

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7634653号
(P7634653)

(45)発行日 令和7年2月21日(2025.2.21)

(24)登録日 令和7年2月13日(2025.2.13)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
A 6 1 K	35/17 (2025.01)	A 6 1 K	35/17
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 0 5
請求項の数 27 (全312頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2023-512376(P2023-512376)	(73)特許権者	523057507
(86)(22)出願日	令和3年8月19日(2021.8.19)		エー２ バイオセラピューティクス, イ
(65)公表番号	特表2023-538114(P2023-538114		ンコーポレイテッド
	A)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3
(43)公表日	令和5年9月6日(2023.9.6)		0 1, アゴウラ ヒルズ, アゴウラ ロ
(86)国際出願番号	PCT/US2021/046751		ード 3 0 3 0 1, スイート 2 1 0
(87)国際公開番号	WO2022/040454	(74)代理人	100078282
(87)国際公開日	令和4年2月24日(2022.2.24)		弁理士 山本 秀策
審査請求日	令和6年8月19日(2024.8.19)	(74)代理人	100113413
(31)優先権主張番号	63/068,245		弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	令和2年8月20日(2020.8.20)	(74)代理人	100181674
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 飯田 貴敏
	米国(US)	(74)代理人	100181641
(31)優先権主張番号	63/085,971		弁理士 石川 大輔
(32)優先日	令和2年9月30日(2020.9.30)	(74)代理人	230113332
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 メソテリン陽性がんを治療するための組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

免疫細胞であって、

(a) メソテリン (M S L N) 抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、活性化因子受容体であって、前記活性化因子受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、

(i) 配列番号 4 3 8 の相補性決定領域 (C D R) − H 1、配列番号 4 5 4 の C D R − H 2、及び配列番号 5 3 3 の C D R − H 3 を含む重鎖可変領域 (V H) ; 並びに

(i i) 配列番号 5 3 5 の C D R − L 1、配列番号 5 3 9 の C D R − L 2、及び配列番号 5 4 2 の C D R − L 3 を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む s c F v を含む、活性化因子受容体と、

(b) H L A − A * 0 2 抗原に特異的な抑制性受容体と、を含む、免疫細胞。

【請求項 2】

前記活性化因子受容体の前記 s c F v が、配列番号 1 7 1 の配列と少なくとも 9 5 % の同一性を有する配列を含む、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 3】

前記活性化因子受容体の前記 s c F v が、配列番号 1 7 1 の配列を含む、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 4】

前記抑制性受容体が、

(i) 配列番号 4 5 の C D R − H 1、配列番号 4 6 の C D R − H 2、及び配列番号 4 7

の C D R - H 3 を含む V H ; 並びに

(i i) 配列番号 4 2 の C D R - L 1 、配列番号 4 3 の C D R - L 2 、及び配列番号 4 4 の C D R - L 3 を含む V L

を含む s c F v を含む、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 5】

前記抑制性受容体の前記 s c F v が、配列番号 3 0 の配列と少なくとも 9 5 % の同一性を有する配列を含む、請求項 4 に記載の免疫細胞。

【請求項 6】

前記抑制性受容体の前記 s c F v が、配列番号 3 0 の配列を含む、請求項 4 に記載の免疫細胞。

【請求項 7】

T 細胞である、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 8】

前記活性化因子受容体が、C D 8 から単離された、又は C D 8 に由来するヒンジ配列、C D 8 から単離された、又は C D 8 に由来する膜貫通ドメイン、及び C D 2 8 、4 - 1 B B 若しくは C D 3 z 又はそれらの組み合わせから単離された、若しくは C D 2 8 、4 - 1 B B 若しくは C D 3 z 又はそれらの組み合わせに由来する細胞内ドメインを含むキメラ抗原受容体 (C A R) である、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 9】

前記 C A R が、配列番号 3 0 3 の配列を含む、請求項 8 に記載の免疫細胞。

【請求項 1 0】

前記抑制性受容体が、L I L R B 1 細胞内ドメイン、L I L R B 1 ヒンジドメイン、及び L I L R B 1 膜貫通ドメインを含む C A R を含む、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 1 1】

前記 C A R が、配列番号 3 4 8 の配列を含む、請求項 1 0 に記載の免疫細胞。

【請求項 1 2】

内因性 M H C クラス I ポリペプチドの対立遺伝子をコードする内因性遺伝子の発現又は機能を不活性化するか、又は低下若しくは除去するように修飾された、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 1 3】

前記内因性 M H C クラス I ポリペプチドの前記対立遺伝子をコードする前記内因性遺伝子が、H L A - A * 0 2 である、請求項 1 2 に記載の免疫細胞。

【請求項 1 4】

B 2 M 遺伝子産物の発現を低下又は除去するように修飾された、請求項 1 に記載の免疫細胞。

【請求項 1 5】

治療有効量の請求項 1 に記載の免疫細胞、及び薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 1 6】

(a) M S L N 抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、活性化因子受容体であって、前記活性化因子受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、

(i) 配列番号 4 3 8 の C D R - H 1 、配列番号 4 5 4 の C D R - H 2 、及び配列番号 5 3 3 の C D R - H 3 を含む V H ; 並びに

(i i) 配列番号 5 3 5 の C D R - L 1 、配列番号 5 3 9 の C D R - L 2 、及び配列番号 5 4 2 の C D R - L 3 を含む V L

を含む s c F v を含む、活性化因子受容体と、

(b) H L A - A * 0 2 抗原に特異的なことを含む抑制性受容体と、をコードするポリヌクレオチド配列を含む 1 つ以上のポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチド系。

【請求項 1 7】

B 2 M に特異的な s h R N A をコードする配列を含む、請求項 1 6 に記載のポリヌクレ

10

20

30

40

50

オチド系。

【請求項 18】

請求項 16 に記載のポリヌクレオチド系を含む、ベクター。

【請求項 19】

M S L N 陽性がんにおいて、H L A - A * 0 2 抗原をコードする対立遺伝子において、ヘテロ接合性の喪失を有すると特定されているか、又は有することが疑われる対象における前記 M S L N + がんを治療するための組成物であって、請求項 1 に記載の免疫細胞を含む、組成物。

【請求項 20】

前記がんが、中皮腫、卵巣がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、結腸直腸がん、又は胆管がんである、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 21】

前記 H L A - A * 0 2 抗原が、対象の健常な細胞によって発現される、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 22】

前記対象の健常な細胞が、M S L N 抗原及び前記 H L A - A * 0 2 抗原の両方を発現する、請求項 19 に記載の組成物。

【請求項 23】

M S L N 陽性がんにおいて、H L A - A * 0 2 非標的抗原をコードする対立遺伝子において、ヘテロ接合性の喪失を有する M S L N 陽性腫瘍細胞を選択的に死滅させる方法における使用のための、請求項 1 に記載の免疫細胞を含む組成物であって、前記方法が、前記 M S L N 陽性腫瘍細胞を前記免疫細胞と接触させることを含む、組成物。

【請求項 24】

前記腫瘍細胞が組織中にある、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

前記腫瘍細胞が混合培養中にある、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 26】

請求項 1 に記載の免疫細胞を含む、キット。

【請求項 27】

使用説明書を更に含む、請求項 26 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2020年9月30日に出願された米国仮特許出願第63/085,971号、及び2020年8月20日に出願された米国仮特許出願第63/068,245号の優先権の利益を主張するものであり、これらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

本開示は、養子細胞療法及びがん治療の分野に関する。

【0003】

参照による配列表の組み込み

配列表の項目の出願は、E F S - W E B を介して A S C I I フォーマットで提出されている配列表を含み、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。2021年8月17日に作成された当該 A S C I I コピーは、A 2 B I _ 0 1 9 _ 0 3 W O _ S e q L i s t _ S T 2 5 . t x t という名前であり、1.08MBサイズである。

【背景技術】

【0004】

細胞療法は、様々な疾患、特にがんの治療のための強力なツールである。従来の養子細

10

20

30

40

50

胞療法において、免疫細胞は、特異的受容体、例えば、キメラ抗原受容体（CAR）又はT細胞受容体（TCR）を発現するように操作され、これにより、標的細胞によって発現されるリガンドとの受容体の相互作用を介して細胞標的に対する免疫細胞の活性化が誘導される。多くの標的が正常な組織で発現されるため、好適な標的分子の同定は依然として困難である。この発現は、移植された細胞が、標的分子を発現する正常な組織を標的とするときに毒性をもたらす得る。したがって、養子細胞療法による、疾患、特にがんの治療に有用な組成物及び方法が当該技術分野において必要とされている。

【0005】

メソテリン（MSLN）は、1992年にがん標的として提案された（Chang et al. Cancer Res 52:181-86）が、依然としてMSLNを利用する実行可能な治療法は存在していない。それは、ほとんどの中皮腫で発現されるだけでなく、卵巣、子宮頸部、子宮、胃、膵臓、及び肺腺がんの多くのサブセットでも発現される。（Hassan et al. J Clin Oncol 34:4171-79）正常な成人では、MSLNは中皮にのみ存在し、この組織自体は必須ではない可能性がある。MSLNを対象とするいくつかの研究用治療薬、例えば、免疫毒素コンジュゲート、抗体-薬物コンジュゲート、二重特異性抗体、CAR-T、及びハイブリッドTCR-scFvが試験されている。

全身投与された全ての有効な治療薬は毒性を有していた。したがって、MSLN（+）がんの治療に関連する組成物及び方法に対する必要性が当該技術分野において存在している。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【文献】Chang et al. Cancer Res 52:181-86

【文献】Hassan et al. J Clin Oncol 34:4171-79

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本明細書では、MSLN（+）がんの治療に関連する組成物及び方法が提供される。有利には、本明細書に開示される組成物及び方法は、ヘテロ接合性（LOH）の喪失を利用して、MSLN（+）がんに対処することができる。本明細書に開示される組成物及び方法は、ある場合には、MSLN標的化活性化因子受容体と遮断因子受容体とを対合することによって、正常組織に対する全身毒性を回避することができる。理論に拘束されることなく、遮断因子抗原をコードする遺伝子座におけるLOHによって引き起こされる腫瘍組織対正常組織における遮断因子抗原発現の差異は、腫瘍死滅に対する高い選択性を付与することができることである。

