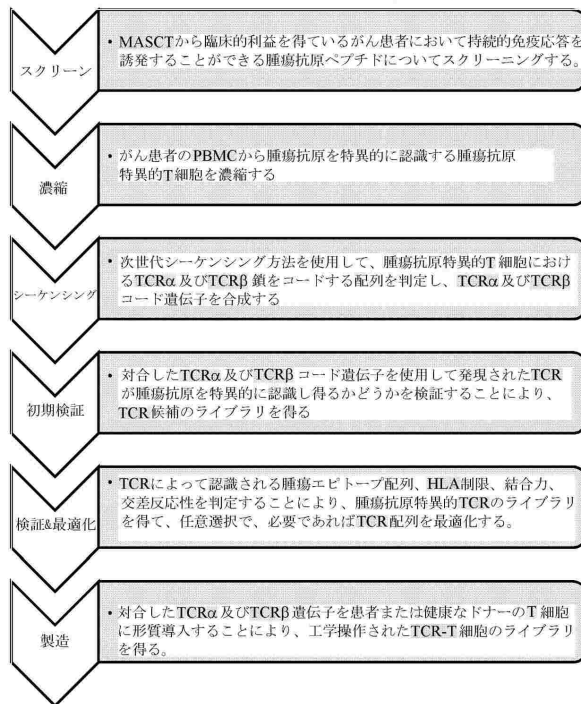
40

50

【図面】

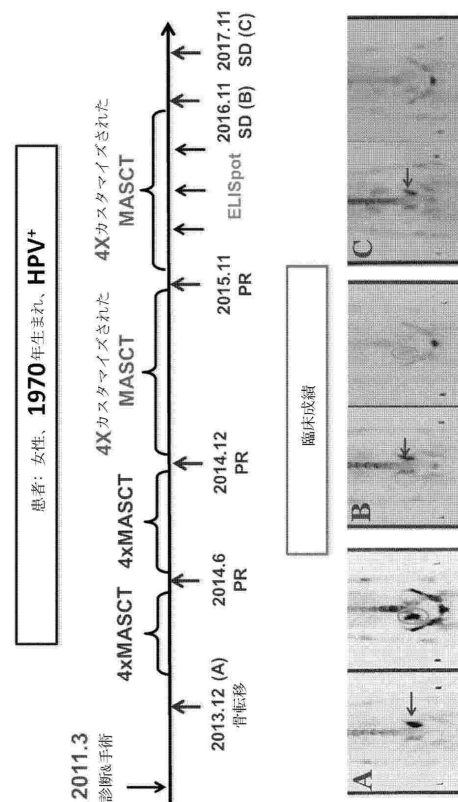
【図 1】

【図 1】



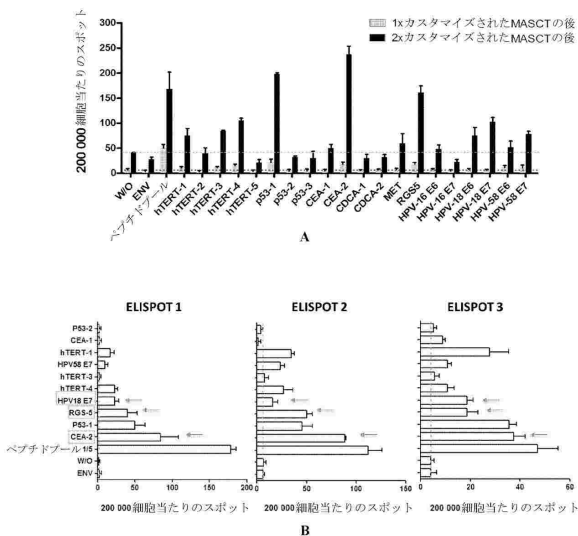
【図 2】

【図 2】



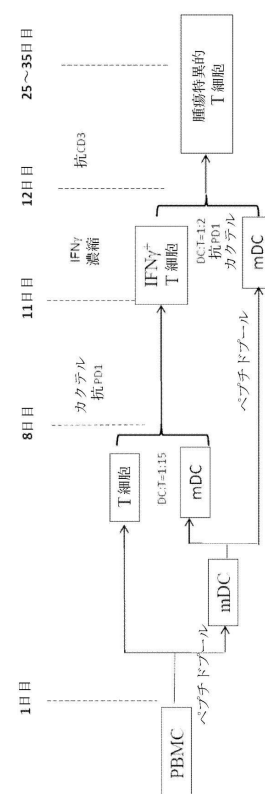
【図 3】

【図 3】



【図 4】

【図 4】



10

20

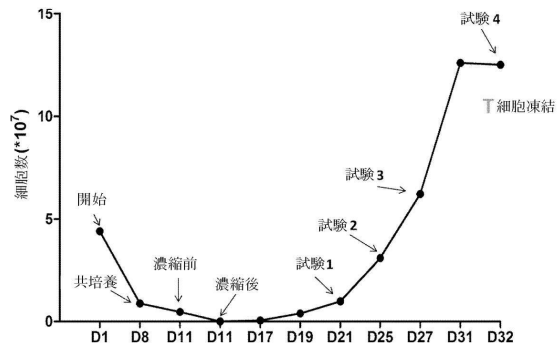
30

40

50

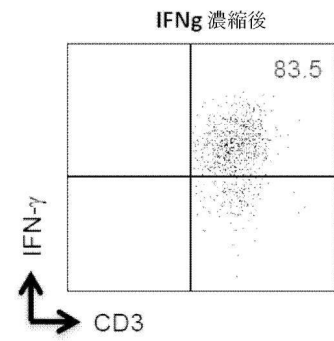
【図 5】

【図 5】



【図 6 A】

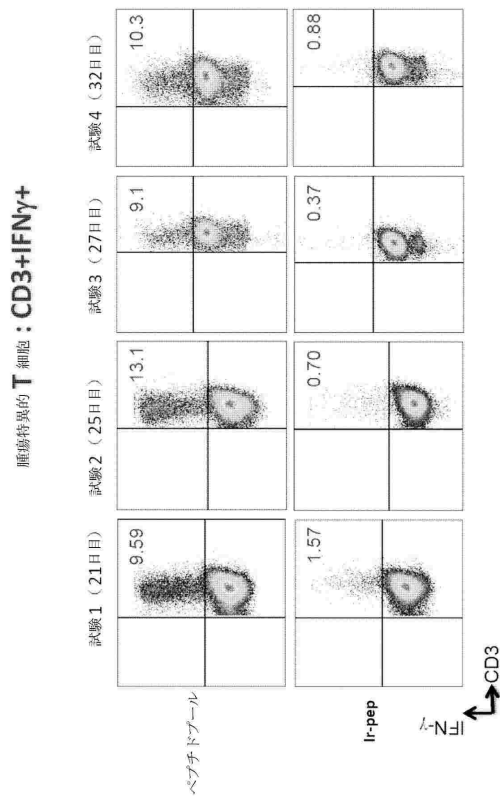
【図 6 A】



10

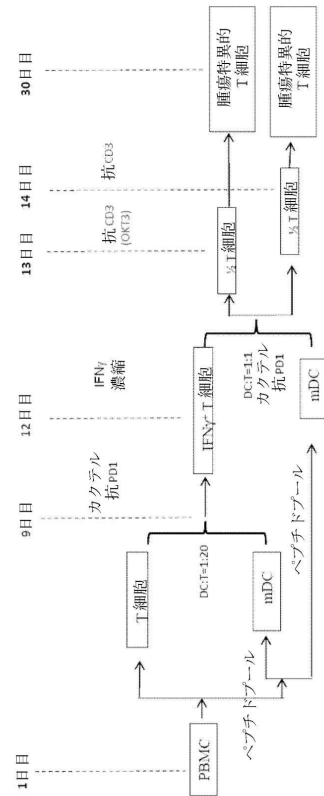
【図 6 B】

【図 6 B】



【図 7】

【図 7】



20

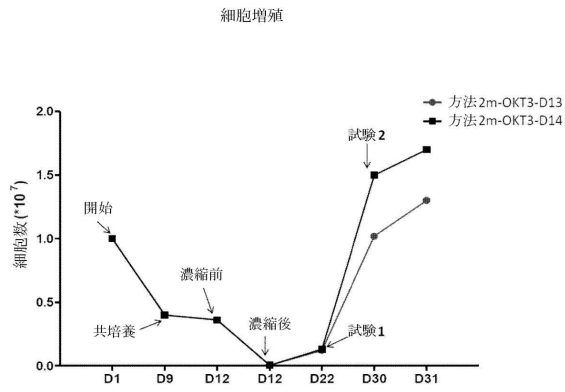
30

40

50

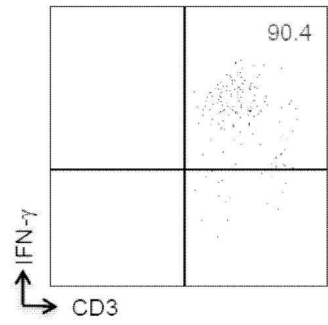
【図 8】

【図 8】



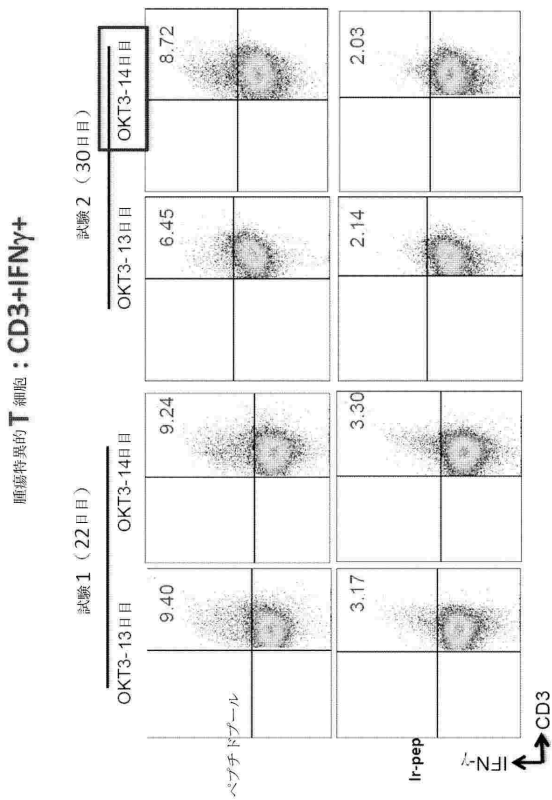
【図 9 A】

【図 9 A】



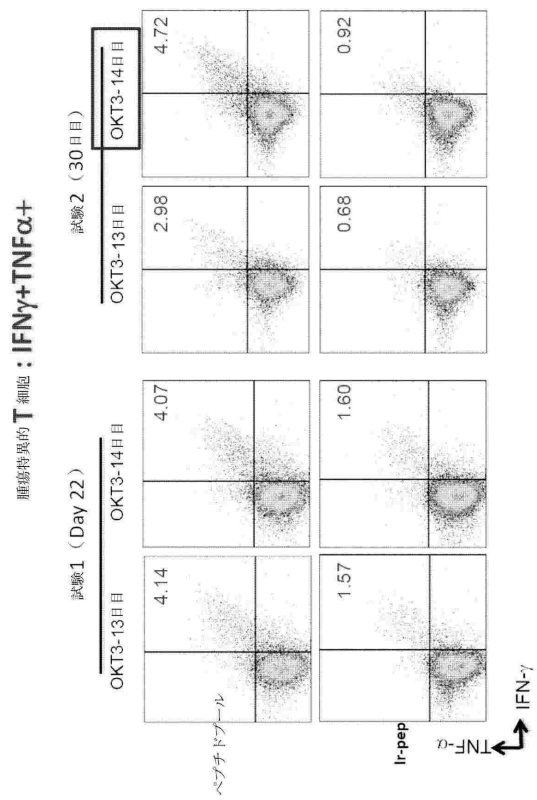
【図 9 B】

【図 9 B】



【図 9 C】

【図 9 C】



10

20

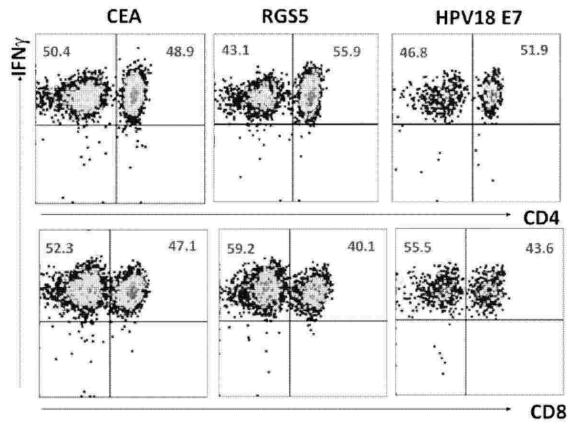
30

40

50

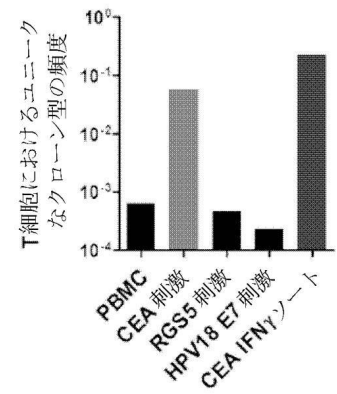
【図 1 0】

【図 1 0】



【図 1 1】

【図 1 1】



10

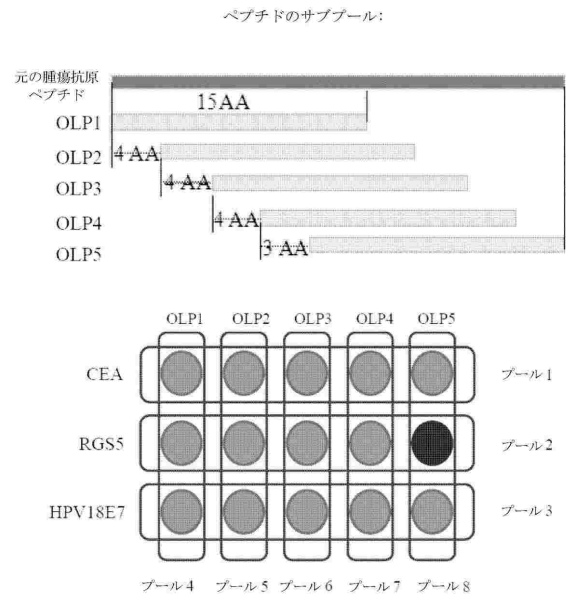
【図 1 2】

【図 1 2】

Ag	TCR	クローン型			共通 X 2	共通 X 3
		T1	T2	T3		
CEA	TCRα	405	415	575	77	6
	TCRβ	392	247	714	62	18
RGS5	TCRα	253	157	584	39	6
	TCRβ	268	344	690	47	10
HPV 18E7	TCRα	144	239	514	20	3
	TCRβ	171	304	561	24	3