【0008】

本開示は、免疫細胞であって、（a）メソテリン（MSLN）に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体と、（b）MSLN+がん細胞において喪失した非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体と、を含み、第1の受容体が、MSLNに応答する活性化因子受容体であり、第2の受容体が、非標的抗原に応答する抑制性受容体である、免疫細胞を提供する。

【0009】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、非標的抗原は、ヘテロ接合性の喪失によってMSLN+がん細胞において喪失している。

【0010】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、主要組織適合性複合体（MHC）タンパク質の対立遺伝子バリエーションに特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A、HLA-B、又はHLA-Cタンパク質の対立遺伝子バリエーションに特

異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*11、HLA-B*07、又はHLA-C*07に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*02に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表6に開示されるような相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表6若しくは表7のCDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号42~47若しくは配列番号48~53の相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は配列番号42~47若しくは配列番号48~53のCDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表5に開示されるポリペプチド配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列から選択されるポリペプチド配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号30~41のうちのいずれか1つ、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0011】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、第1の受容体は、キメラ抗原受容体(CAR)である。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表2に開示されるような相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表2のCDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表3に示す配列を含む重鎖可変(VH)部分、及び表4に示す配列を含む軽鎖可変(VL)部分、又はそれと少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号233を含む重鎖可変(VH)部分、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列、及び配列番号279を含む軽鎖可変(VL)部分、又はそれと85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号3~6、80及び154~215からなる群から選択される配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号171のscFv配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0012】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、第1の受容体は、ヒンジドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ヒンジドメインは、CD8αヒンジドメインを含む。いくつかの実施形態において、CD8αヒンジドメインは、配列番号7の配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、CD28膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、CD28膜貫通ドメインは、配列番号11の配列、又はそ

れと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、CD28共刺激ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3 ζ 活性化ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号285の配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体は、配列番号303の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0013】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、第2の受容体は、LILRB1細胞内ドメイン又はその機能的バリエーションを含む。いくつかの実施形態において、LILRB1細胞内ドメインは、配列番号70と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%同一であるか、又はそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体は、LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションを含む。いくつかの実施形態において、LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションは、配列番号74と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%同一であるか、又はそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体は、LILRB1ヒンジドメイン又はその機能的バリエーションを含む。いくつかの実施形態において、LILRB1ヒンジドメインは、配列番号73と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%同一であるか、又はそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体は、LILRB1細胞内ドメイン、LILRB1膜貫通ドメイン、LILRB1ヒンジドメイン、それらのうちのいずれかの機能的バリエーション、又はそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、LILRB1ヒンジドメイン、LILRB1細胞内ドメイン、及びLILRB1膜貫通ドメインは、配列番号71、又は配列番号71と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%同一であるか、若しくはそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体は、配列番号348の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0014】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、MSLN+がん細胞は、中皮腫がん細胞、卵巣がん細胞、子宮頸がん細胞、結腸直腸がん細胞、食道がん細胞、頭頸部がん細胞、腎臓がん細胞、子宮がん細胞、胃がん細胞、膵臓がん細胞、肺がん細胞、結腸直腸がん細胞若しくは胆管がん細胞、又はMSLNを発現する任意のがん細胞である。いくつかの実施形態において、MSLN+がん細胞は、中皮腫がん細胞、卵巣がん細胞、子宮頸部がん細胞、子宮がん細胞、胃がん細胞、膵臓がん細胞又は肺腺がん細胞である。

【0015】

いくつかの実施形態において、MSLN+がん細胞は、上皮がん細胞である。上皮がんは、上皮細胞に由来するがんである。いくつかの実施形態において、MSLN+上皮がんは、がん腫である。

【0016】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、MSLN+がん細胞は、HLA-A*02を発現しないMSLN+/HLA-A*02-がん細胞である。いくつかの実施形態において、MSLN+/HLA-A*02-がん細胞は、HLA-A*02の喪失をもたらす、HLA-Aにおけるヘテロ接合性の喪失によってMSLN+/HLA-A*02+細胞から派生する。いくつかの実施形態において、第1の受容体及び第2の受容体はともに、ヘテロ接合性の喪失を有するMSLN+/HLA-A*02-がん細胞の存在下で免疫細胞を特異的に活性化する。いくつかの実施形態において、第1の受容体及び第2の受容体はともに、ヘテロ接合性の喪失によってHLA-A*02を喪失していないMSLN+細胞の存在下では免疫細胞を特異的に活性化しない。

10

20

30

40

50

【0017】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、免疫細胞は、T細胞である。いくつかの実施形態において、T細胞は、CD8+CD4-T細胞である。

【0018】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、MHCクラスI遺伝子の発現及び／又は機能は、低下又は除去されている。いくつかの実施形態において、MHCクラスI遺伝子は、ベーター2-マイクログロブリン(B2M)である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、干渉RNAを更に含み、干渉RNAは、B2M mRNAの配列に相補的な配列を含む。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、表13に示す配列の群から選択される配列、又はそれに対して最大で1、2、3、若しくは4個の置換、挿入若しくは欠失を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、B2M mRNAのRNAi媒介性分解を誘導することができる。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、ショートヘアピンRNA(shRNA)である。いくつかの実施形態において、shRNAは、(a) B2M mRNAの配列に相補的な配列を5'末端から3'末端に有する、第1の配列と、(b) 第1の配列に相補的な配列を5'末端から3'末端に有する、第2の配列と、を含み、第1の配列及び第2の配列が、shRNAを形成する。いくつかの実施形態において、shRNAは、GCACCTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTTAAACAAGCTTTGAGTGC(配列番号349)若しくはGTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTTGGAAGTTAAC(配列番号350)の配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも90%、若しくは少なくとも95%の同一性を有する配列を含む配列によってコードされる。

10

20

【0019】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、MHCクラスI遺伝子の発現及び／又は機能は、低下又は除去されている。いくつかの実施形態において、MHCクラスI遺伝子は、ベーター2-マイクログロブリン(B2M)である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、B2Mをコードする配列に対する1つ以上の修飾を含み、1つ以上の修飾が、B2Mの発現を低下させ、かつ／又は機能を除去する。いくつかの実施形態において、1つ以上の修飾は、B2Mをコードする内因性遺伝子の1つ以上の不活性化変異を含む。いくつかの実施形態において、1つ以上の不活性化変異は、欠失、挿入、置換、又はフレームシフト変異を含む。いくつかの実施形態において、1つ以上の不活性化変異は、B2Mをコードする内因性遺伝子の配列を特異的に標的とする少なくとも1つのガイドいくつかの実施形態においてe核酸(gNA)との複合体において、核酸誘導型エンドヌクレアーゼとともに導入される。いくつかの実施形態において、gNAは、表12に示す配列セットの群から選択される配列、又はそれに対して最大で1、2、3、若しくは4個の置換、挿入若しくは欠失を有する配列を含む。

30

【0020】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、MHCクラスI遺伝子の発現及び／又は機能は、低下又は除去されている。いくつかの実施形態において、MHCクラスI遺伝子は、HLA-A*02である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、HLA-A*02 mRNAの配列に相補的な配列を含む、干渉RNAを含むポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、HLA-A*02 mRNAのRNA干渉(RNAi)媒介性分解を誘導することができる。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、(a) HLA-A*02 mRNAの配列に相補的な配列を5'末端から3'末端に有する、第1の配列と、(b) 第1の配列に相補的な配列を5'末端から3'末端に有する、第2の配列と、を含み、第1の配列及び第2の配列が、shRNAを形成する、ショートヘアピンRNA(shRNA)である。いくつかの実施形態において、shRNAは、14に示す配列を含む。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、HLA-A*02をコードする内因性遺伝子の配列に対する1つ以上の修飾を含み、1つ又は修飾が、HLA-A*02の発現を低下させ、かつ／又は機能を除去する。いくつかの実施形態において、1つ以上の修飾は、HLA-A*02をコードする内因性遺伝子の1つ以上の不

40

50

活性化変異を含む。いくつかの実施形態において、1つ以上の不活性化変異は、HLA-A*02をコードする内因性遺伝子の配列を特異的に標的とする少なくとも1つのガイド核酸（gNA）との複合体において、核酸誘導型エンドヌクレアーゼとともに導入される。いくつかの実施形態において、gNAは、表11に示す配列を含む。

【0021】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、第1の受容体は、配列番号164の配列を含み、第2の受容体は、配列番号52の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、GCAC TCA AAGCTTGT TAA GATCGAAATCTTAACAAGCTTTTGAGTG C（配列番号349）若しくは GTTAAC TTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC（配列番号350）を含む配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも90%、若しくは少なくとも95%の同一性を有する配列によってコードされるshRNAを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体及び第2の受容体は、単一のポリヌクレオチドによってコードされ、第1及び第2の受容体をコードする配列は、自己切断ポリペプチドをコードする配列によって分離される。いくつかの実施形態において、自己切断ポリペプチドは、GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP（配列番号351）の配列を含むT2A自己切断ポリペプチドを含む。

【0022】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、免疫細胞は、自己由来である。

【0023】

本開示の免疫細胞のいくつかの実施形態において、免疫細胞は、同種異系である。

【0024】

本開示は、治療有効量の本開示の免疫細胞を含む、医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を更に含む。

【0025】

本開示は、MSLN+がんの治療における医薬として使用するための治療有効量の本開示の免疫細胞を含む、医薬組成物を提供する。

【0026】

本開示は、ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系であって、(a) メソテリン（MSLN）に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体、及び(b) MSLN+がん細胞において喪失している非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む1つ以上のポリヌクレオチドを含み、第1の受容体が、MSLN+がん細胞上のMSLNに応答する活性化因子受容体であり、第2の受容体が、非標的抗原に応答する抑制性受容体である、ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系を提供する。

【0027】

本開示のポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系のいくつかの実施形態において、ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系は、本開示の免疫細胞の生成に使用するための、第1の受容体及び第2の受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む、1つ以上のポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態において、ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系は、B2Mに特異的なshRNAをコードする配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体、第2の受容体、及びB2Mに特異的なshRNAをコードする配列は、同じポリヌクレオチドによってコードされる。いくつかの実施形態において、(a) B2Mに特異的なshRNAをコードする配列は、GCAC TCA AAGCTTGT TAA GATCGAAATCTTAACAAGCTTTTGAGTG C（配列番号349）若しくは GTTAAC TTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC（配列番号350）、又はそれと少なくとも80%、少なくとも90%、若しくは少なくとも95%の同一性を有する配列を含み、(b) 第1の受容体をコ