【図 1 3】

【図 1 3】



20

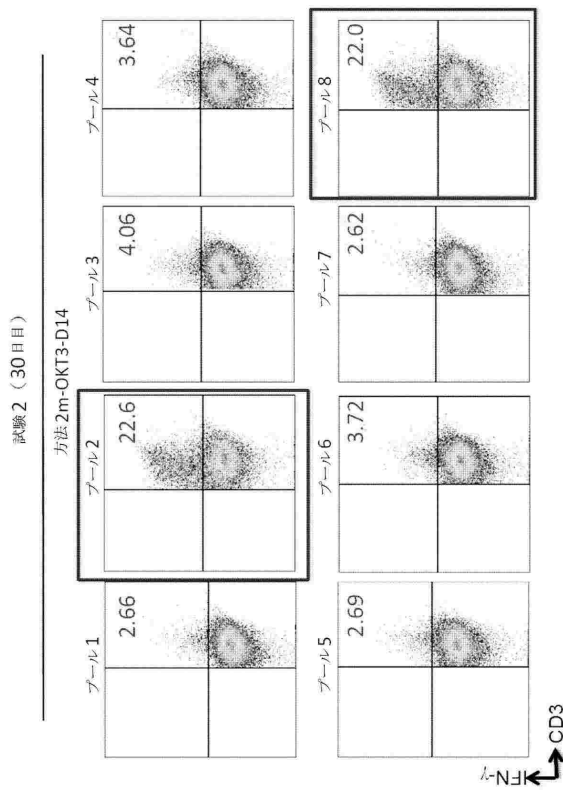
30

40

50

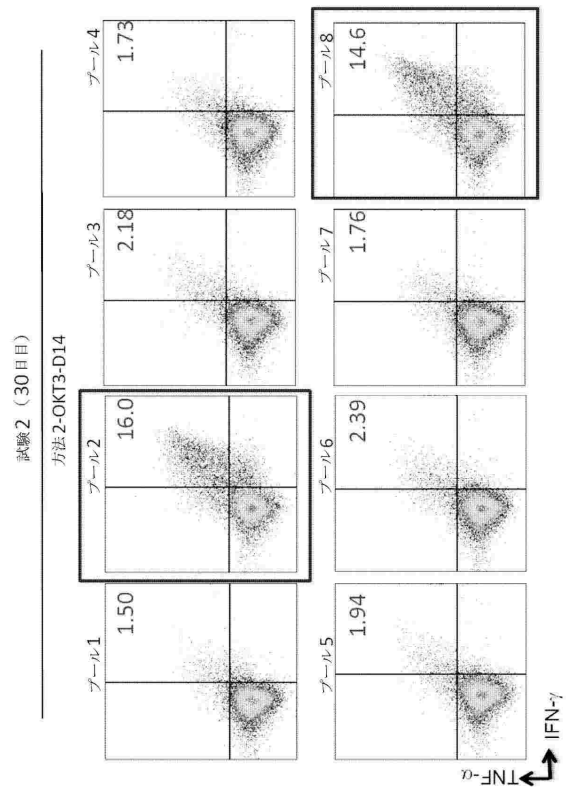
【図 1 4 A】

【図 1 4 A】



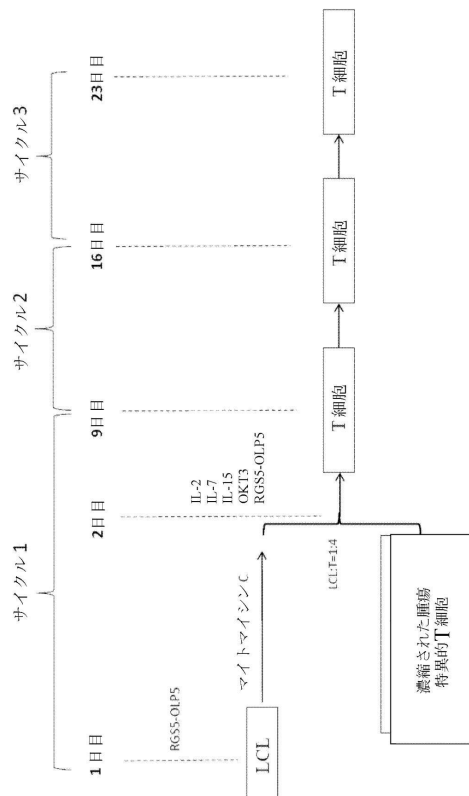
【図 1 4 B】

【図 1 4 B】



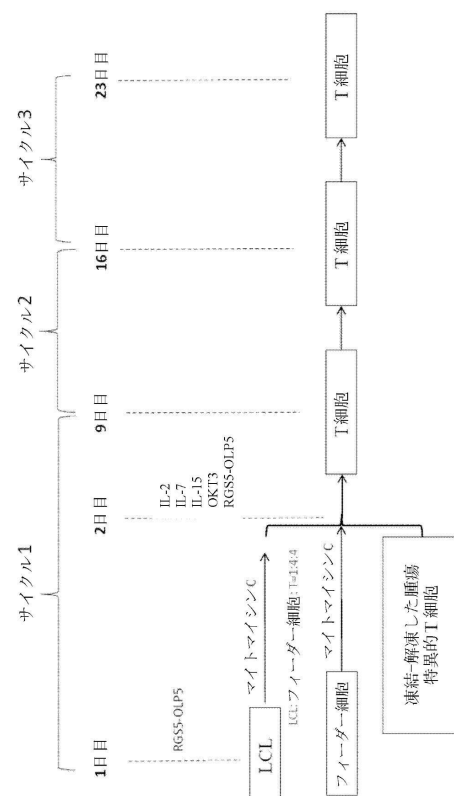
【図 1 5 A】

【図 1 5 A】



【図 1 5 B】

【図 1 5 B】



10

20

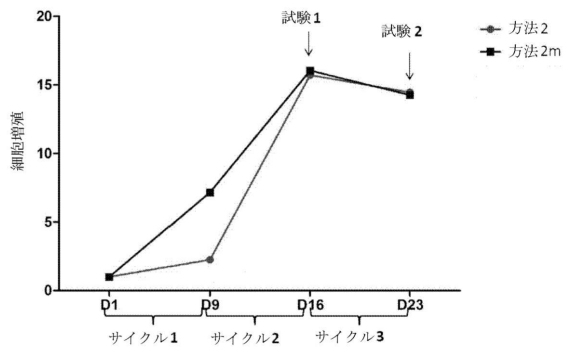
30

40

50

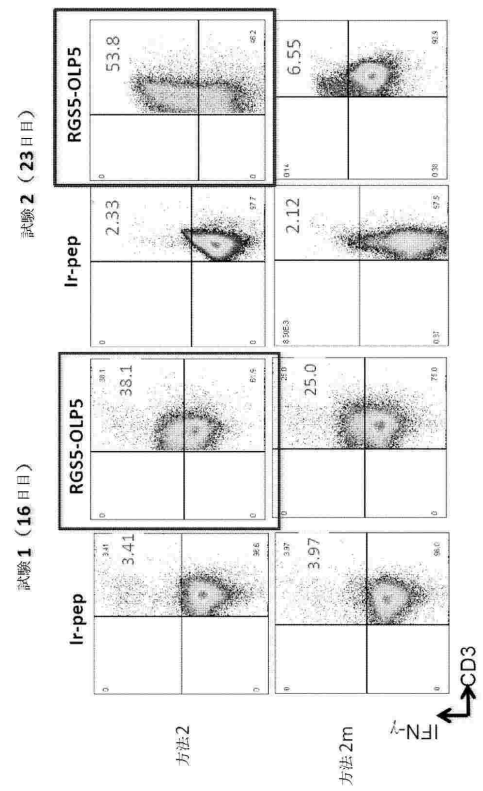
【図 16】

【図 16】



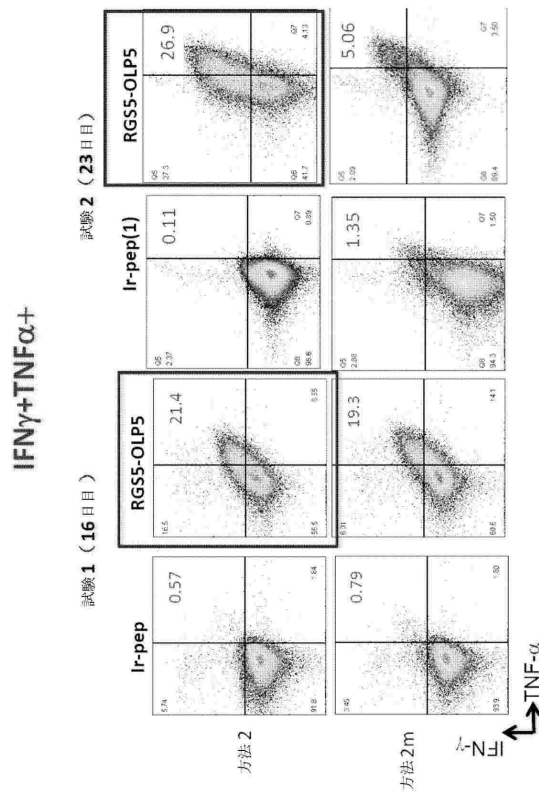
【図 17 A】

【図 17 A】

CD3+IFN γ +

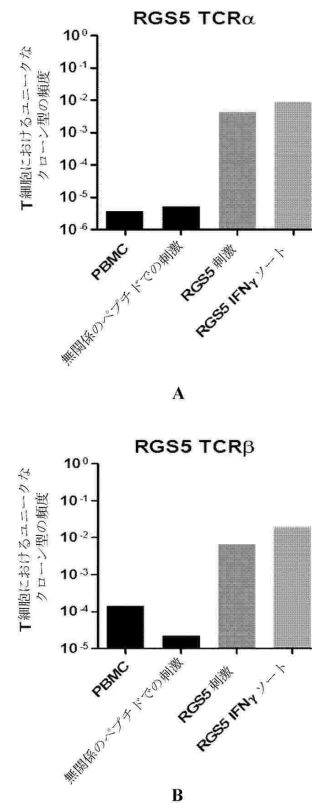
【図 17 B】

【図 17 B】



【図 18】

【図 18】



10

20

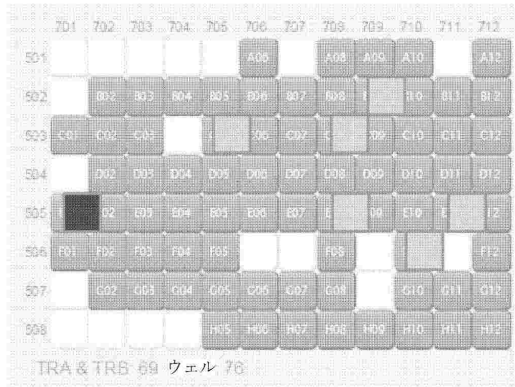
30

40

50

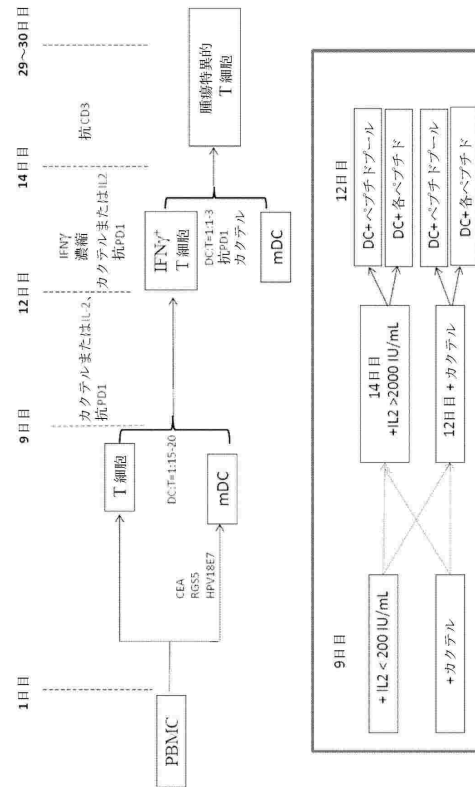
【図 19】

【図 19】



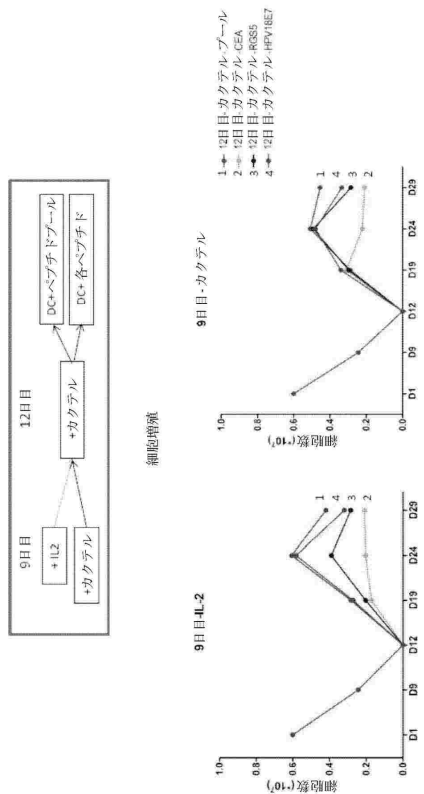
【図 20】

【図 20】



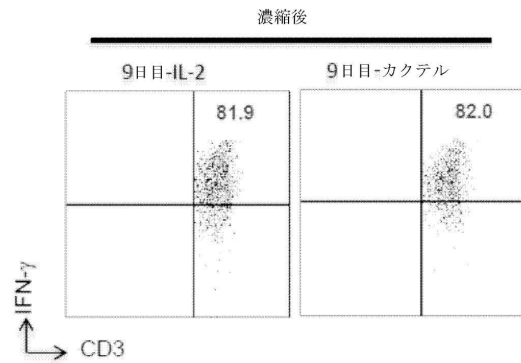
【図 21 A】

【図 21 A】



【図 21 B】

【図 21 B】



10

20

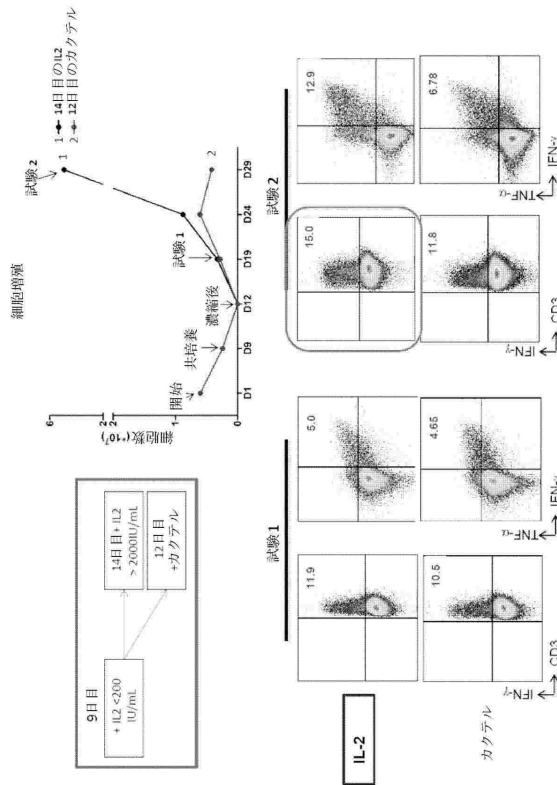
30

40

50

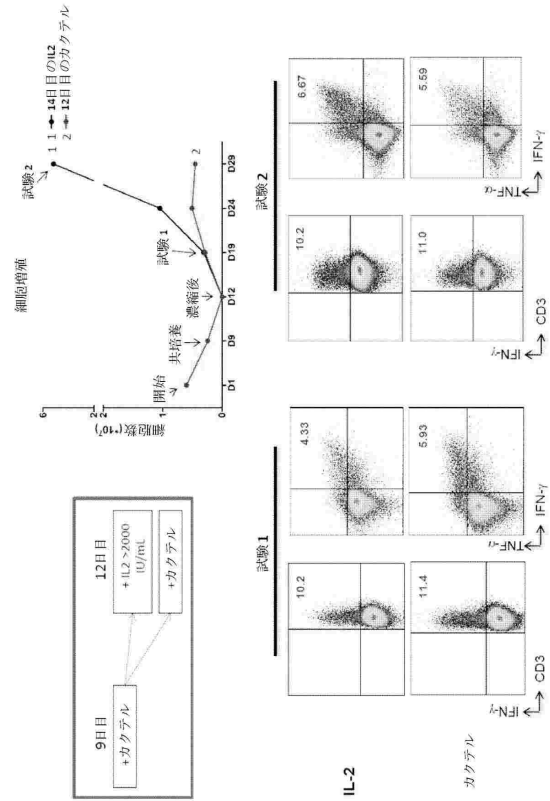
【図 2 2 A】

【図 2 2 A】



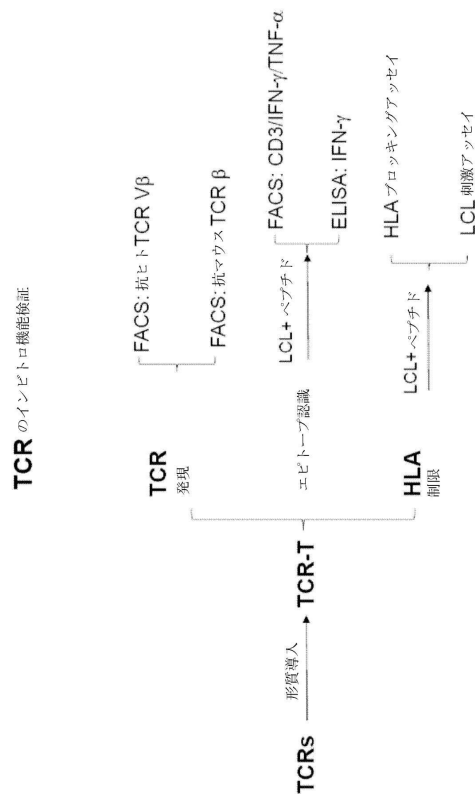
【図 2 2 B】

【図 2 2 B】



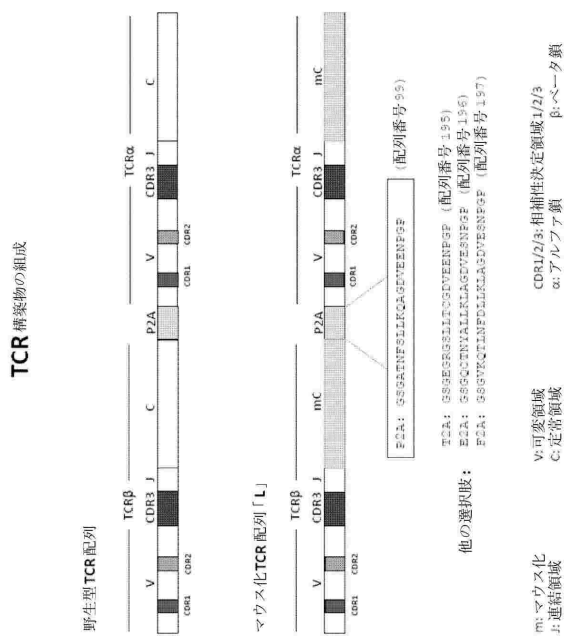
【図 2 3】

【図 2 3】



【図 2 4】

【図 2 4】



10

20

30

40

50

【図 2 5 A】

【図 2 5 A】

抗原	エピトープ	HLA 制限	TCR ID	TCR クローン	TCRβ			TCRα			配列番号 (アミノ酸)	配列番号 (残基)	
					Vβ	Jβ	Cβ	Vα	Jα	Cα			
P G S S	16~30 位 AKENKI KLGLL (親和性)	HLA- DPA1*02:03 DPB1*03:01	09B03	6	TRBV30*01	TRBJ2-2*01	Cβ2	PJA	TRAV16*01	TRAJ13*01	Ca	143	144
			09B03-L		TRBV30*01	TRBJ2-2*01	mCβ1	PJA	TRAV16*01	TRAJ13*01	mCa	145	146
			P09E06	2	TRBV11-2*01	TRBJ1-1*01	Cβ1	PJA	TRAV26-1*01	TRAJ43*01	Ca	147	148
			P09E06-L		TRBV11-2*01	TRBJ1-1*01	mCβ1	PJA	TRAV26-1*01	TRAJ43*01	mCa	149	150
			09D01	3	TRBV20-1*05	TRBJ2-3*01	Cβ2	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	Ca	151	152
			09D01-L		TRBV20-1*05	TRBJ2-3*01	mCβ1	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	mCa	153	154
			09D01N		TRBV20-1*05	TRBJ2-3*01	Cβ2	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	Ca	155	156
			09D01-L		TRBV20-1*05	TRBJ2-3*01	mCβ1	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	mCa	157	158
			09H06	4	TRBV20-1*05	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	Ca	159	160
			09H06-L		TRBV20-1*05	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	mCa	161	162
P G S S	1~10 位 MKGGL AKENKI KLGLL (親和性)	HLA- DPA1*02:03 DPB1*03:01	09B03	5	TRBV16-5*01	TRBJ1-5*01	Cβ1	PJA	TRAV25*01	TRAJ49*01	Ca	167	168
			09B03-L		TRBV16-5*01	TRBJ1-5*01	mCβ1	PJA	TRAV25*01	TRAJ49*01	mCa	169	170
			09E01		TRBV16-5*01	TRBJ1-5*01	Cβ1	PJA	TRAV25*01	TRAJ49*01	Ca	167	168
			09E01-L		TRBV16-5*01	TRBJ1-5*01	mCβ1	PJA	TRAV25*01	TRAJ49*01	mCa	169	170
			09H06		TRBV20-1*05	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	Ca	163	164
			09H06-L		TRBV20-1*05	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	mCa	165	166
			09H06N		TRBV20-1*05	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	Ca	163	164
			09H06-L		TRBV20-1*05	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV12-1*01	TRAJ12*01	mCa	165	166
			09E01	5	TRBV16-5*01	TRBJ1-5*01	Cβ1	PJA	TRAV25*01	TRAJ49*01	Ca	167	168
			09E01-L		TRBV16-5*01	TRBJ1-5*01	mCβ1	PJA	TRAV25*01	TRAJ49*01	mCa	169	170

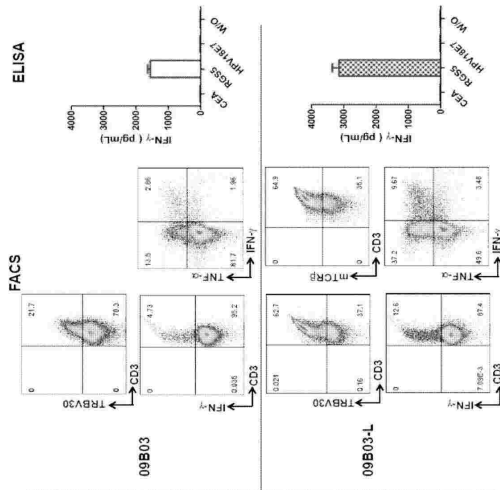
【図 2 5 B】

【図 2 5 B】

遺伝子	エピトープ	HLA 制限	TCR ID	TCR クローン	TCRβ			TCRα			配列番号 (アミノ酸)	配列番号 (残基)	
					Vβ	Jβ	Cβ	Vα	Jα	Cα			
H	80~94 位	HLA-DRB1*03:01 DPB1*03:01 (40/30) 番号834)	33A02	5	TRBV20-1*01	TRBJ2-1*01	Cβ2	PJA	TRAV3-3*02	TRAJ34*01	Ca	171	172
			33A02-L		TRBV20-1*01	TRBJ2-1*01	mCβ1	PJA	TRAV3-3*02	TRAJ34*01	mCa	173	174
			33A02N		TRBV20-1*01	TRBJ2-1*01	Cβ2	PJA	TRAV3-3*02	TRAJ34*01	Ca	175	176
			33A02-L		TRBV20-1*01	TRBJ2-1*01	mCβ1	PJA	TRAV3-3*02	TRAJ34*01	mCa	177	178
			P09B08	1	TRBV19*01	TRBJ2-1*01	Cβ2	PJA	TRAV12-3*01	TRAJ38*01	Ca	179	180
			P09B08-L		TRBV19*01	TRBJ2-1*01	mCβ1	PJA	TRAV12-3*01	TRAJ38*01	mCa	181	182
			10F04	3	TRBV19*01	TRBJ1-4*01	Cβ1	PJA	TRAV12-3*01	TRAJ41*01	Ca	183	184
			10F04-L		TRBV19*01	TRBJ1-4*01	mCβ1	PJA	TRAV12-3*01	TRAJ41*01	mCa	185	186
			09B12	4	TRBV9*01	TRBJ2-7*01	Cβ2	PJA	TRAV9-2*01	TRAJ53*01	Ca	187	188
			09B12-L		TRBV9*01	TRBJ2-7*01	mCβ1	PJA	TRAV9-2*01	TRAJ53*01	mCa	189	190
H	76~105 位	HLA-DRB1*03:01 DPB1*03:01 DCPBLA*03:01 NTLSPV CPWCA SQQ ALVY 番号845)	33D05	6	TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	Ca	191	192
			33D05-L		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	mCa	193	194
			33D05N		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	Ca	191	192
			33D05-L		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	mCa	193	194
			33D05		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	Ca	191	192
			33D05-L		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	mCa	193	194
			33D05N		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	Ca	191	192
			33D05-L		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	mCa	193	194
			33D05		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	Cβ2	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	Ca	191	192
			33D05-L		TRBV7-6*01	TRBJ2-5*01	mCβ1	PJA	TRAV8-2*01	TRAJ31*01	mCa	193	194