ードする配列は、配列番号 303 のポリペプチド、又はそれと少なくとも 80%、少なくとも 90%、若しくは少なくとも 95% の同一性を有する配列をコードする配列を含み、
(c) 第 2 の受容体をコードする配列は、配列番号 348 のポリペプチドをコードする配列、又はそれと少なくとも 80%、少なくとも 90%、若しくは少なくとも 95% の同一性を有する配列を含む。

【0028】

本開示は、本開示の 1 つ以上のポリヌクレオチドを含む、ベクターを提供する。

【0029】

本開示は、MHC クラス I 遺伝子座におけるヘテロ接合性の喪失を有する MSLN+ がん細胞を死滅させる方法であって、有効量の本開示の免疫細胞又は医薬組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0030】

本開示は、MHC クラス I 遺伝子座におけるヘテロ接合性の喪失を有する MSLN+ 腫瘍を有する対象において MSLN+ がんを治療する方法であって、有効量の本開示の免疫細胞又は医薬組成物を対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0031】

本開示は、対象においてがんを治療する方法であって、(a) 対象の正常細胞及び複数のがん細胞の HLA-A 遺伝子型又は発現を決定することと、(b) 任意選択で、対象の複数のがん細胞における MSLN の発現を決定することと、(c) 正常細胞が HLA-A*02 を発現し、複数のがん細胞が HLA-A*02 を発現せず、複数のがん細胞が MSLN 陽性である場合、有効量の本開示の免疫細胞又は医薬組成物を対象に投与することと、を含む、方法を提供する。

本開示の方法のいくつかの実施形態において、対象は、MSLN (MSLN+) を発現し、HLA-A*02 発現を喪失した悪性腫瘍を有するヘテロ接合型 HLA-A*02 患者である。いくつかの実施形態において、対象は、MSLN を発現し、HLA-A*02 発現を喪失した再発性切除不能又は転移性固形腫瘍を有するヘテロ接合型 HLA-A*02 患者である。いくつかの実施形態において、がんは、中皮腫がん、卵巣がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、結腸直腸がん、又は胆管がんを含む。いくつかの実施形態において、がんは、中皮腫、卵巣がん、子宮頸がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、又は肺腺がんを含む。いくつかの実施形態において、がんは、対象において再発している。いくつかの実施形態において、がんは、1 つ以上の以前に投与された抗がん療法に対して難治性である。いくつかの実施形態において、がんは、転移性である。

【0032】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、がん細胞は、HLA-A*02 を発現しない MSLN+ / HLA-A*02 がん細胞を含む。いくつかの実施形態において、MSLN+ / HLA-A*02 がん細胞は、HLA-A*02 の喪失をもたらす、HLA-A におけるヘテロ接合性の喪失によって MSLN+ / HLA-A*02+ 細胞から派生する。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体及び第 2 の受容体はともに、MSLN+ / HLA-A*02 がん細胞の存在下で免疫細胞を特異的に活性化する。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体及び第 2 の受容体はともに、HLA-A*02 を喪失していない MSLN+ 細胞の存在下で免疫細胞を特異的に活性化しない。

【0033】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象における腫瘍のサイズを縮小させる。いくつかの実施形態において、腫瘍は、約 5%、約 10%、約 15%、約 20%、約 25%、約 30%、約 35%、約 40%、約 45%、約 50%、約 55%、約 60%、約 65%、約 70%、約 75%、約 80%、約 85%、約 90%、約 95%、又は約 100% 減少する。いくつかの実施形態において、腫瘍は除去される。

【0034】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象における腫瘍の増殖を阻止する。

【0035】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象における腫瘍の数を減少させる。

【0036】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象におけるがん細胞の選択的死滅をもたらすが、正常細胞の死滅をもたらさない。いくつかの実施形態において、死滅した細胞の少なくとも約60%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約65%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約70%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約75%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約80%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約85%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約90%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約95%は、がん細胞であるか、又は死滅した細胞の約100%は、がん細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象のがん細胞の少なくとも約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%又は全ての死滅をもたらす。

【0037】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、免疫細胞又は医薬組成物の投与は、第1の活性化因子受容体を含むが、第2の抑制性受容体を含まない他の等価の免疫細胞の投与よりも、対象に対して少ない副作用をもたらす。

【0038】

本開示は、複数の免疫細胞を作製する方法であって、(a)複数の免疫細胞を提供すること、(b)本開示のポリヌクレオチド、ポリヌクレオチド系又はベクターで複数の免疫細胞を形質転換すること、を含む、方法を提供する。

【0039】

本開示は、本開示の免疫細胞又は医薬組成物を含む、キットを提供する。いくつかの実施形態において、キットは、使用説明書を更に含む。

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】TCGAデータベースからの遮断因子候補遺伝子の発現を示す表である。(*)は、以前に中皮において発現されていると同定された遺伝子を示す。

【図2】正常組織におけるメソテリン(MSLN)発現を示すプロットである。

【図3】TCGAがんにわたるMSLNの発現を示すプロットである(腫瘍及び正常試料を用いた。)略語:BLCA(膀胱がん)、BRCA(乳がん)、CESC(子宮頸部扁平上皮がん及び子宮頸管腺がん)、CHOL(胆管がん)、COAD(結腸腺がん)、ESCA(食道がん)、GBM(多形膠芽腫)、HNSC(頭頸部扁平上皮がん)、KICH(嫌色素性腎臓)、KIRP(腎臓乳頭状腎細胞がん)、LIHC(肝臓肝細胞がん)、LUAD(肺腺がん)、LUSC(肺扁平上皮がん)、PAAD(膵臓腺がん)、PRAD(前立腺腺がん)、PCPG(褐色細胞腫及び傍神経節腫)、READ(直腸腺がん)、SARC(肉腫)、SKCM(皮膚黒色腫)、THCA(甲状腺がん)、THYM(胸腺腫)、STAD(胃腺がん)、UCEC(子宮体子宮内膜がん)。

【図4】CCLE細胞株におけるMSLN発現を示すプロットである。

【図5】正常組織におけるLRRN4発現を示すプロットである。

【図6】TCGAがんにわたるLRRN4の発現を示すプロットである(腫瘍及び正常試料を用いた)。

【図7】TCGA腫瘍にわたるLRRN4の発現を示すプロットである。

【図8】CCLE細胞株におけるLRRN4の発現を示すプロットである。

【図9】LRRN4の膜貫通ドメインに対する10個のロイシンリッチリピート(LRR)及びフィブロネクチンIII型ドメインの分布を示すプロットである。これらのドメインのほとんどは、細胞表面上に位置する可能性が高い。

10

20

30

40

50

【図10A】pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体が、無細胞ビーズベースのアッセイにおいてシスでJurkat細胞の活性化を阻害することができることを示す。

【図10B】pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体が、標的細胞として白血病細胞株K562を使用したMSLN scFv CARによるJurkat細胞の活性化を阻害することができる。

【図11】pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体が、pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体並びにHLA-A*02+HeLa及びSiHa細胞を標的細胞として使用して、MSLN scFv CARによる、IFN γ の倍数誘導によって測定した場合のJurkat細胞の活性化を阻害することができることを示す図（左）及びグラフ（右）である。

10

【図12】pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体が、HLA-A*02-SiHa細胞ではなく、HLA-A*02+SiHa細胞を使用して、MSLN CAR活性化因子による死滅を阻害することを示す。

【図13】ヘテロ接合性の喪失によりがん細胞において喪失する潜在的な抑制性受容体標的を同定するために使用したバイオインフォマティクスパイプラインの図である。

【図14】がん細胞において発現されない潜在的な抑制性受容体標的を同定するために使用したバイオインフォマティクスパイプラインの1つである。

【図15A】HLA-A*02遮断因子が、高密度抗原であるMSLNに向けられたMSLN CAR活性化因子を阻害することを示す一対のプロットである。MSLN又はMSLN及びHLA-A*02のいずれかを発現するK562細胞と共培養したMSLN LBD1-CAR又はMSLN LBD1-CAR及びA2-LIR-1でトランスフェクトしたJurkat細胞は、HLA-A*02の存在下でのみ、A2-LIR-1遮断因子を用いた高密度抗原による活性化の遮断を示す。

20

【図15B】HLA-A*02遮断因子が、高密度抗原であるMSLNに向けられたMSLN CAR活性化因子を阻害することを示す一対のプロットである。MSLN LBD1-CAR T細胞による内因性MSLN+HeLa細胞の死滅は、A2-LIR-1遮断因子を用いたHLA-A*02の存在下で遮断される。

【図15C】HLA-A*02遮断因子が、高密度抗原であるMSLNに向けられたMSLN CAR活性化因子を阻害することを示す一対のプロットである。MSLN LBD2-CAR T細胞による内因性MSLN+HeLa細胞の死滅が示される。T細胞死滅に対するA2-LIR-1遮断因子の効果は、部分的に活性化因子LBDによって制御され、遮断因子モジュール又は活性化因子／遮断因子の対の更なる最適化が必要とされ得ることを示唆する。

30

【図16】HLA-A*02 LIR1抑制性受容体（PA2.1、マウス及びヒト化）が、MSLN及びHLA-A*02を発現するHeLa細胞の存在下で、MSLN第3世代CARを発現するT細胞による死滅を効果的に遮断することを示す一連のプロットである。上の並び：MSLN+HLA-A*02+HeLa標的細胞、下の並び：MSLN+HLA-A*02-HeLa細胞（対照）。マウスSS1第3世代CAR（右上、ボックスで囲まれている）は、ヒト化M5及びヒト化SS1 CARよりも優れたウィンドウを提供する。

40

【図17】HLA-A*02 LIR1抑制性受容体（PA2.1、マウス及びヒト化）が、MSLN+HLA-A*02+Capan-2細胞の存在下で、MSLN第3世代CARを発現するT細胞による死滅を効果的に遮断することを示す一連のプロットである。

【図18】マウスSS1 scFvを有する第2世代CARを発現するT細胞による、MSLN+HLA-A*02+HeLa細胞（左）又は天然のMSLN+HLA-A*02+であるHCT116野生型（WT）細胞の死滅が、HLA-A*02 scFv LIR1抑制性受容体によって効果的に遮断されることを示す一対のプロットである。

【図19】HLA-A*02 scFv LIR-1遮断因子の同時形質導入を伴う及び伴わない、T細胞によるマウスSS1第2世代CARの発現を示す一連の蛍光活性化セルソ

50

ーティング (FACS) プロットである。

【図20A】KRAS TCRによるJurkat細胞の活性化を遮断するHLA-A*02抑制性受容体の能力に対するLIR-1ヒンジの効果を示すプロットである。H：ヒンジ、T：膜貫通ドメイン、ICD：細胞内ドメイン、s：短い。LIR-1構築物は、図20Bにより詳細に記載されている。元より長いヒンジと同様に、より短いLIR-1ヒンジブロックを有するヒト化PA2.1及びヒト化BB7.2

【図20B】KRAS TCR活性化因子及び下の表（配列番号352～356）に示されるHLA-A*02 scFv LIR-1抑制性受容体を発現するJurkat細胞についてのEC50シフト（+／－HLA-A*02標的細胞）を示すプロット及び表である。

10

【図21A】KRAS TCRによるJurkat細胞の活性化を遮断するHLA-A*02抑制性受容体の能力に対するLIR-1ヒンジの効果を示すプロットである。H：ヒンジ、TM：膜貫通ドメイン、ICD：細胞内ドメイン、s：短い、tr：切断型。LIR-1構築物は、図21Bにより詳細に記載されている。わずかに長いヒンジを有するマウスPA2.1は、T2-Jurkatアッセイにおける元のLIR-1ヒンジと同様に機能する。

【図21B】KRAS TCR活性化因子及び下の表（配列番号357～361）に示され、長さは左の表に示されるHLA-A*02 scFv LIR-1抑制性受容体を発現するJurkat細胞についてのEC50シフト（+／－HLA-A*02標的細胞）を示すプロット及び一対の表である。

20

【図22A】2つの標的で選択的細胞傷害性を達成するためのTmodアプローチを示す（Tmodとは、活性化因子及び抑制性受容体の組み合わせを発現する免疫細胞を指す）。図22Aは、肺（及び他の重要な臓器）が、MSLN（+）中皮ライニングに囲まれており、MSLN標的化薬についてのオンターゲット、オフ腫瘍毒性の高いリスクを生じることを示す。腫瘍が、LOHを介してこの対立遺伝子を喪失したHLA-A*02についての患者のヘテロ接合型を選択することにより、MSLN活性化CAR-T細胞を標的にして腫瘍細胞を特異的に死滅させ、正常な中皮を温存する機会がある。図22Bは、MSLN標的化Tmod構築物の分子組成を示す（Tmodとは、対合した活性化因子及び抑制性受容体を指す）。2つの受容体は、単一の構築物内で同時発現され、コードされた融合タンパク質は、細胞内で切断されて、活性化因子及び遮断因子を生成する。

30

【図22B】2つの標的で選択的細胞傷害性を達成するためのTmodアプローチを示す（Tmodとは、活性化因子及び抑制性受容体の組み合わせを発現する免疫細胞を指す）。図22Aは、肺（及び他の重要な臓器）が、MSLN（+）中皮ライニングに囲まれており、MSLN標的化薬についてのオンターゲット、オフ腫瘍毒性の高いリスクを生じることを示す。腫瘍が、LOHを介してこの対立遺伝子を喪失したHLA-A*02についての患者のヘテロ接合型を選択することにより、MSLN活性化CAR-T細胞を標的にして腫瘍細胞を特異的に死滅させ、正常な中皮を温存する機会がある。図22Bは、MSLN標的化Tmod構築物の分子組成を示す（Tmodとは、対合した活性化因子及び抑制性受容体を指す）。2つの受容体は、単一の構築物内で同時発現され、コードされた融合タンパク質は、細胞内で切断されて、活性化因子及び遮断因子を生成する。

40

【図23A】選択的MSLN結合剤の単離及び特徴付けを示す。オンターゲットプローブは、標識した可溶性MSLN (Acro Bio) であり、対抗選択のために使用したオフターゲットプローブは、可溶性CEA及びEGFRタンパク質の混合物であった。図23Aは、IgGライブラリーの濃縮を示す。図23Bは、scFvライブラリーの濃縮を示す。図23Cは、Jurkat細胞におけるMSLN CAR (Gen3) の表面発現を示す。細胞をCAR構築物でトランスフェクトし、プロテインL又は単量体可溶性MSLNで染色した（方法を参照されたい）。ベンチマーク及びCAR1-6発現ヒストグラムを標示する。PE、フィコエリトリン；NA、ニュートラビジン；SA、ストレプトアビジン。「オンターゲットNGS」は、個々のイディオタイプの濃縮を決定するために収集され、DNA配列決定に供される細胞集団に対応する。図23Dは、表面に付着したM

50

MSLNタンパク質を用いた固体状態Jurkat細胞アッセイにおけるMSLN結合剤の特徴付けを示す(Hamburger et al., 2020を参照されたい)。異なるscFvを有する62個のCAR構築物(Gen3)を、CARを発現させるためにJurkat細胞内で一過性にトランスフェクトし、6時間後に表面結合組換えヒトsMSLN(Acro Bio)に対する機能的応答を評価した。ほとんどが、ある程度の応答を生じた。

【図23B】選択的MSLN結合剤の単離及び特徴付けを示す。オンターゲットプローブは、標識した可溶性MSLN(Acro Bio)であり、対抗選択のために使用したオフターゲットプローブは、可溶性CEA及びEGFRタンパク質の混合物であった。図23Aは、IgGライブラリーの濃縮を示す。図23Bは、scFvライブラリーの濃縮を示す。図23Cは、Jurkat細胞におけるMSLN CAR(Gen3)の表面発現を示す。細胞をCAR構築物でトランスフェクトし、プロテインL又は単量体可溶性MSLNで染色した(方法を参照されたい)。ベンチマーク及びCAR1-6発現ヒストグラムを標示する。PE、フィコエリトリン; NA、ニュートラビジン; SA、ストレプトアビジン。「オンターゲットNGS」は、個々のイディオタイプの濃縮を決定するために収集され、DNA配列決定に供される細胞集団に対応する。図23Dは、表面に付着したMSLNタンパク質を用いた固体状態Jurkat細胞アッセイにおけるMSLN結合剤の特徴付けを示す(Hamburger et al., 2020を参照されたい)。異なるscFvを有する62個のCAR構築物(Gen3)を、CARを発現させるためにJurkat細胞内で一過性にトランスフェクトし、6時間後に表面結合組換えヒトsMSLN(Acro Bio)に対する機能的応答を評価した。ほとんどが、ある程度の応答を生じた。

【図23C】選択的MSLN結合剤の単離及び特徴付けを示す。オンターゲットプローブは、標識した可溶性MSLN(Acro Bio)であり、対抗選択のために使用したオフターゲットプローブは、可溶性CEA及びEGFRタンパク質の混合物であった。図23Aは、IgGライブラリーの濃縮を示す。図23Bは、scFvライブラリーの濃縮を示す。図23Cは、Jurkat細胞におけるMSLN CAR(Gen3)の表面発現を示す。細胞をCAR構築物でトランスフェクトし、プロテインL又は単量体可溶性MSLNで染色した(方法を参照されたい)。ベンチマーク及びCAR1-6発現ヒストグラムを標示する。PE、フィコエリトリン; NA、ニュートラビジン; SA、ストレプトアビジン。「オンターゲットNGS」は、個々のイディオタイプの濃縮を決定するために収集され、DNA配列決定に供される細胞集団に対応する。図23Dは、表面に付着したMSLNタンパク質を用いた固体状態Jurkat細胞アッセイにおけるMSLN結合剤の特徴付けを示す(Hamburger et al., 2020を参照されたい)。異なるscFvを有する62個のCAR構築物(Gen3)を、CARを発現させるためにJurkat細胞内で一過性にトランスフェクトし、6時間後に表面結合組換えヒトsMSLN(Acro Bio)に対する機能的応答を評価した。ほとんどが、ある程度の応答を生じた。

【図23D】選択的MSLN結合剤の単離及び特徴付けを示す。オンターゲットプローブは、標識した可溶性MSLN(Acro Bio)であり、対抗選択のために使用したオフターゲットプローブは、可溶性CEA及びEGFRタンパク質の混合物であった。図23Aは、IgGライブラリーの濃縮を示す。図23Bは、scFvライブラリーの濃縮を示す。図23Cは、Jurkat細胞におけるMSLN CAR(Gen3)の表面発現を示す。細胞をCAR構築物でトランスフェクトし、プロテインL又は単量体可溶性MSLNで染色した(方法を参照されたい)。ベンチマーク及びCAR1-6発現ヒストグラムを標示する。PE、フィコエリトリン; NA、ニュートラビジン; SA、ストレプトアビジン。「オンターゲットNGS」は、個々のイディオタイプの濃縮を決定するために収集され、DNA配列決定に供される細胞集団に対応する。図23Dは、表面に付着したMSLNタンパク質を用いた固体状態Jurkat細胞アッセイにおけるMSLN結合剤の特徴付けを示す(Hamburger et al., 2020を参照されたい)。異なる

10

20

30

40

50

s c F vを有する62個のCAR構築物 (Gen 3) を、CARを発現させるためにJurkat細胞内で一過性にトランスフェクトし、6時間後に表面結合組換えヒトMSLN (Acro Bio) に対する機能的応答を評価した。ほとんどが、ある程度の応答を生じた。

【図24A】MSLN CAR対ベンチマークCAR M5、SS1及びm912の感受性を示す。全ての構築物は、SS1 (Gen 2) を除いてGen 3であった。6時間の共培養アッセイにおける感受性を評価するために、Jurkat細胞の用量応答 (RLU) を測定した。(1) 滴定したMSLNコードmRNAを使用して、HEK293細胞をトランスフェクトし、(2) QIFIKIT (定量分析キット、Agilent) を使用して、フローサイトメトリーベースの表面発現をMSLN分子/細胞に変換し、(3) 6つの新規及び3つのベンチマークCARの分子/細胞感受性 (EC50) を、用量応答曲線に適合させることにより計算した。アッセイの検出限界を下回る感受性を有するこれらのCARについて、EC50は、3000未満のMSLN分子/細胞として報告した。各構築物についての最大シグナル (Emax) も示した。実験を1~4回繰り返した。

【図24B】CAR3選択性を示す。M5 CARに対してベンチマークされたMSLN CAR3選択性の例。MSLN (+) 又はMSLN (-) 細胞株によるJurkat細胞機能アッセイにおけるCARの活性化を測定した。MSLN (+) 細胞株については、比較のためにMSLNノックアウトによってバリエーションMSLN (-) バージョンが生成されたより詳細なオフターゲット特徴付けについては、図32Bを参照されたい。