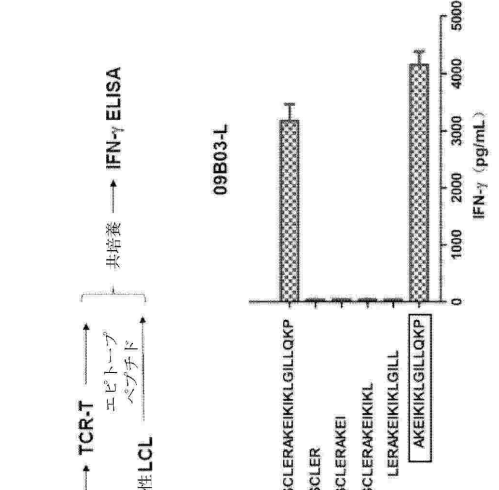
【図 2 6 A】

【図 2 6 A】



【図 2 6 B】

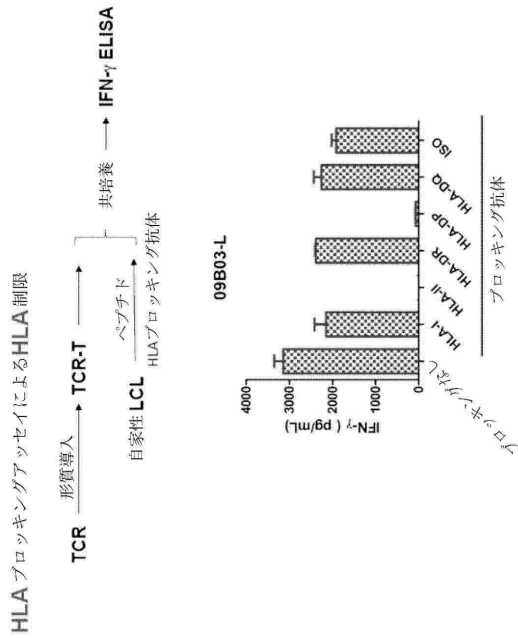
【図 2 6 B】



結論： 09B03-L はエピトープAKEIKILGILQKP (RGS5:16-30)を認識する。

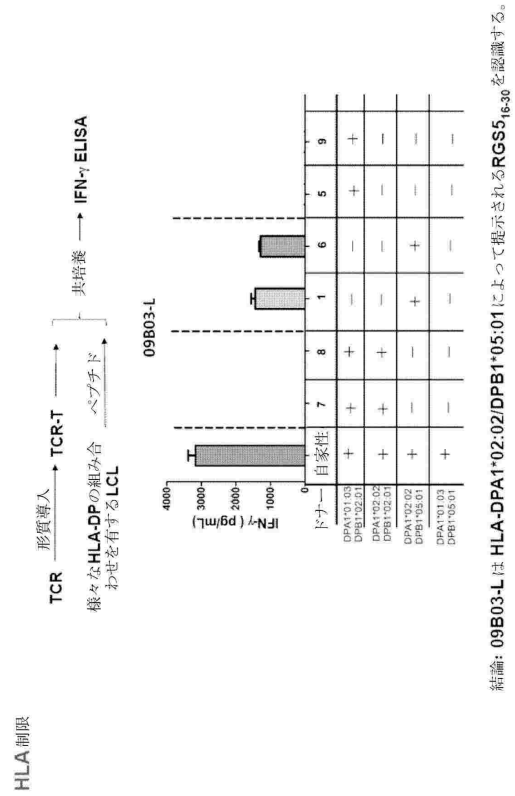
【図 2 6 C】

【図 2 6 C】



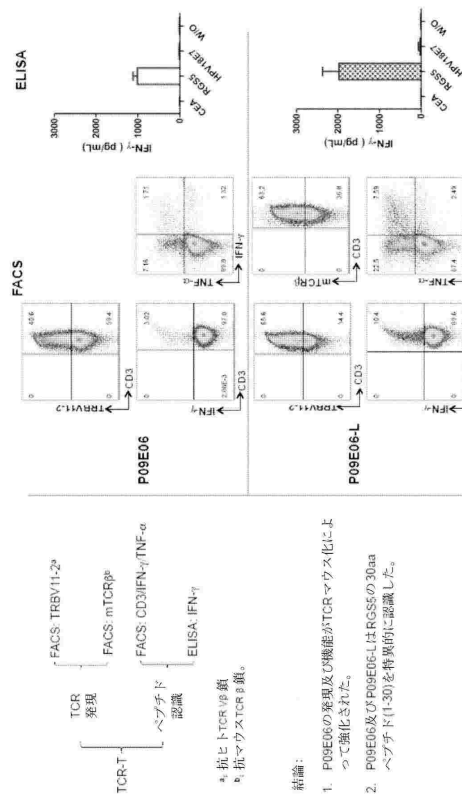
【図 2 6 D】

【図 2 6 D】



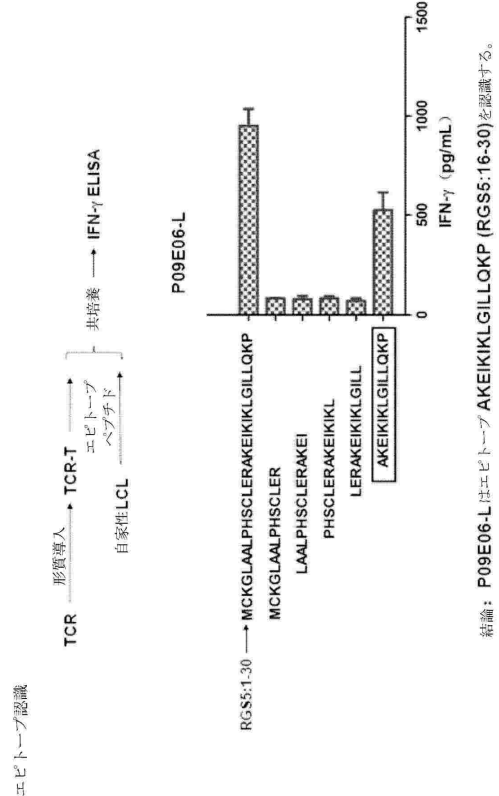
【図 2 7 A】

【図 2 7 A】



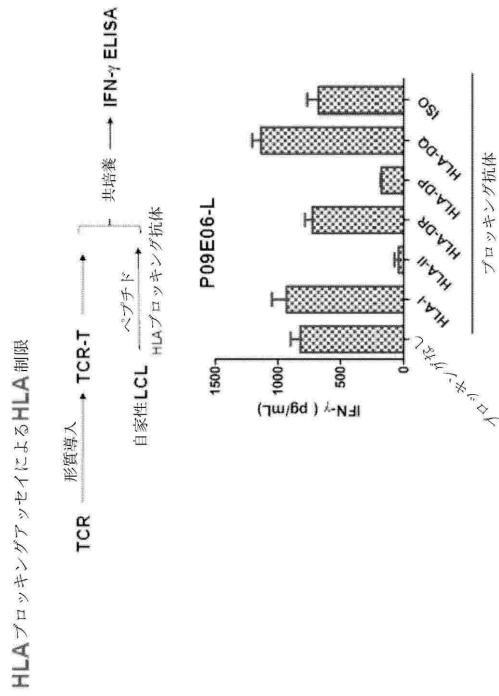
【図 2 7 B】

【図 2 7 B】



【図 2 7 C】

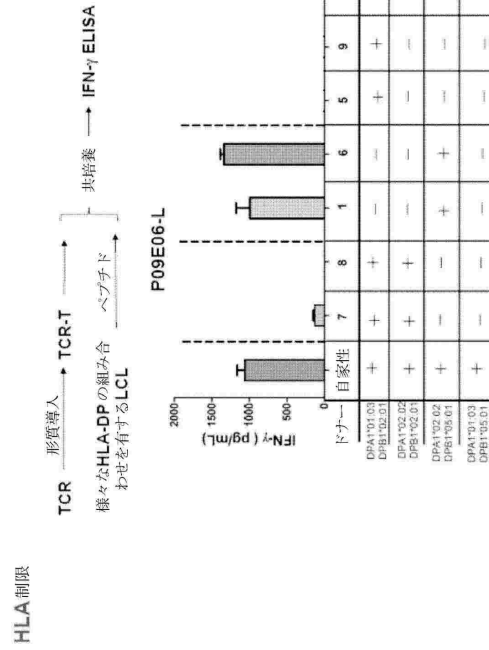
【図 2 7 C】



結論：P09E06-LはHLA-DPに制限される。

【図 2 7 D】

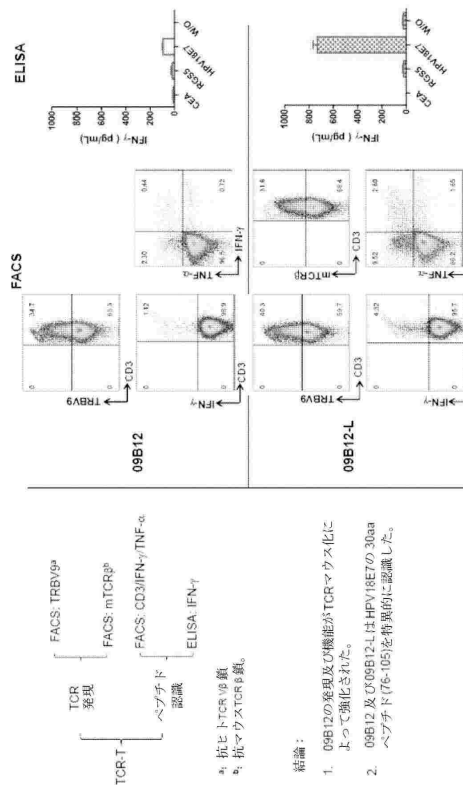
【図 2 7 D】



結論：P09E06-LはHLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01によって提示されるRGSS5₁₆₋₃₀を認識する。

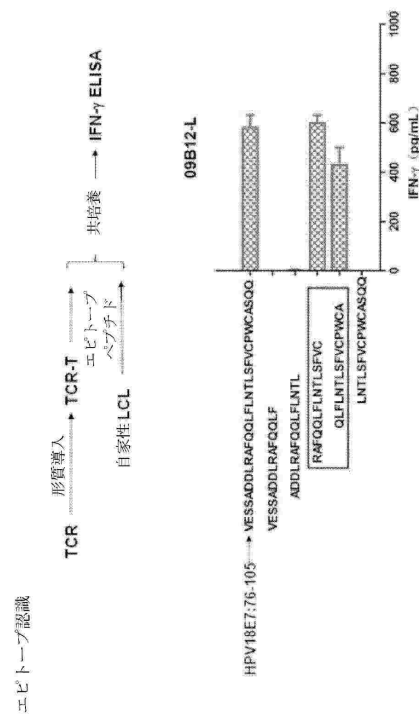
【図 2 8 A】

【図 2 8 A】



【図 2 8 B】

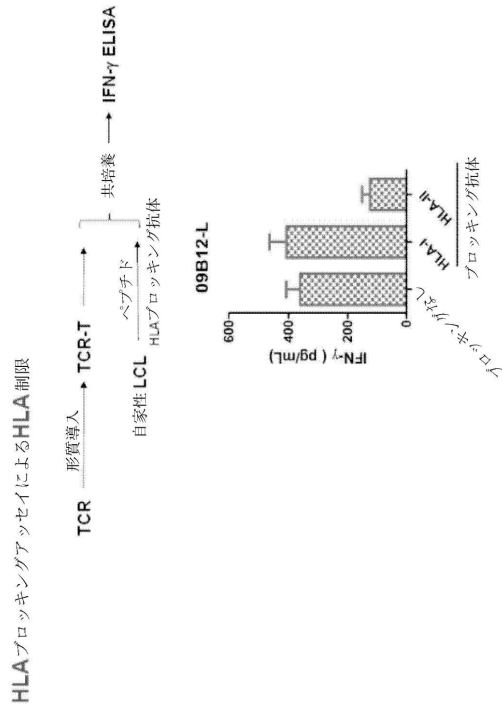
【図 2 8 B】



結論：09B12-Lはエпитープ RAFAQQLFLNTLSFVCPWCA (HPV18E7:84-102)を認識する。

【図 28 C】

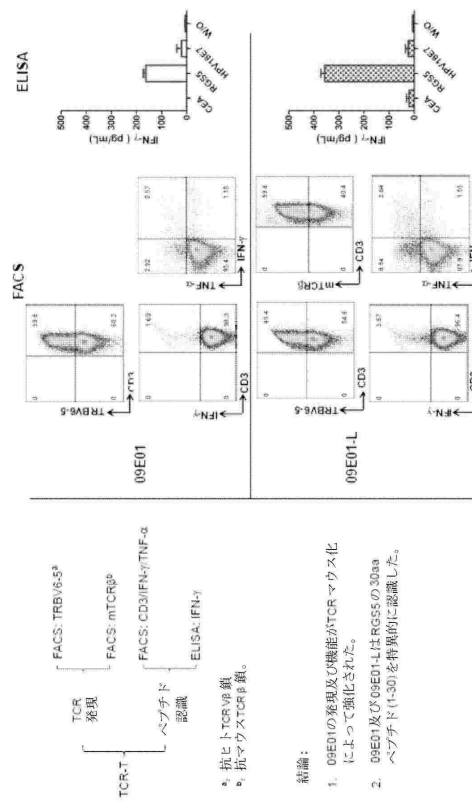
【図 28 C】



結論: 09B12-LはHLA-IIに制限される。

【図 29 A】

【図29A】

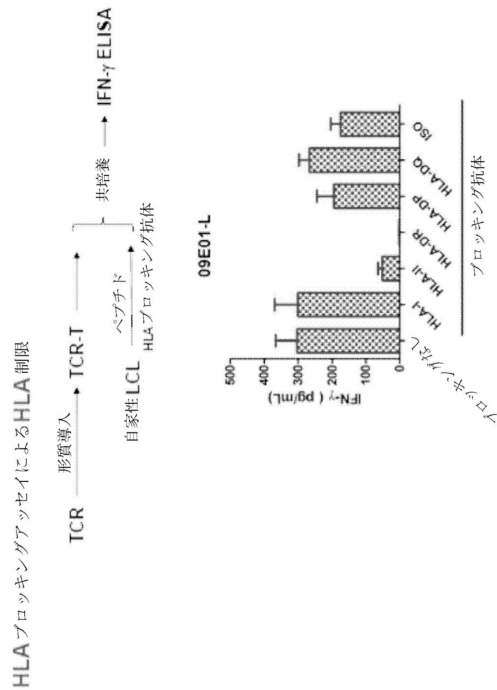


結論:

1. 09E01の発現及び機能がTCRマウス化によって強化された。
2. 09E01及び09E01-LはRG55の30aaペプチド(1-30)を特異的に認識した。