【図25A】MSLN mAb及びフローサイトメトリーによる染色によって評価したヒト細胞株におけるMSLNの発現を示す。K562は、抗MSLN抗体に対していくらかの交差反応性を示したが、CAR3又はM5ベンチマークCARに対する機能的反応性は観察されなかった。

【図25B】MSLN及びA*02 mRNA (CCLE) のプロットしたレベルを示し、タンパク質 (QIFIKIT) は相関を示す。タンパク質とmRNAレベルとの間の変換は、標準曲線を使用して計算した (以下の実施例8についての方法を参照されたい)。

【図26A】本研究で使用した細胞株の概要を示す。様々ながん細胞株におけるMSLN及びA*02の表面密度の定量化、並びに正常肺組織 (GTEX) における対応する報告されたmRNAレベル。QIFIKIT (定量分析キット、Agilent) を使用して、操作された及び野生型の腫瘍細胞株の表面MSLN及びA*02を定量化した。細胞株HLA-Aハプロタイプが、A*02についてヘテロ接合型である場合、TPM値を2で割った。場合によっては、HLA-A対立遺伝子コピー数は不明であることに留意されたい。MS751+形質導入A*02 (438TPM) のTPM値を、標準曲線を使用してその表面A*02タンパク質レベルの測定から推定した。HLA-A*02で形質導入された細胞株は、タンパク質の内因性レベルを発現する細胞株 (太字の黒のボックス) よりも、正常肺組織のA*02:MSLN比をより良く模倣する。TPM、100万個当たりの転写産物; na、該当なし; A*02:HLA-A*02。

【図26B】QIFIKITを使用したMSLN分子/細胞の定量化を示す。抗ヒトMSLNマウス抗体クローン618923 (R&D Systems) を使用して、約100,000個の細胞を染色した。細胞を洗浄した後、抗マウスIgG F(ab')₂二次抗体 (Invitrogen A21237) を使用して、細胞及びQIFIBーズの両方を染色した。表面上のMSLN分子の数を、QIFI抗原標準曲線を使用して定量化した。

【図27A】Jurkat細胞機能アッセイにおけるMSLN CAR Tmod構築物の特徴付けを示す。6つのHuTARG由来のMSLN活性化因子 (CAR1~6) 及びベンチマークCAR M5及びSS1活性化因子を、A*02遮断因子 (黒丸) 又は空のベクター対照 (白丸) と対合した。CAR+/-遮断因子を発現するJurkat NFATルシフェラーゼ細胞を、A*02:01 mRNAの滴定でトランスフェクトした野生型の内因性MSLN (+) HeLa細胞と共培養した。機能的応答 (RLU) を、6時間の共培養後に評価した。表面上の滴定した抗原分子を、QIFIKITを使用して定量化した。IC50 (分子/細胞) 値を図に示す。CAR1~6はGen 3であり、CAR

10

20

30

40

50

M5及びSS1はGen2である。

【図27B】Jurkat細胞におけるMSLN CAR3 Tmod構築物についてのEC50を確立するためのMSLN(−)HeLa標的細胞におけるMSLN及びA*02 mRNAの二次元滴定を示す。MSLN(−)HeLa標的細胞を、連続希釈したMSLN mRNAでトランスフェクトし、定常A*02 mRNA及びJurkat細胞を、一過性にトランスフェクトして、MSLN CAR3及びA*02遮断因子を発現させた。機能的応答(RLU)を、6時間の共培養後に評価した。

【図27C】Jurkat細胞におけるMSLN CAR3 Tmod構築物についてのEC50を確立するための、連続希釈したA*02 mRNA及び定常MSLN mRNAでのMSLN(−)HeLa標的細胞のトランスフェクションを示す。

【図28A】MSLN並びにA*02 mRNA及びタンパク質のプロットしたレベルを示す。正常(GTEXデータベース)及び腫瘍の組織及び細胞株(TCGA、CCLEデータベース)におけるMSLN及びHLA-A発現レベルに関連する構築物のEC50及びIC50。タンパク質とmRNAレベルとの間の変換は、図25B；方法に示される標準曲線を使用して計算した)。グラフに示されるHeLa及びMS751 A*02トランスジェニック細胞株バリエーションは、正常な組織における活性化因子及び遮断因子標的比をより良く模倣する。

【図28B】初代T細胞におけるMSLN CAR及びCAR3 Tmod細胞傷害性を示す。CAR又はTmodで形質導入された初代T細胞を、示されるように、エフェクター：標的(E:T)=1:1で、腫瘍又は正常標的細胞のいずれかと48時間共培養した。A*02:MSLN(B:A)標的抗原比は、2~27:1の範囲であった。M5は、Gen2 CARであり、他の全ては、Gen3であった。腫瘍=MSLN(+)A*02(−)標的細胞；正常=MSLN(+)A*02(+)標的細胞。

【図29A】細胞傷害性アッセイにおけるベンチマークCARに対するA*02遮断因子と対合したリードCAR3受容体の比較を示す。SS1 CARは、Gen2構築物であり、その他は、Gen3である。2つの別々のレンチウイルスベクターを使用して様々なCAR+/−A*02遮断因子で形質導入した初代T細胞を、内因性MSLN(+)A*02(−)腫瘍又はMSLN(+)A*02(+)正常HeLa細胞と培養して、細胞傷害性を評価した。形質導入した初代T細胞を、0.6:1又は0.3:1の最終的な有効なエフェクター：標的(E:T)比について、形質導入されていないT細胞で希釈することによって、一定の活性化因子又は活性化因子-遮断因子二重陽性集団パーセンテージ[15%A(+)又はA(+)B(+)]細胞に正規化した。両方のE:T比は、T細胞もA*02遮断因子を発現したときに、A*02抗原の存在下で選択的死滅をもたらした。

【図29B】腫瘍又は正常標的細胞との48時間の共培養後の分泌IFN-γを示す。

【図30A】MSLN CAR3 Tmod細胞が、混合腫瘍及び正常細胞共培養物において、RFP(+)腫瘍細胞を選択的に死滅させ、GFP(+)正常細胞を温存することを示す。HeLa細胞株の接着性のために、死滅した標的は表面上にクラスターとして残存する傾向がある。白い矢印は、死滅したRFP(+)腫瘍細胞のいくつかの例を指している。E:T 0.6:1及び正常：腫瘍=1:1の例。

【図30B】E:T=1:1及び正常：腫瘍=9:1での混合された正常及び腫瘍共培養物における細胞傷害性を示す(他の比については図31Bを参照されたい)。CAR3又はCAR3 Tmod構築物で形質導入された初代T細胞を、HeLa標的細胞と48時間共培養し、それぞれ、MSLN(+)A*02(+)正常及びMSLN(+)A*02(−)腫瘍細胞株において発現されたGFP及びRFPを使用して画像化した。

【図31A】MSLN CAR3 Tmod細胞が、混合腫瘍及び正常細胞共培養物において、RFP(+)腫瘍細胞を選択的に死滅させることを示す。CAR3 Tmod構築物で形質導入された初代T細胞を、HeLa細胞と48時間共培養し、それぞれ、MSLN(+)A*02(+)正常及びMSLN(+)A*02(−)腫瘍細胞株において発現されたGFP及びRFPを使用して画像化した。

【図31B】9:1~1:9の範囲の正常：腫瘍；E:T=0.6:1での混合された正

10

20

30

40

50

常及び腫瘍共培養物におけるCAR3及びCAR3 Tmodの細胞傷害性を示す。

【図32A】MSLN CAR3 Tmod構築物が、選択的、持続的かつ可逆的な細胞傷害性を媒介することを示す。CAR3又はCAR3 Tmodを形質導入した初代T細胞を、腫瘍又は正常な標的細胞のいずれかと48時間、E:T=1.2:1で共培養した。次に、T細胞を採取し、死滅した又は非接着性の標的細胞を枯渇させ、更に48時間、新鮮な腫瘍又は正常な標的細胞に再播種した。RACA、反復抗原チャレンジアッセイ。R1、ラウンド1；R2、ラウンド2。

【図32B】MSLN(+)及びMSLN(-)対照標的細胞のサブセットでのJurkat細胞機能アッセイにおけるMSLN CAR3 Tmod構築物選択性が、オフターゲット活性を示さなかったことを示す(以下の実施例8についての方法を参照されたい)。

10

【図33A】RACA(反復抗原チャレンジアッセイ)及び可逆性アッセイの概略図を示す。CAR3又はCAR3 Tmodを形質導入した初代T細胞を、腫瘍又は正常な標的のいずれかと48時間、E:T=1.2:1で共培養した。次に、T細胞を採取し、あらゆる死滅した又は上昇した標的細胞を枯渇させ、更に48時間、新鮮な腫瘍又は正常な標的に再播種した。

【図33B】可溶性循環MSLN(sMSLN)が、CAR-T活性に影響を及ぼさないことを示す。M5ベンチマークCAR又はCAR3による腫瘍又は正常標的細胞の急性細胞傷害性は、500ng/mLのsMSLN(AcroBio)の存在によっては影響を受けなかった。

20

【図33C】sMSLNが構造的にインタクトであり、受容体に結合することができることを示す、フローサイトメトリーによって分析された標識されたsMSLN単量体又は四量体による一過性にトランスフェクトされたCAR(+)Jurkat細胞の染色を示す。

【図34A】異種移植片モデルにおける腫瘍細胞の選択的死滅を媒介するTmod構築物を示す。図34Aは、二重隣接腫瘍及び正常なMS751異種移植片モデルの概略図を示す。図34Bは、生物発光値が、光子/秒/cm²/srのフラックス単位でのカラースケールの右側であることを示す。0日目=T細胞注射前、8日目及び15日目=T細胞注射後。図34Cは、キャリパー測定によって評価された移植片サイズを示す(以下の実施例8についての結果を参照されたい)。

【図34B】異種移植片モデルにおける腫瘍細胞の選択的死滅を媒介するTmod構築物を示す。図34Aは、二重隣接腫瘍及び正常なMS751異種移植片モデルの概略図を示す。図34Bは、生物発光値が、光子/秒/cm²/srのフラックス単位でのカラースケールの右側であることを示す。0日目=T細胞注射前、8日目及び15日目=T細胞注射後。図34Cは、キャリパー測定によって評価された移植片サイズを示す(以下の実施例8についての結果を参照されたい)。

30

【図34C】異種移植片モデルにおける腫瘍細胞の選択的死滅を媒介するTmod構築物を示す。図34Aは、二重隣接腫瘍及び正常なMS751異種移植片モデルの概略図を示す。図34Bは、生物発光値が、光子/秒/cm²/srのフラックス単位でのカラースケールの右側であることを示す。0日目=T細胞注射前、8日目及び15日目=T細胞注射後。図34Cは、キャリパー測定によって評価された移植片サイズを示す(以下の実施例8についての結果を参照されたい)。

40

【図35A】MSLN CAR Tmodが、異種移植片モデルにおいて腫瘍を選択的に死滅させることを示す。図35Aは、MSLN CAR又はCAR3 Tmodで形質導入した初代T細胞を、E:T=1.4:1で48時間、インビトロでHLA-A KO腫瘍又はA*02-トランスジェニック正常MS751標的細胞のいずれかと共培養したことを示す。M5は、Gen2 CARであり、他の全ては、Gen3であった。腫瘍=MSLN(+)A*02(-)標的細胞；正常=MSLN(+)A*02(+)標的細胞。図35Bは、図34Cに示すデータについての個々のマウス異種移植片増殖曲線を示す。図35Cは、T細胞注射後の正常細胞及び腫瘍細胞のBLI定量化を示す。

【図35B】MSLN CAR Tmodが、異種移植片モデルにおいて腫瘍を選択的に死

50

滅させることを示す 図35Aは、MSLN CAR又はCAR3 Tmodで形質導入した初代T細胞を、E:T=1.4:1で48時間、インビトロでHLA-A KO腫瘍又はA*02-トランスジェニック正常MS751標的細胞のいずれかと共培養したことを示す。M5は、Gen2 CARであり、他の全ては、Gen3であった。腫瘍=MSLN (+) A*02 (-) 標的細胞；正常=MSLN (+) A*02 (+) 標的細胞。図35Bは、図34Cに示すデータについての個々のマウス異種移植片増殖曲線を示す。図35Cは、T細胞注射後の正常細胞及び腫瘍細胞のBLI定量化を示す。

【図35C】MSLN CAR Tmodが、異種移植片モデルにおいて腫瘍を選択的に死滅させることを示す 図35Aは、MSLN CAR又はCAR3 Tmodで形質導入した初代T細胞を、E:T=1.4:1で48時間、インビトロでHLA-A KO腫瘍又はA*02-トランスジェニック正常MS751標的細胞のいずれかと共培養したことを示す。M5は、Gen2 CARであり、他の全ては、Gen3であった。腫瘍=MSLN (+) A*02 (-) 標的細胞；正常=MSLN (+) A*02 (+) 標的細胞。図35Bは、図34Cに示すデータについての個々のマウス異種移植片増殖曲線を示す。図35Cは、T細胞注射後の正常細胞及び腫瘍細胞のBLI定量化を示す。

【図36】A*02 (+) 又は (-) T細胞におけるA*02 遮断因子のシス結合が機能を抑止することを示す。A*02 四量体によるA*02 (+) Jurkat細胞及び初代T細胞における遮断因子の結合は、自己A*02 のシス結合のために有意に低下した。結合の低下（遮断因子の利用可能性の低下に起因する）は、遮断因子活性の低下と相関していた。細胞傷害性アッセイは、E:T=0.5:1で示される。

【図37A】MSLN Tmod系が、自己T細胞に拡大され得ることを示す。図37Aは、A*02 (+) ドナーにおける自己A*02 のシス結合が、A*02 (-) ドナーにおける観察されたレベルと同様に、A*02 四量体への結合によって示されるように、CRISPRによるA*02 四量体B2Mノックアウト (KO) への結合を排除し、遮断因子の利用可能性を回復させることを示す。図37Bは、腫瘍 (黒) 又は正常 (白) 標的細胞と培養した活性化因子のみ及びMSLN SS1 CAR Tmod初代T細胞を示す細胞傷害性アッセイを示す。MSLN SS1 CAR Tmod構築物は、MSLN (+) A*02 (-) 腫瘍HeLa標的細胞を死滅させるが、シス結合の結果として、自己A*02 の存在下ではもはや遮断しない。A*02 (+) ドナーの場合、遮断は、B2M CRISPR KOを介してのみ達成される。E:T=1.2:1。図37Cは、48時間での代表的な画像を示す。

【図37B】MSLN Tmod系が、自己T細胞に拡大され得ることを示す。図37Aは、A*02 (+) ドナーにおける自己A*02 のシス結合が、A*02 (-) ドナーにおける観察されたレベルと同様に、A*02 四量体への結合によって示されるように、CRISPRによるA*02 四量体B2Mノックアウト (KO) への結合を排除し、遮断因子の利用可能性を回復させることを示す。図37Bは、腫瘍 (黒) 又は正常 (白) 標的細胞と培養した活性化因子のみ及びMSLN SS1 CAR Tmod初代T細胞を示す細胞傷害性アッセイを示す。MSLN SS1 CAR Tmod構築物は、MSLN (+) A*02 (-) 腫瘍HeLa標的細胞を死滅させるが、シス結合の結果として、自己A*02 の存在下ではもはや遮断しない。A*02 (+) ドナーの場合、遮断は、B2M CRISPR KOを介してのみ達成される。E:T=1.2:1。図37Cは、48時間での代表的な画像を示す。

【図37C】MSLN Tmod系が、自己T細胞に拡大され得ることを示す。図37Aは、A*02 (+) ドナーにおける自己A*02 のシス結合が、A*02 (-) ドナーにおける観察されたレベルと同様に、A*02 四量体への結合によって示されるように、CRISPRによるA*02 四量体B2Mノックアウト (KO) への結合を排除し、遮断因子の利用可能性を回復させることを示す。図37Bは、腫瘍 (黒) 又は正常 (白) 標的細胞と培養した活性化因子のみ及びMSLN SS1 CAR Tmod初代T細胞を示す細胞傷害性アッセイを示す。MSLN SS1 CAR Tmod構築物は、MSLN (+) A*02 (-) 腫瘍HeLa標的細胞を死滅させるが、シス結合の結果として、自己A*

02の存在下ではもはや遮断しない。A*02(+)ドナーの場合、遮断は、B2M C R I S P R K Oを介してのみ達成される。E:T=1.2:1。図37Cは、48時間での代表的な画像を示す。

【図38A】s c f vライブラリーからの複数ラウンドの細胞選別を通じた抗HLA-A*11結合剤の濃縮を示す。オンターゲットプローブは、標識されたHLA-A*11四量体であり、オフターゲットタンパク質は、無関係のMHC四量体の混合物であった。

【図38B】mRNA滴定アッセイにおけるJurkat細胞活性化を示す。HeLa標的細胞を、連続希釈HLA-A*11 mRNAでトランスフェクトし、Jurkat細胞を一過性にトランスフェクトして、HLA-A*11 CAR4を発現させた。機能的応答(RLU)を、6時間の共培養後に評価した。PE、フィコエリトリン。

【図39A】内因性MSLN(+)HeLa標的細胞上で増加する遮断因子抗原の存在下で、MSLN CAR3及びA*03、A*11又はB*07遮断因子構築物を発現するJurkat細胞を遮断したことを示す。

【図39B】MSLN CAR3+A*11遮断因子の初代T細胞の細胞傷害性アッセイを示す。CAR3及びA*11:01指向性遮断因子で形質導入した初代T細胞は、A*11:01でHeLa標的細胞を効率的に遮断し、CARのみの細胞と同じくらい効果的に野生型HeLa細胞を死滅させる。形質導入した初代T細胞を、E:T=0.8:1で、HLA-A*11:01を伴って、又は伴わずにHeLa細胞と共培養した。ここで使用される腫瘍及び正常な標的細胞の両方が、GFPを発現したことに留意されたい。図39Cは、図39Bについての48時間における代表的な共培養画像を示す。

【図39C】MSLN CAR3+A*11遮断因子の初代T細胞の細胞傷害性アッセイを示す。CAR3及びA*11:01指向性遮断因子で形質導入した初代T細胞は、A*11:01でHeLa標的細胞を効率的に遮断し、CARのみの細胞と同じくらい効果的に野生型HeLa細胞を死滅させる。形質導入した初代T細胞を、E:T=0.8:1で、HLA-A*11:01を伴って、又は伴わずにHeLa細胞と共培養した。ここで使用される腫瘍及び正常な標的細胞の両方が、GFPを発現したことに留意されたい。図39Cは、図39Bについての48時間における代表的な共培養画像を示す。

【発明を実施するための形態】

【0041】

本明細書では、がんと正常(すなわち、健常又は野生型)細胞との間のリガンドの遺伝子発現の相違に応答する2つの受容体系を含む免疫細胞を使用してがんを治療するための組成物及び方法が提供される。これらの発現の相違は、がん細胞におけるヘテロ接合性の喪失に起因し得る。代替的に、発現の相違は、遺伝子発現が、がん細胞において発現されないか、又は正常細胞よりも低いレベルでがん細胞において発現されるためであり得る。2受容体系は、免疫細胞、例えば、養子細胞療法において使用される免疫細胞において発現され、これらの免疫細胞の活性を、ヘテロ接合性の喪失又は発現の相違を示すがん細胞に標的化する。この2受容体系において、第1の受容体(活性化因子受容体、本明細書においてAモジュールと称されることがある)は、免疫細胞を活性化するか、又はその活性化を促進するのに対して、第2の受容体(抑制性受容体、本明細書において遮断因子、抑制因子受容体、又はBモジュールと称されることがある)は、第1の受容体による免疫細胞の活性化を阻害するように作用する。各受容体は、特異的リガンドに結合するリガンド結合ドメイン(LBD)を含有する。リガンド結合時の2つの受容体からのシグナルは、免疫細胞によって統合される。例えば、がん細胞において抑制性リガンドをコードする遺伝子座のヘテロ接合性の喪失、又は転写レベルの相違による、がん細胞及び正常細胞における第1及び第2の受容体に対するリガンドの差次的発現は、第1の活性化因子リガンドを発現するが、第2の抑制性リガンドを発現しない標的がん細胞による免疫細胞の活性化を媒介する。