【図 29 B】

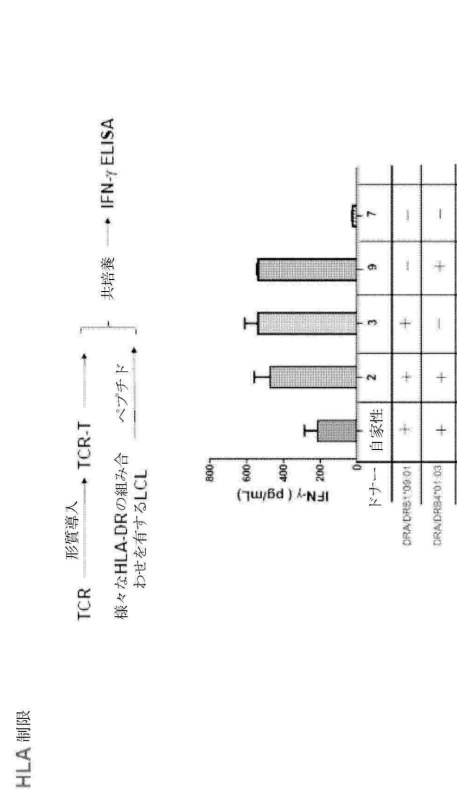
【図 29 B】



結論：09E01-LはHLA-DRに制限される。

【図 29 C】

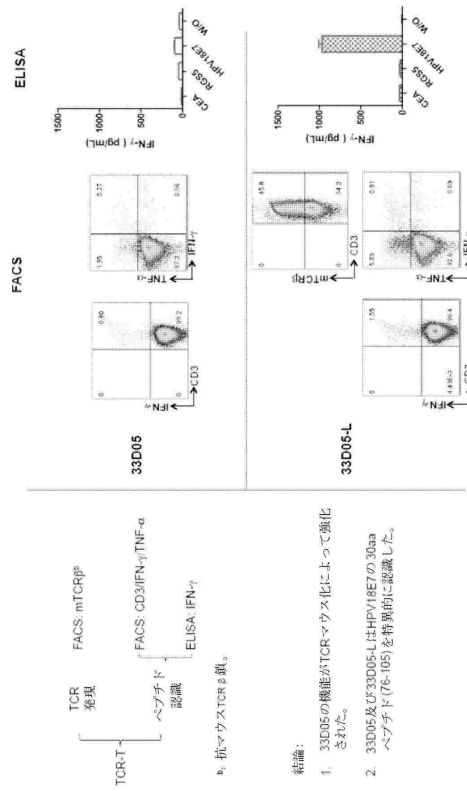
【図 29 C】



結論: 09E01-LはDRA/DRB1*09:01及びDRA/DRB4*01:03によって提示されるRGSF₁₃₀を認識する。

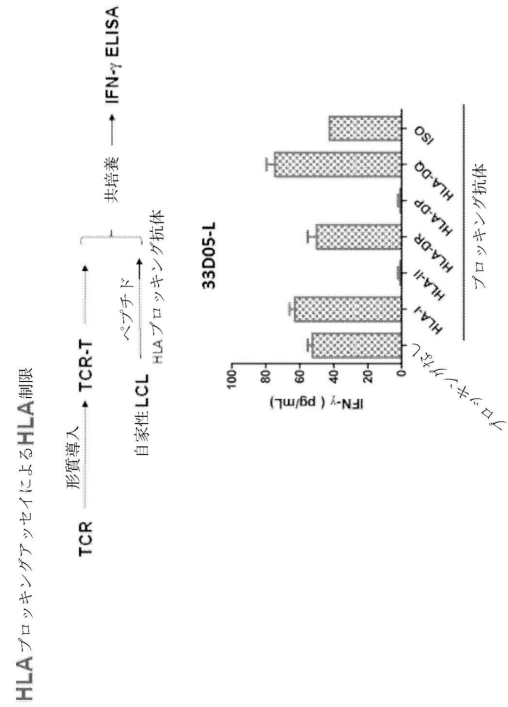
【図 3 1 A】

【図 3 1 A】



【図 3 1 B】

【図 3 1 B】



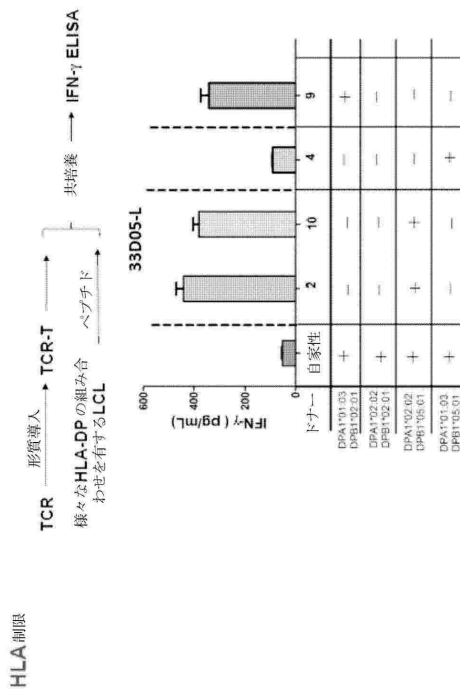
結論: 33D05-LはHLA-DPに制限される。

10

20

【図 3 1 C】

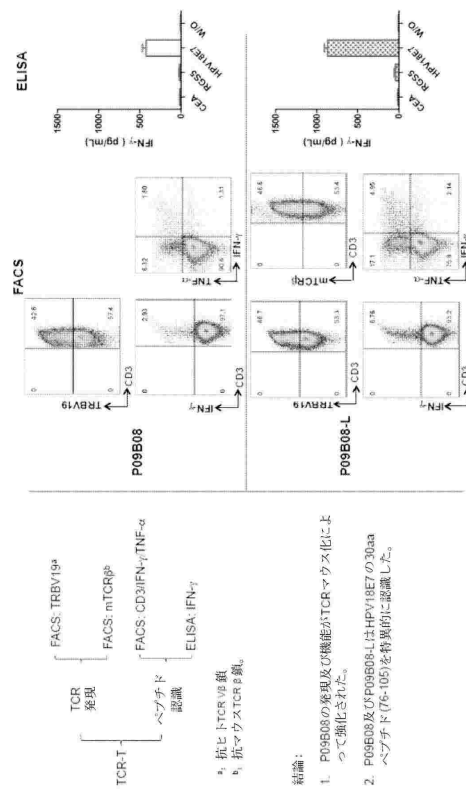
【図 3 1 C】



結論: 33D05-Lは HLA-DPA1*02:02/DPB1*05:01 及び HLA-DPA1*01:03/DPB1*02:01 及び HLA-DPA1*01:03/DPB1*05:01によって提示される HPV18E7₇₆₋₁₀₇を認識する。

【図 3 2 A】

【图 3 2 A】



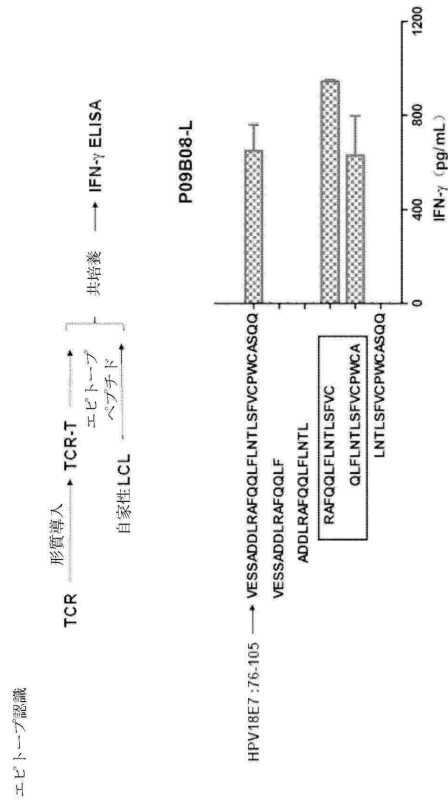
30

40

50

【図 3 2 B】

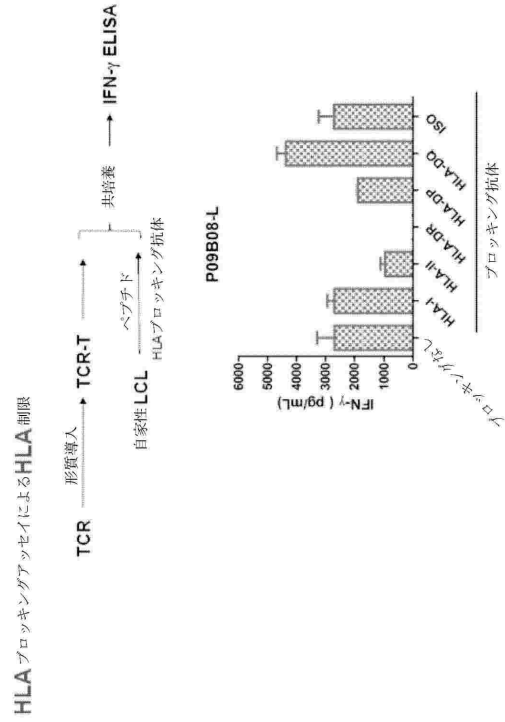
【図 3 2 B】



結論: P09B08-LはエピソードRAFQQLFNLTSFVCPWCA (HPV18E7:84-102)を認識する。

【図 3 2 C】

【图 3 2 C】



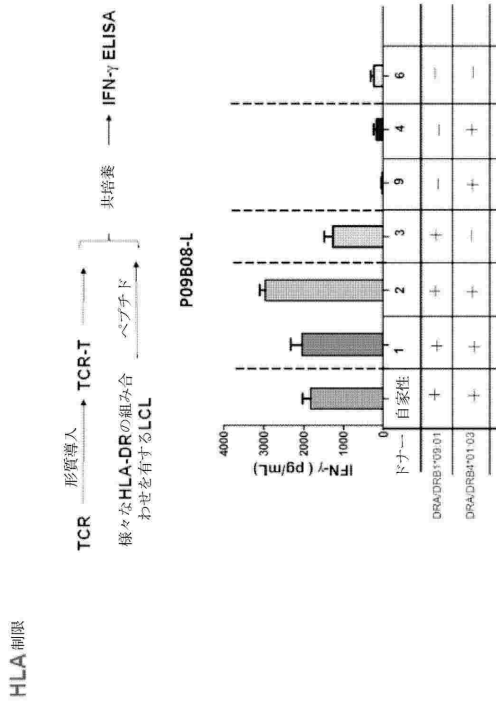
結論: P09B08-LはHLA-DRに制限される。

10

20

【図 3 2 D】

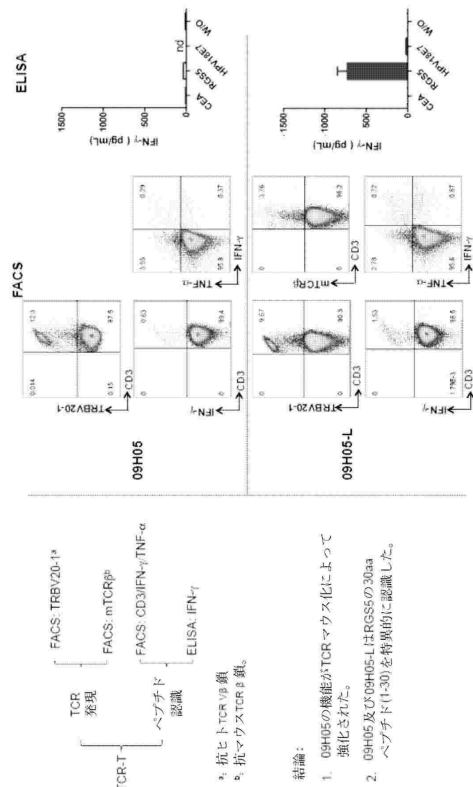
【図 3 2 D】



結論：P09B08-LはDRA/DRB1*09:01によって提示されるHPV18E7_{84,112}を認識する。

【図 3 3 A】

【図 3 3 A】



結論:

1. 09H05の機能がTCRマウス化によって強化された。

2. 09H05及び09H05-LはRGS5の30aaペプチド(1-30)を特異的に認識した。

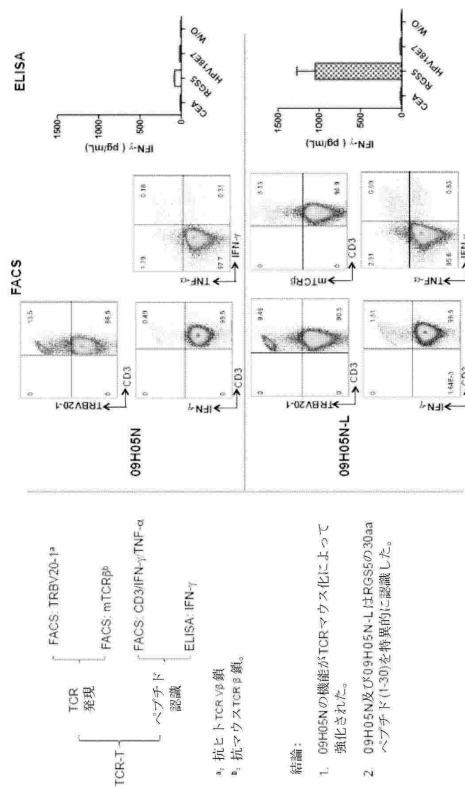
30

40

50

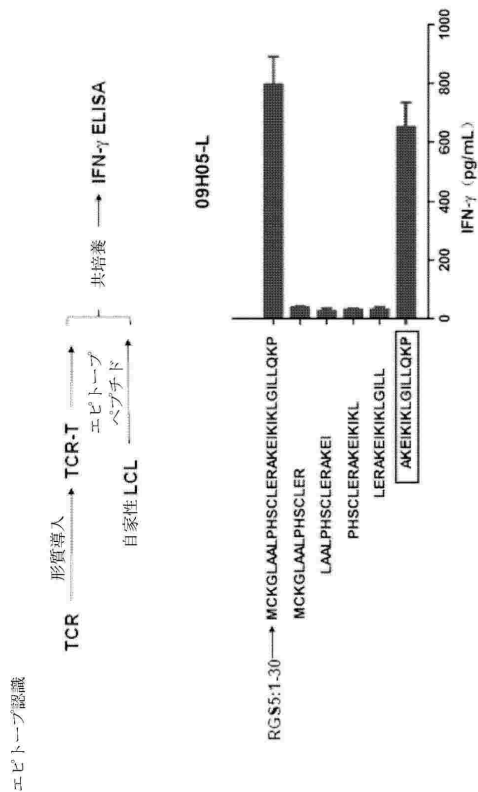
【図 3 3 B】

【図 3 3 B】



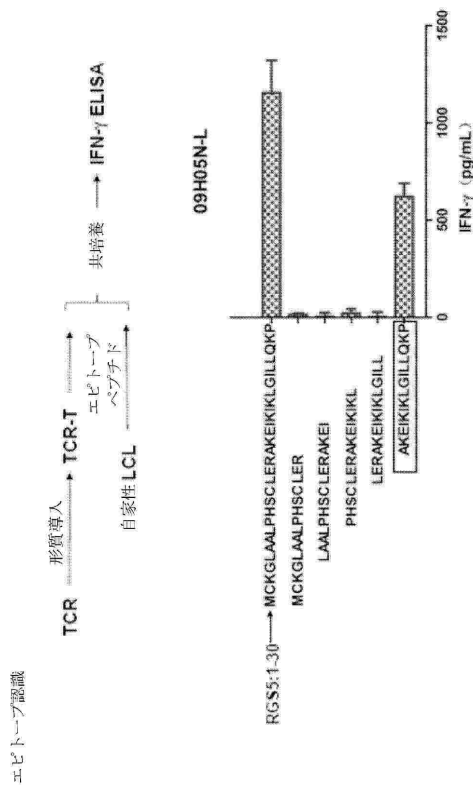
【図 3 3 C】

【図 3 3 C】



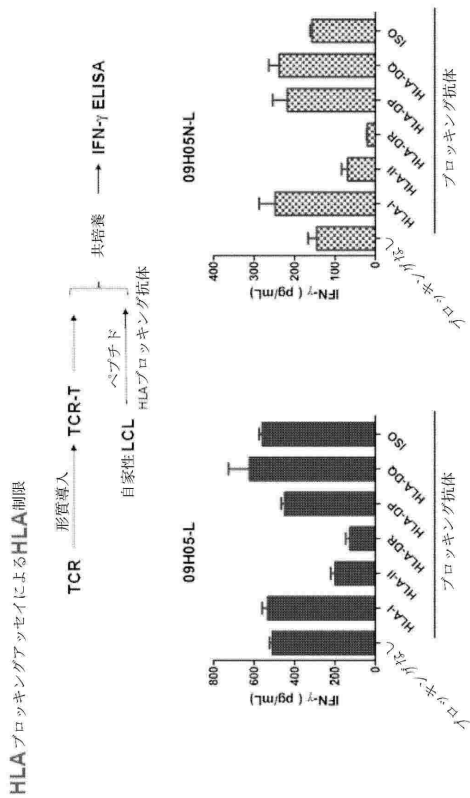
【図 3 3 D】

【図 3 3 D】



【図 3 3 E】

【図 3 3 E】



10

20

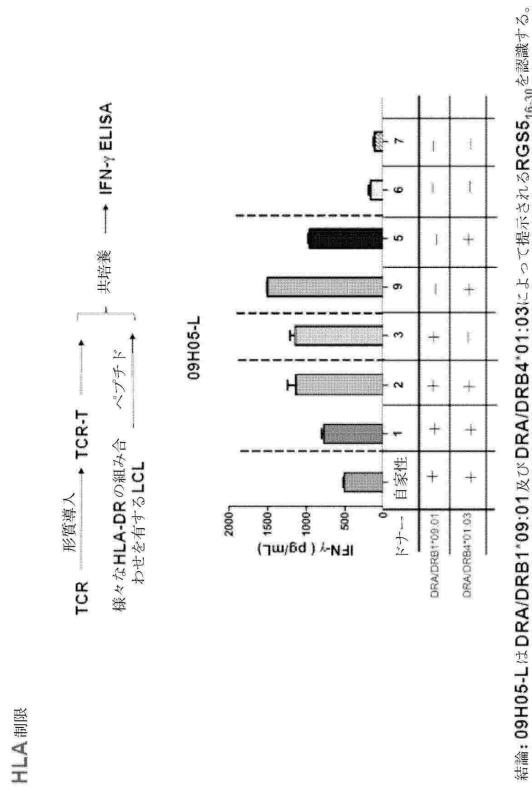
30

40

50

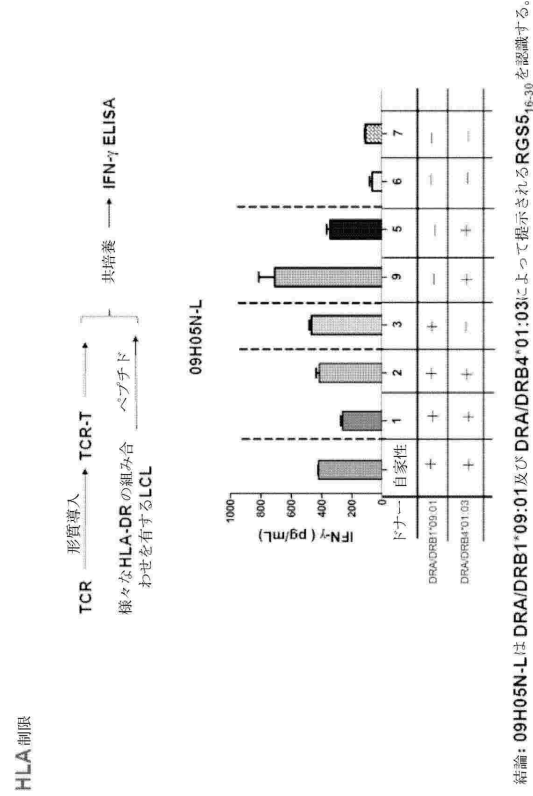
【図 3 3 F】

【図 3 3 F】



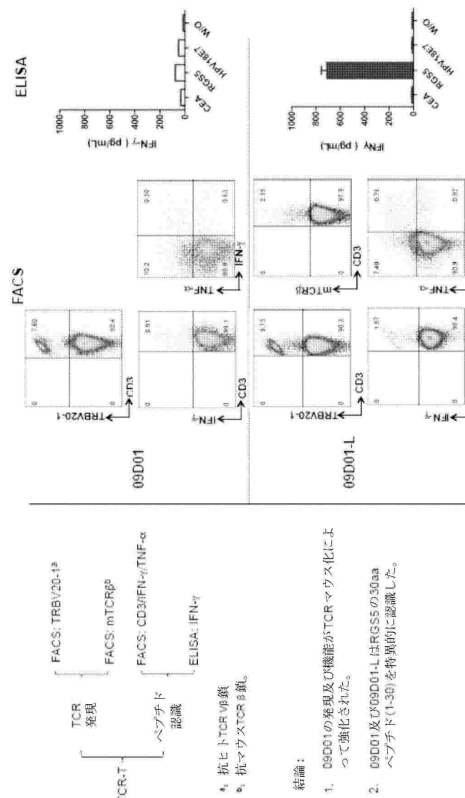
【図 3 3 G】

【図 3 3 G】



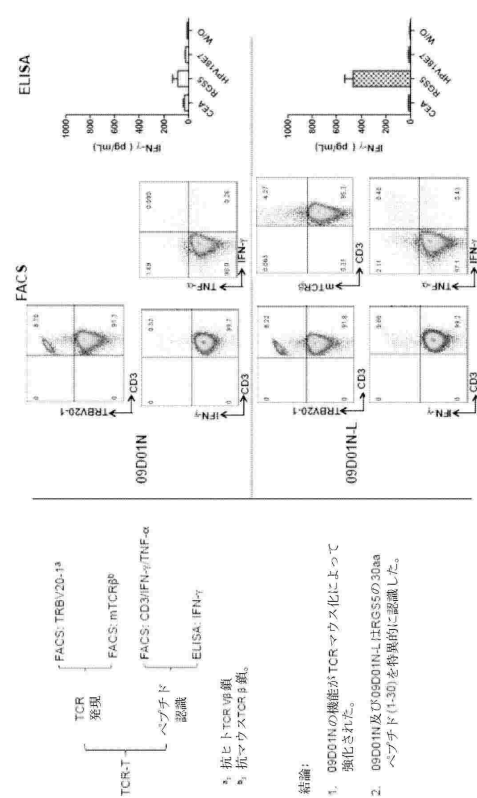
【図 3 4 A】

【図 3 4 A】



【図 3 4 B】

【図 3 4 B】



10

20

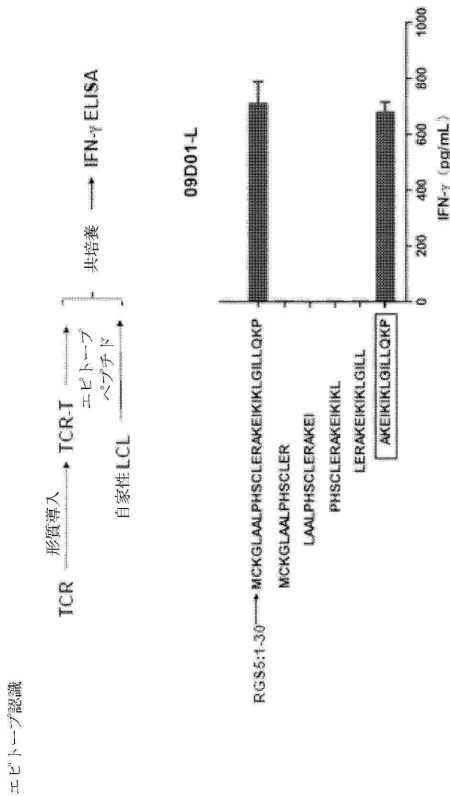
30

40

50

【図 3 4 C】

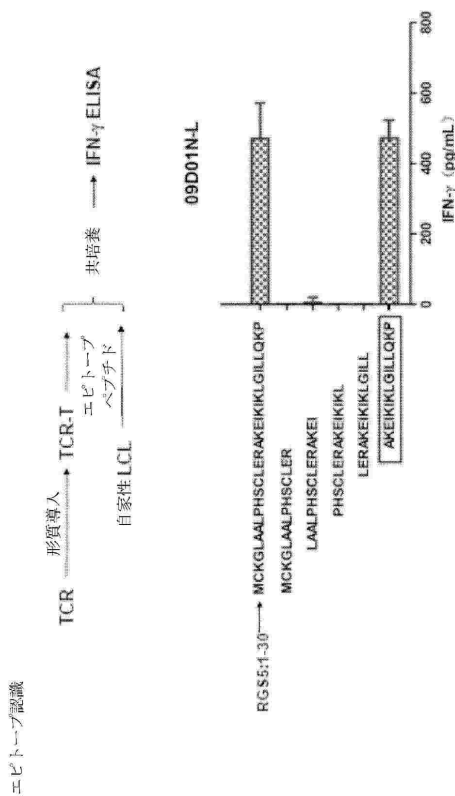
【図 3 4 C】



結論: 09D01-L はエピトープ AKEIKILGILLOKP (RG55:16-30) を認識する。

【図 3 4 D】

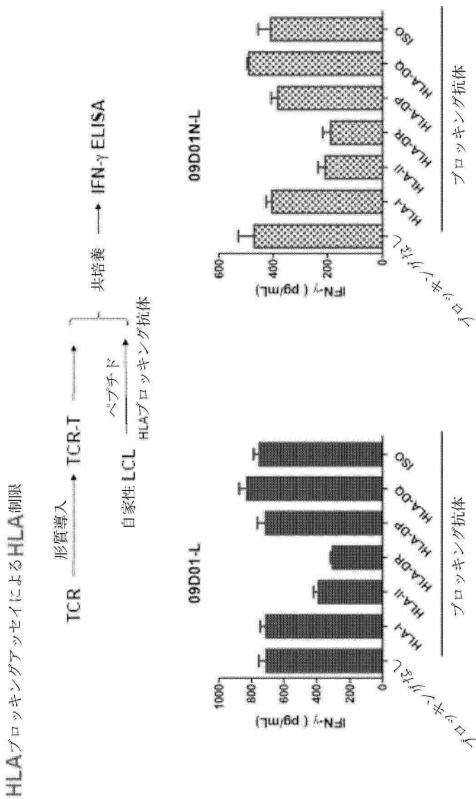
【図 3 4 D】



結論: 09D01N-L はエピトープ AKEIKILGILLOKP (RG55:16-30) を認識する。

【図 3 4 E】

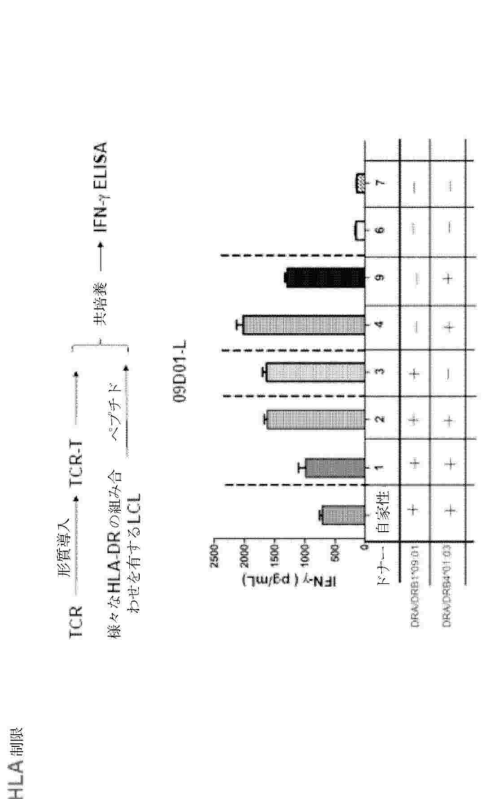
【図 3 4 E】



結論: 09D01-L 及び 09D01N-L は HLA-DR に制限される。

【図 3 4 F】

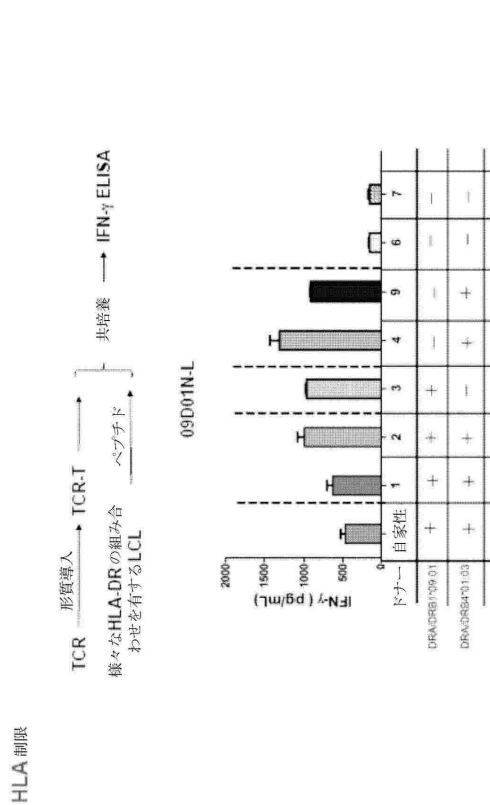
【図 3 4 F】



結論: 09D01-L は DRA*DRB1*09:01 及び DRA*DRB4*01:03 によって提示される RG55₁₆₋₃₀ を認識する。

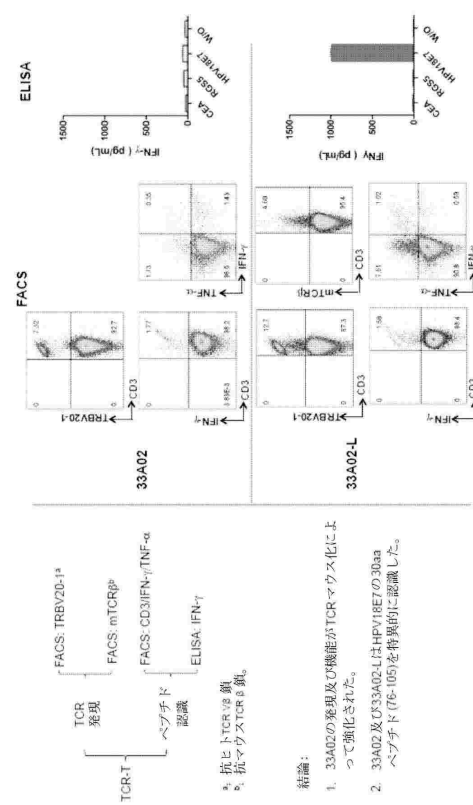
【図 3 4 G】

【図 3 4 G】



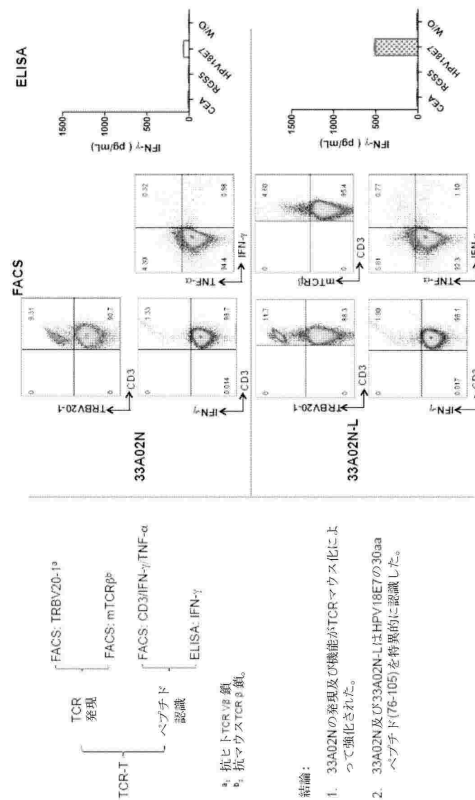
【図 3 5 A】

【図 3 5 A】



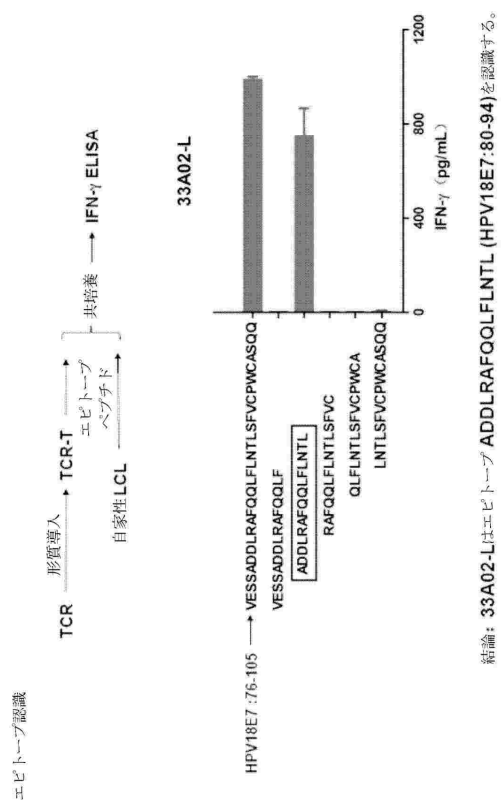
【図 3 5 B】

【図 3 5 B】



【図 3 5 C】

【図 3 5 C】



10