【0042】

大規模な染色体欠失によるヘテロ接合性(LOH)の喪失は、腫瘍における遺伝的差異の原因である。LOHは、ゲノム内のほぼ全ての遺伝子座に影響を及ぼす腫瘍発生におけ

10

20

30

40

50

る一般的な事象であり、遺伝子のおよそ20%が平均的な腫瘍内でLOHを示す。LOHは、全ての悪性細胞が特定の生殖細胞対立遺伝子を欠く腫瘍を見出すことができるため、正常組織から腫瘍を明確に区別するための手段を提供する。LOHを受ける1つの遺伝子座は、多型の、豊富な、遍在性の表面抗原をコードする、ヒト白血球抗原（HLA）遺伝子座である。本明細書に記載の2受容体系は、第1の受容体を用いて、腫瘍抗原陽性腫瘍細胞に曝露されたT細胞（「活性化因子モジュール」と称されることもある）を活性化し、第2の受容体を利用して、HLA-A*02タンパク質などの表面遮断因子抗原の存在下での免疫細胞の活性化を防止する。本明細書に記載の二重受容体系（本明細書では「T mod」と称されることもある）は、細胞療法としての他の有利な特性を有し、これには、免疫細胞の可逆的活性化／遮断、並びに腫瘍及び「正常」細胞の混合物における選択性が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0043】

本明細書に提供される組成物及び方法の特定の実施形態において、本明細書に記載の2受容体系を含む免疫細胞は、メソテリン（MSLN）陽性がんを治療するために使用される。これには、中皮腫がん、卵巣がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、結腸直腸がん、又は胆管がんが含まれる。いくつかの実施形態において、がんは、対象において再発している。いくつかの実施形態において、がんは、1つ以上の以前に投与された抗がん療法に対して難治性である。いくつかの実施形態において、がんは、転移性である。MSLN陽性がんの場合、活性化因子受容体の標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスI（MHC-I）との複合体におけるMSLN又はそのペプチド抗原である。MSLNは、とりわけ、正常な脂肪、卵管、肺及び唾液腺組織において発現される（図2）。特定の腫瘍におけるその発現のために、MSLNは、適切な治療薬でこれらのがん細胞を特異的に標的とすることができる場合、MSLN+腫瘍の選択的死滅を媒介することができる、魅力的な腫瘍特異的抗原である。しかしながら、非がん（非標的）細胞における正常なMSLN発現は、養子細胞療法などの標的療法に対するMSLNの有効な使用を妨げている。MSLN活性化因子受容体を抑制性受容体と対にすることにより、本明細書で提供される方法は、養子細胞療法の特異性を増加させ、用量制限毒性などの、これらの療法と関連する有害な作用を減少させる。

20

【0044】

いくつかの実施形態において、活性化因子に対するリガンドは、MHCクラスIと複合体化されたMSLNペプチドである。本明細書に記載される方法において、このMSLN標的化活性化因子受容体は、抑制性受容体と対にされ、これにより、正常なMSLN陽性組織に対するその細胞溶解作用を遮断することによって活性化因子の安全ウィンドウが増加する。しかしながら、腫瘍細胞は、抑制因子、又は遮断因子、受容体に対するリガンドを発現しないため、活性化因子受容体は依然として、2受容体系を含む免疫細胞による腫瘍細胞の標的化死滅を誘導する。第2の抑制性受容体に対する標的は、肺、中皮及び脂肪組織などのMSLN陽性組織によって発現されるが、がん細胞においては発現されず、抑制性受容体は、この「非標的抗原」を抑制刺激として認識する。第2の抑制性受容体に対する例示的な標的は、肺組織によって発現され、ヘテロ接合性（LOH）又は他の機構の喪失によりMSLN陽性がん細胞から喪失され、抑制性受容体上の対立遺伝子特異的リガンド結合ドメインを介して他の対立遺伝子と区別することができるがん細胞内に単一の対立遺伝子形態を残す。抑制性受容体の例示的な標的には、ヒト白血球抗原A（HLA-A）などの主要組織適合性複合体（MHC）タンパク質が含まれるが、これらに限定されない。HLA-B、HLA-C、及び他のHLA。HLAは、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-C*07、及びその他などのバリエーション遺伝子によってコードされ、これらは、ヘテロ接合性の喪失を通じてMSLN陽性がん細胞から喪失され得る。代替的に、抑制性受容体の更なる例示的な標的としては、細胞間接着分子1（ICAM1）、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）、及びC-X-Cモチーフケモカインリガンド16（CXCL16）が挙げられるが、これらに限定されない。これらの各々は、抗体にアクセス可能なその細胞外ドメインにおけるアミノ酸

30

40

50

変化を有する、共通の非同義バリエーション形態を有し、これは、MSLN又はMSLN p MHC 応答性活性化因子受容体などの活性化因子受容体によって活性化された操作されたT細胞を用いてMSLN陽性がんを有する患者を安全に治療するように設計された細胞インテグレーターに対する抑制性受容体、又は遮断因子受容体標的として使用され得る。

【0045】

本開示の組成物及び方法は、正常組織上のMSLNの発現によって引き起こされる用量制限毒性(DLT)を減少又は除去することができる。本開示は、第2のリガンド(非標的抗原と呼ばれる、MSLN以外のリガンド又は代替として、遮断因子抗原)の存在下で養子免疫細胞の活性化を遮断する第2の抑制性受容体を付加することによって、養子細胞療法を使用してMSLN陽性がんを治療するためにがん細胞におけるMSLNを標的化する方法を提供する。本明細書に記載される組成物及び方法を使用して、MSLNを発現する腫瘍細胞は、これらの腫瘍細胞が、活性化因子リガンドであるMSLNのみを発現するため、2つの受容体を発現する、免疫細胞などの養子細胞によって攻撃される。対照的に、MSLNと非標的抗原を発現する正常な細胞は、養子免疫細胞から保護される。正常な細胞上の非標的抗原に対する抑制性受容体の応答により、MSLN標的化活性化因子受容体による免疫細胞の活性化を防止する。この二重標的化アプローチは、MSLN陽性のがん患者においてMSLN指向性細胞療法を安全かつ効果的に投与することを可能にする治療ウィンドウを作り出す。

【0046】

本開示は、オンターゲット毒性を誘導する強力なMSLN CAR及びTCRの使用を可能にする方法及び組成物を提供し、これらのMSLN標的化受容体を、それらの毒性を緩和することによって治療薬として有用にする。

【0047】

変形例では、本明細書に記載される組成物及び方法を使用して、非標的抗原の発現が、非標的抗原をコードする配列における部分的遺伝子欠失、エピジェネティックサイレンシング、及び点変異又は短縮型変異を含むが、これらに限定されない、ヘテロ接合性の喪失以外の原因によって部分的又は完全に低下する、標的細胞を死滅させることができ、かつ／又は対象を治療することができる。

【0048】

定義

本開示をより詳細に説明する前に、本明細書で使用される特定の用語の定義を提供することは、その定義を理解することに役立ち得る。

【0049】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載されているものと同様又は同等の任意の方法及び材料を特定の実施形態の実施又は試験に使用することができるが、組成物、方法及び材料の好ましい実施形態が本明細書に記載されている。本開示の目的のために、以下の用語を以下に定義する。追加の定義は、本開示全体を通して説明されている。

【0050】

本明細書で使用される場合、「約」又は「およそ」という用語は、基準量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量又は長さに対して15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%と同じ程度に変化する量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量又は長さを指す。一実施形態において、「約」又は「およそ」という用語は、基準量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量又は長さについて±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%、又は±1%の量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量又は長さの範囲を指す。

【0051】

本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、その天然の状態で通常それ

10

20

30

40

50

に付随する成分を実質的又は本質的に含まない材料を意味する。特定の実施形態において、「得られた」又は「派生された」という用語は、単離されたと同義的に使用される。

【0052】

「対象」、「患者」及び「個体」という用語は、脊椎動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトを指すために本明細書において互換的に使用される。インビボで得られた、又はインビトロで培養された生物学的実体の組織、細胞、及びそれらの子孫もまた包含される。本明細書で使用される場合、「対象」、「患者」又は「個体」は、本明細書で企図されるベクター、組成物、及び方法で治療され得る疼痛を示す任意の動物を含む。好適な対象（例えば、患者）には、実験動物（マウス、ラット、ウサギ、又はモルモットなど）、農場動物、及び家畜又はペット（ネコ又はイヌなど）が含まれる。非ヒト霊長類、及び好ましくはヒト患者が含まれる。

10

【0053】

本明細書で使用される場合、「治療」又は「治療すること」は、任意の有益又は望ましい効果を含み、症状の最小限の改善さえ含み得る。「治療」は、必ずしも、疾患若しくは状態、又はその関連する症状の完全な根絶又は治癒を示すとは限らない。

【0054】

本明細書で使用される場合、「予防する」、及び「予防される」、「予防すること」などの類似の単語は、疾患の症状の可能性を予防、阻害、又は減少させるためのアプローチを示す。それはまた、疾患若しくは状態の発症若しくは再発を遅延させること、又は疾患の症状の発生若しくは再発を遅延させることを指す。本明細書で使用される場合、「予防」及び同様の単語はまた、発症又は再発前の疾患の強度、効果、症状及び／又は負荷を減少させることを含む。

20

【0055】

本明細書で使用される場合、「量」という用語は、臨床結果を含む、有益又は所望の予防又は治療結果を達成するためのウイルスの「有効な量」又は「有効量」を指す。

【0056】

ウイルス又は細胞の「治療有効量」は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、並びにウイルス又は細胞が個体において所望の応答を誘発する能力などの要因に応じて変化し得る。治療有効量はまた、ウイルス又は細胞のあらゆる毒性又は有害作用が、治療的に有益な効果により上回る量である。「治療有効量」という用語は、対象（例えば、患者）を「治療する」のに有効である量を含む。

30

【0057】

生理学的応答、例えば、電気生理学的活性又は細胞活性の「増加した」又は「増大した」量は、典型的には、「統計的に有意な」量であり、未処理の細胞における活性のレベルの1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30倍以上である（例えば、500、1000倍）（その間で1を超える全ての整数及び小数点、例えば、1.5、1.6、1.7、1.8などを含む）増加を含み得る。

【0058】

生理学的応答、例えば、電気生理学的活性又は細胞活性の「低減した」又は「減少した」量は、典型的には、「統計的に有意な」量であり、未処理の細胞における活性のレベルの1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30倍以上である（例えば、500、1000倍）（その間で1を超える全ての整数及び小数点、例えば、1.5、1.6、1.7、1.8などを含む）低減を含み得る。