20

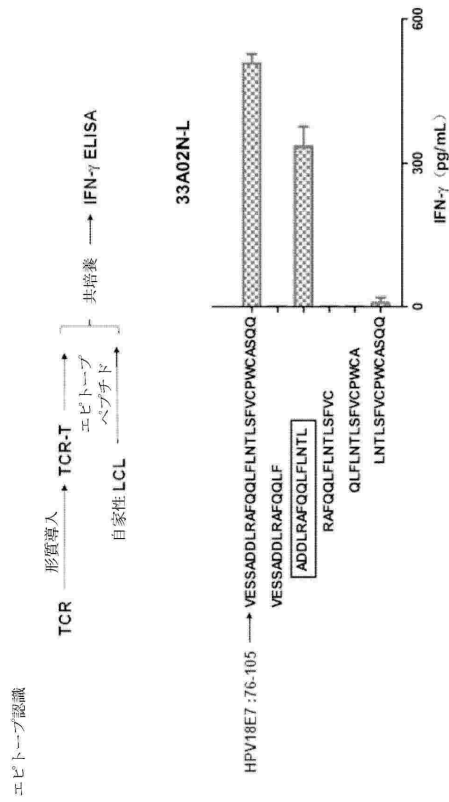
30

40

50

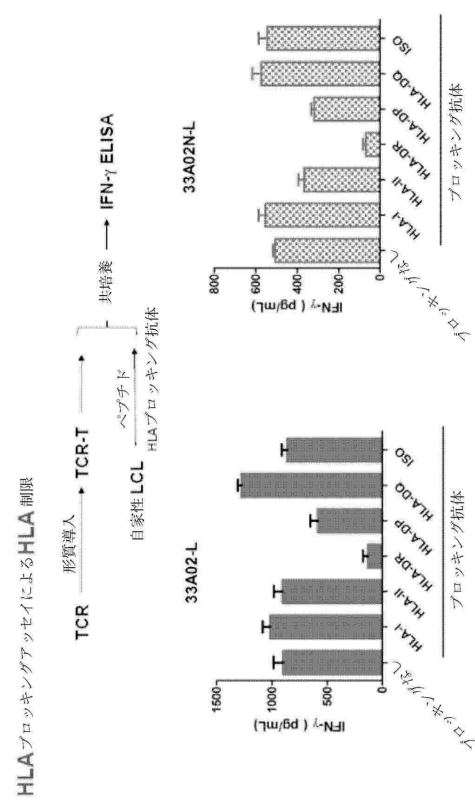
【図 3 5 D】

【図 3 5 D】



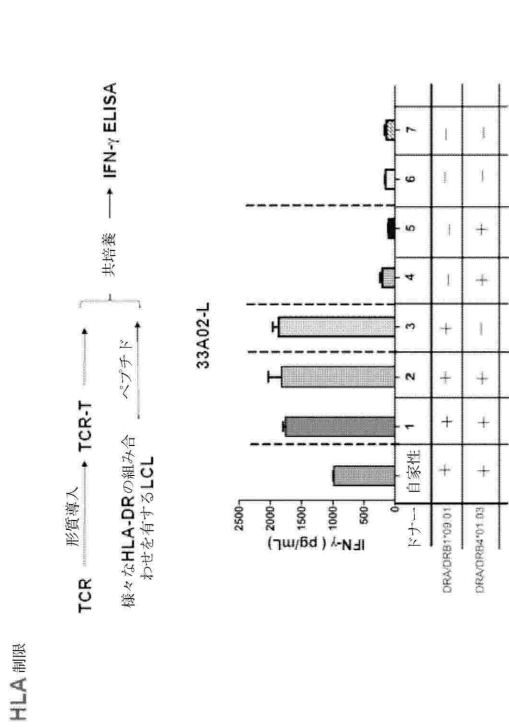
【図 3 5 E】

【図 3 5 E】



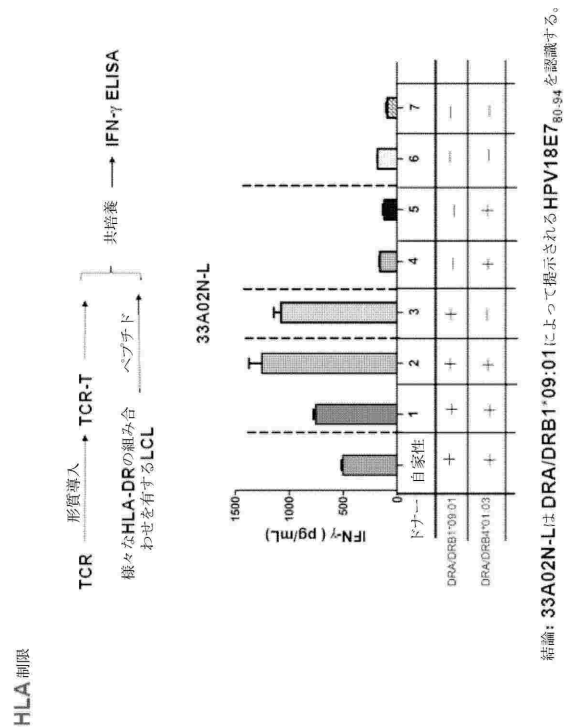
【図 3 5 F】

【図 3 5 F】



【図 3 5 G】

【図 3 5 G】



10

20

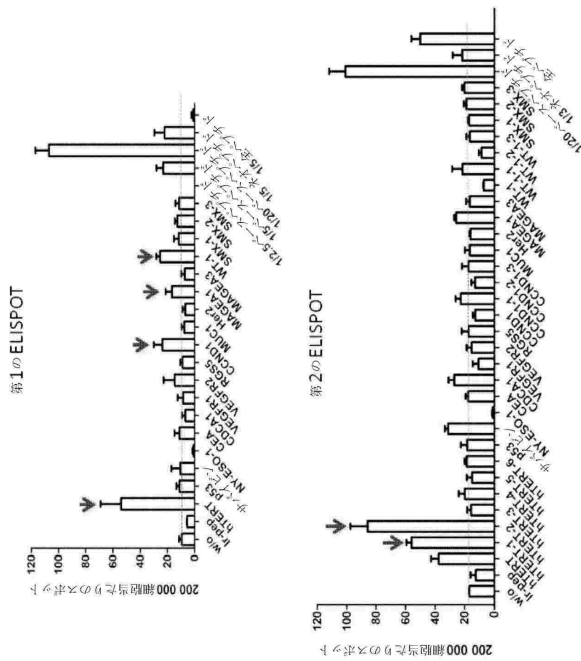
30

40

50

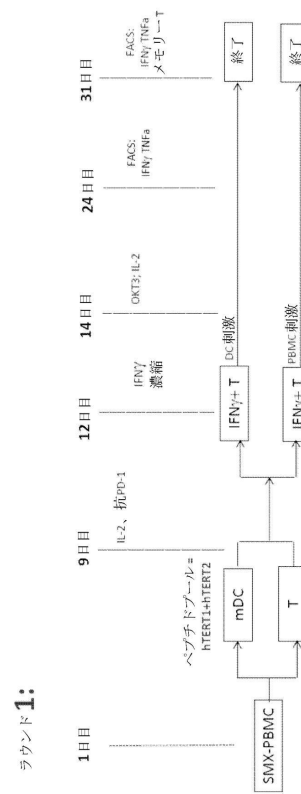
【図 3 6】

【図 3 6】



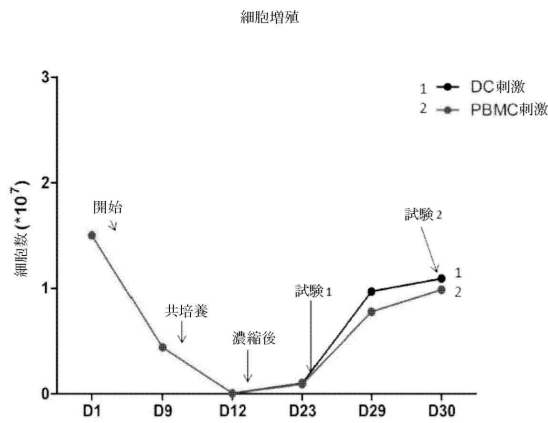
【図 3 7】

【図 3 7】



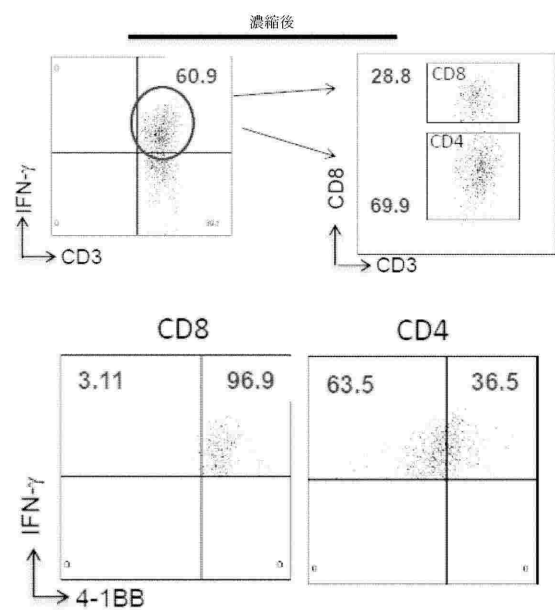
【図 3 8 A】

【図 3 8 A】



【図 3 8 B】

【図 3 8 B】



10

20

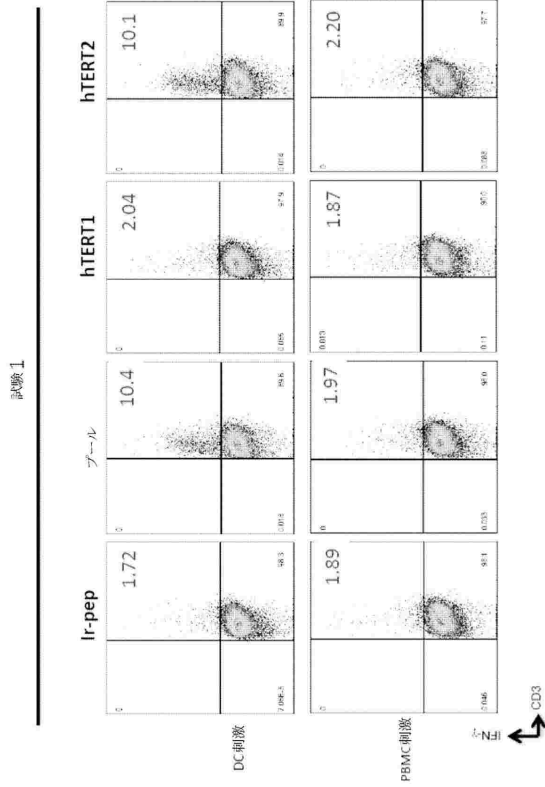
30

40

50

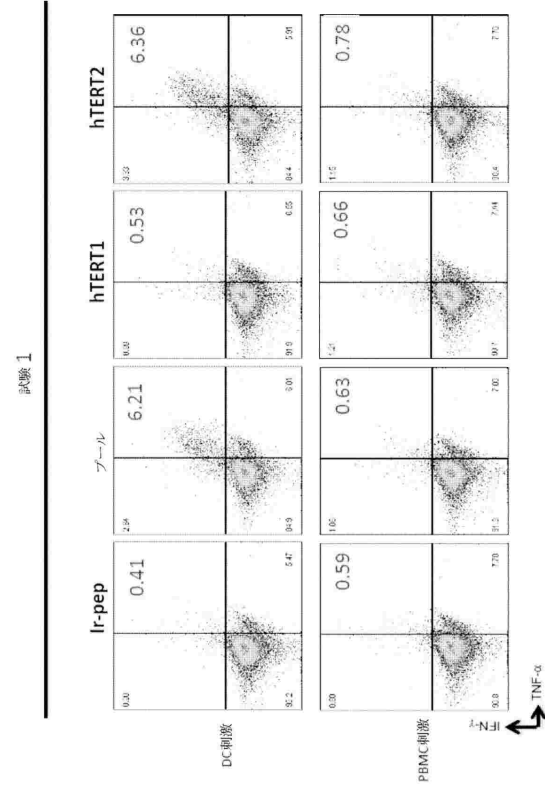
【図 3 9 A】

【図 3 9 A】



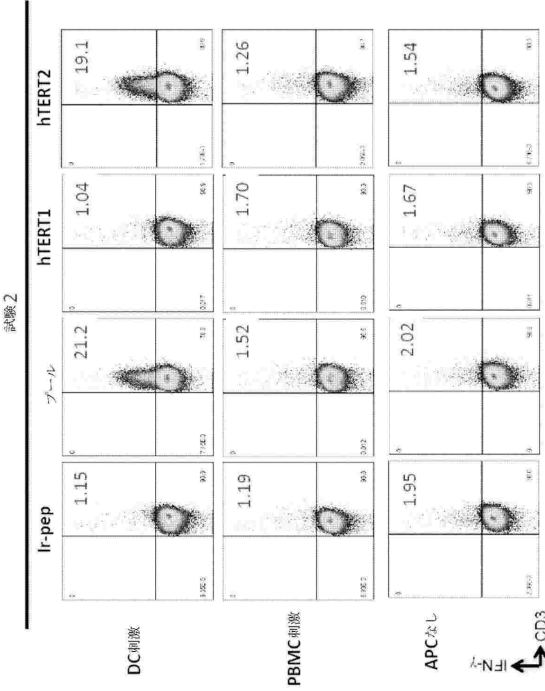
【図 3 9 B】

【図 3 9 B】



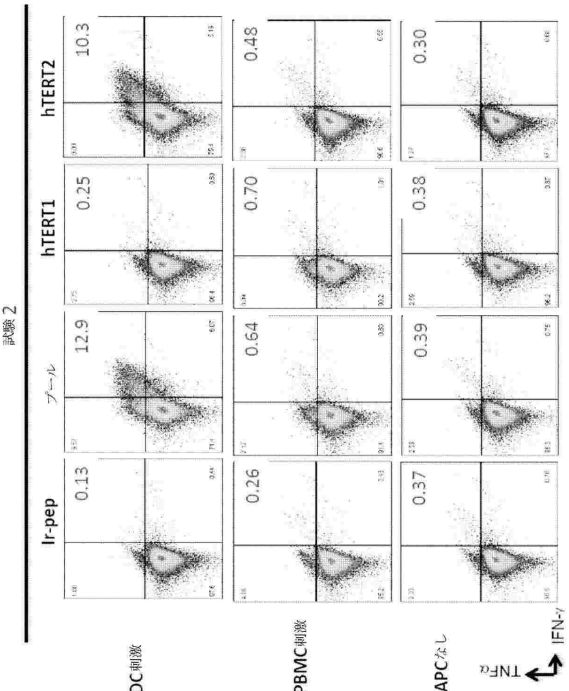
【図 3 9 C】

【図 3 9 C】



【図 3 9 D】

【図 3 9 D】



10

20

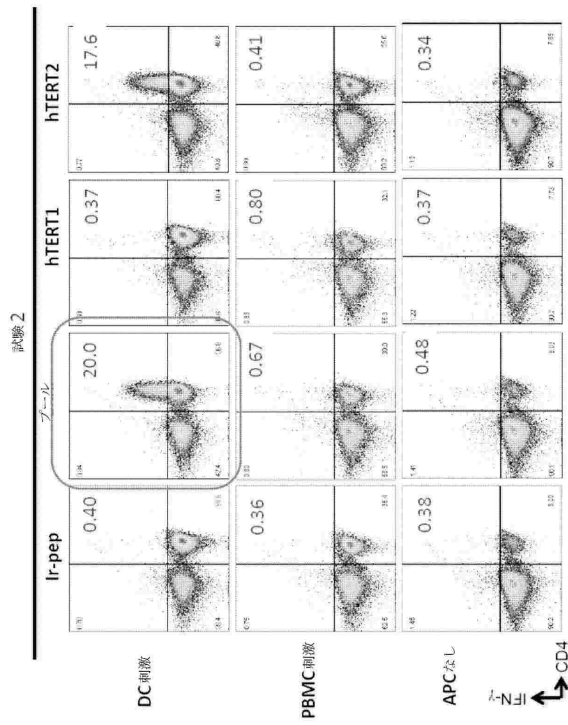
30

40

50

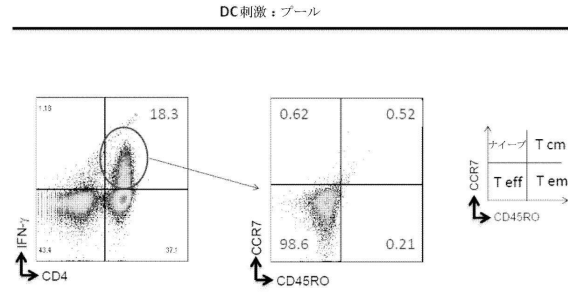
【図 3 9 E】

【図 3 9 E】



【図 3 9 F】

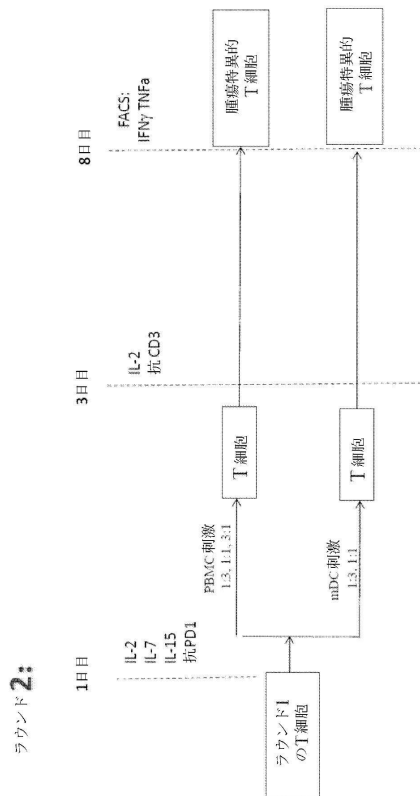
【図 3 9 F】



10

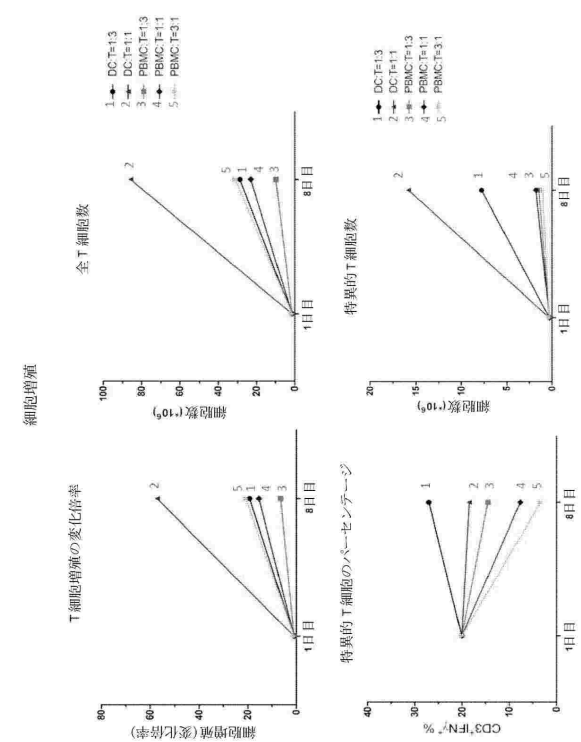
【図 4 0】

【図 4 0】



【図 4 1 A】

【図 4 1 A】



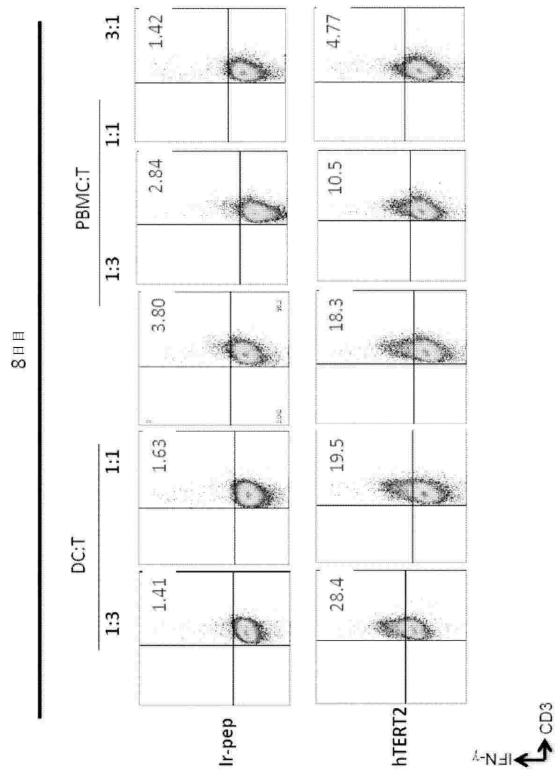
30

40

50

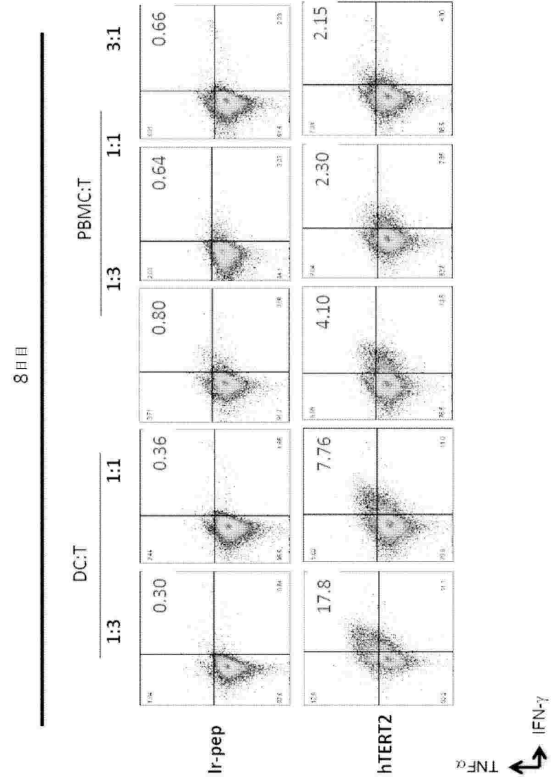
【図 4 1 B】

【図 4 1 B】



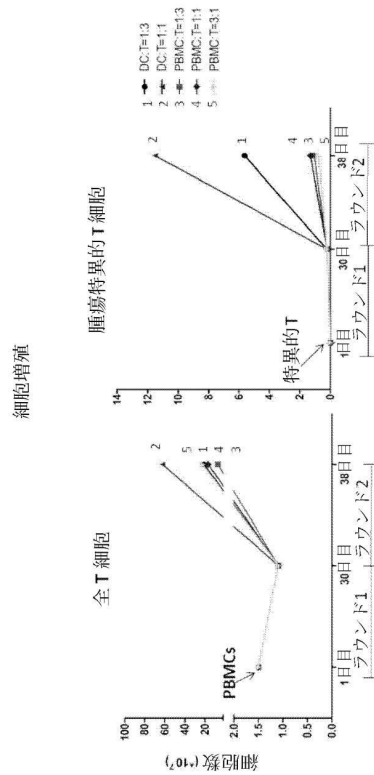
【図 4 1 C】

【図 4 1 C】



【図 4 2】

【図 4 2】



10

20

30

40

50

【配列表】
0007549826000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 35/17 (2015.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
C 1 2 Q 1/6869(2018.01)

F I

A 6 1 K 35/17
A 6 1 P 35/00
C 1 2 Q 1/6869 Z

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674

弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ジョウ, シャンジュン

中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 グアンドン, シェンジェン, ナンシャン, ハイテック パーク
ノース, ソンピンシャン ロード 1, サウス タワー, 15 ティーエイチ フロア

(72)発明者 ハン, ヤンヤン

中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 グアンドン, シェンジェン, ナンシャン, ハイテック パー
ク, ソンピンシャン ロード 1, イースト タワー, 3 アールディー フロア

(72)発明者 リャン, シャオリン

中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 グアンドン, シェンジェン, ナンシャン, ハイテック パー
ク, ソンピンシャン ロード 1, イースト タワー, 3 アールディー フロア

(72)発明者 チェン, シーヘ

中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 グアンドン, シェンジェン, ナンシャン, ハイテック パー
ク, ソンピンシャン ロード 1, イースト タワー, 3 アールディー フロア

審査官 西 賢二

(56)参考文献

特表 2 0 1 6 - 5 2 4 9 1 4 (J P, A)

国際公開第 2 0 1 6 / 1 4 6 0 3 5 (W O, A 1)

国際公開第 2 0 1 7 / 2 1 1 3 7 1 (W O, A 2)

特表 2 0 1 3 - 5 2 4 8 4 8 (J P, A)

特表 2 0 0 8 - 5 3 5 4 9 3 (J P, A)

Morrow, M. P. et al., "Augmentation of cellular and humoral immune responses to HPV16 a
nd HPV18 E6 and E7 antigens by VGX-3100", Mol. Ther. Oncolytics, 2016年, Vol. 3; 16
025, pp. 1-11

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

C 1 2 N 1 / 0 0 - 7 / 0 8

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)

U n i P r o t / G e n e S e q

P u b M e d