40

【0059】

「維持する」、又は「保存する」、又は「維持」、又は「変化なし」、又は「実質的な変化なし」、又は「実質的な低減なし」とは、一般に、ビヒクル、又は対照分子／組成物のいずれかによって引き起こされる応答と同等の生理学的応答を指す。同等の応答は、参照応答とは著しく異なっていない、又は測定可能なほど異なっていないものである。

【0060】

一般に、「配列同一性」又は「配列相同性」とは、2つのポリヌクレオチド又はポリペ

50

プチド配列のそれぞれの正確なヌクレオチド対ヌクレオチド又はアミノ酸対アミノ酸の対応を指す。典型的には、配列同一性を決定するための技術は、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定すること、及び／又はそれによってコードされるアミノ酸配列を決定すること、並びにこれらの配列を第2のヌクレオチド又はアミノ酸配列と比較することを含む。2つ以上の配列（ポリヌクレオチド又はアミノ酸）は、それらの「パーセント同一性」を決定することによって比較され得る。核酸配列又はアミノ酸配列に関わらず、2つの配列のパーセント同一性は、2つのアラインメントされた配列間の正確な一致の数を、より短い配列の長さで除算し、100を乗じたものである。パーセント同一性はまた、例えば、国立衛生研究所（National Institutes of Health）から入手可能なバージョン2.2.9を含む、高度なBLASTコンピュータプログラムを使用して配列情報を比較することによって決定され得る。BLASTプログラムは、Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268 (1990) のアラインメント方法に基づき、Altschul, et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)、Karlin And Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877 (1993)、及びAltschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997) に考察されている。簡潔に述べると、BLASTプログラムは、同一性を、同一のアラインメントされた記号（一般に、ヌクレオチド又はアミノ酸）の数を2つの配列のうちの短い方の記号の総数で除算したものと定義する。プログラムを使用して、比較されるタンパク質の全長にわたるパーセント同一性を決定することができる。デフォルトパラメータは、短いクエリ配列で、例えば、blastpプログラムで検索を最適化するために提供される。このプログラムではまた、Wootton and Federhen, Computers and Chemistry 17:149-163 (1993) のSEGプログラムによって決定されるように、SEGフィルタを使用して、クエリ配列のセグメントをマスクオフ（mask-off）することができる。所望の配列同一性度の範囲は、およそ80%~100%、及びそれらの間に整数値である。典型的には、開示される配列と特許請求される配列との間のパーセント同一性は、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%である。

【0061】

本明細書で使用される場合、「ポリヌクレオチド系」とは、1つ以上のポリヌクレオチドを指す。1つ以上のポリヌクレオチドは、特定の用途のために連携して働くように、又は所望の形質転換細胞を産生するように設計され得る。

【0062】

「外因性」という用語は、生物体外に由来する核酸、タンパク質又はペプチド、低分子化合物などを含む、任意の分子を指すために本明細書で使用される。対照的に、「内因性」という用語は、生物体内に由来する（すなわち、生物によって天然に産生される）任意の分子を指す。

【0063】

「MOI」という用語は、感染標的（例えば、細胞）に対する作用物質（例えば、ウイルス粒子）の比である、感染多重度を指すために本明細書で使用される。

【0064】

本記載では、任意の濃度範囲、パーセンテージ範囲、比率範囲、又は整数範囲は、別段の指示がない限り、列挙した範囲内の任意の整数の値、及び適切な場合、その分数（整数の10分の1及び100分の1など）を含むと理解されるべきである。「約」という用語は、数字又は数値の直前にある場合、その数字又は数値が、プラス又はマイナス10%の範囲にあることを意味する。

【0065】

本明細書で使用される場合、「標的細胞」とは、養子細胞療法によって標的化される細胞を指す。例えば、標的細胞は、がん細胞であってもよく、これは、養子細胞療法の移植

されたT細胞によって死滅させることができる。本開示の標的細胞は、本明細書に記載されるような標的抗原を発現し、非標的抗原を発現しない。

【0066】

本明細書で使用される場合、「非標的細胞」とは、養子細胞療法によって標的化されない細胞を指す。例えば、がん細胞を標的とする養子細胞において、正常な、健常な、非がん性細胞は、非標的細胞である。対象におけるいくつかの、又は全ての非標的細胞は、標的抗原及び非標的抗原の両方を発現し得る。対象における非標的細胞は、これらの細胞が標的抗原も発現するか否かに関係なく、非標的抗原を発現し得る。

【0067】

本明細書で使用される場合、「非標的対立遺伝子バリエント」とは、その産物が非標的細胞によって発現されるが、標的細胞によって発現されない遺伝子の対立遺伝子を指す。例えば、非標的対立遺伝子バリエントは、対象の正常な非がん細胞によって発現されるが、対象のがん細胞によって発現されない遺伝子の対立遺伝子である。非標的対立遺伝子バリエントの発現は、非標的対立遺伝子バリエントをコードする遺伝子のヘテロ接合性、変異、又はエピジェネティック修飾の喪失を含むが、これらに限定されない、任意の機構によって、がん細胞内で喪失され得る。

【0068】

本明細書で使用される場合、抗原結合ドメインなどのリガンド結合ドメインに関して使用される場合、「に特異的な」又は「に特異的に結合する」とは、名前を付けられた標的に対して高い特異性を有するリガンド結合ドメインを指す。抗体特異性は、リガンド結合ドメインと、対応するリガンドとの間の適合の良さ、又はリガンド結合ドメインが類似若しくは更に異なったリガンドを識別する能力の尺度とみなされ得る。特異性と比較して、親和性は、低親和性リガンド結合ドメインが弱く結合し、高親和性リガンド結合ドメインが強く結合するように、リガンド結合ドメインとリガンドとの間の結合の強度の尺度である。標的対立遺伝子に特異的であるリガンド結合ドメインは、遺伝子の異なる対立遺伝子を識別することができるものである。例えば、HLA-A*02に特異的であるリガンド結合ドメインは、HLA-A*01又はHLA-A*03などの他のHLA-A対立遺伝子に結合しないか、又は弱く結合するだけである。当業者は、リガンド結合ドメインが特定の標的に特異的であると言うことができるが、本明細書に記載の受容体系におけるその機能に影響を与えない1つ以上の追加の標的への結合レベルが依然として低いことを理解するであろう。

【0069】

本明細書で使用される場合、「標的抗原」は、抗原という用語又は特定の抗原の名称を使用して参照されるかどうかに関わらず、がん細胞などの標的細胞によって発現される抗原を指す。標的抗原の発現は、標的細胞に限定されない。標的抗原は、対象において、がん細胞及び正常な非がん細胞の両方によって発現され得る。

【0070】

本明細書で使用される場合、「非標的抗原」（又は「遮断因子抗原」）は、抗原という用語又は特定の抗原の名称を使用して参照されるかどうかに関わらず、正常な非がん細胞によって発現され、がん細胞において発現されない抗原を指す。この発現の相違により、抑制性受容体が、非標的細胞の存在下では免疫細胞の活性化を阻害することを可能にするが、標的細胞の存在下では阻害することを可能にしない。

【0071】

多型とは、集団におけるヌクレオチド配列の2つ以上のバリエントの存在を指す。多型は、1つ以上の塩基の変化、挿入、反復、又は欠失を含み得る。多型には、例えば、単純反復配列（SSR）及び一塩基多型（SNP）が含まれ、これは、アデニン（A）、チミン（T）、シトシン（C）又はグアニン（G）の単一ヌクレオチドが変化するときには生じる変異である。

【0072】

本明細書で使用される場合、「親和性」とは、受容体上の単一のリガンド結合部位、例

10

20

30

40

50

例えば、本明細書に記載される受容体のいずれかの抗原結合ドメインに対する抗原へのリガンドの結合の強度を指す。リガンド結合ドメインは、それらのリガンドとのより弱い相互作用（低親和性）、又はより強い相互作用（高親和性）を有することができる。

【0073】

K_d、又は解離定数は、例えば、受容体及びその同族リガンドを含む巨大分子複合体がリガンド及び受容体に分離する場合など、より大きな物体がより小さな成分に可逆的に分離する傾向を測定する一種の平衡定数である。K_dが高い場合、受容体を占有するためには高濃度のリガンドが必要であり、リガンドに対する受容体の親和性が低いことを意味する。逆に、低いK_dは、リガンドが受容体に対して高い親和性を有することを意味する。

【0074】

本明細書で使用される場合、「応答する」又は「に応答する」受容体は、リガンド（すなわち、抗原）が結合すると、細胞内ドメインの既知の機能に対応するシグナルを生成する、細胞内ドメインを含む受容体を指す。標的抗原に結合した活性化因子受容体は、活性化因子受容体を発現する免疫細胞の活性化を引き起こすシグナルを生成することができる。非標的抗原に結合した抑制性受容体は、活性化因子受容体を発現する免疫細胞の活性化を防止又は低下させる抑制シグナルを生成することができる。受容体の応答性、及び受容体を発現する免疫細胞を活性化又は阻害するそれらの能力は、レポーターアッセイ及び細胞傷害性アッセイを含むがこれらに限定されない、当該技術分野で既知であり、本明細書に記載される任意の手段によってアッセイされ得る。

【0075】

本明細書で使用される場合、免疫細胞の「活性化」又は「活性化される」免疫細胞とは、免疫応答に特徴的な1つ以上の機能を行うことができる免疫細胞を指す。これらの機能には、増殖、サイトカインの放出、及び細胞傷害性、すなわち標的細胞の死滅が含まれる。活性化された免疫細胞は、当業者に明白であるマーカーを発現する。例えば、活性化T細胞は、CD69、CD71、CD25及びHLA-DRのうちの1つ以上を発現することができる。活性化因子受容体（例えば、MSLN CAR）を発現する免疫細胞は、標的細胞によって発現される標的抗原（例えば、MSLN）への受容体の結合に応答するようになると、活性化因子受容体によって活性化され得る。「標的抗原」はまた、「活性化因子抗原」とも称され得、標的細胞によって単離又は発現され得る。抑制性受容体を発現する免疫細胞の活性化は、活性化因子受容体が標的活性化因子リガンドに結合している場合であっても、抑制性受容体が非標的抗原（例えば、HLA-A*02）に応答するようになったときに防止され得る。「非標的抗原」はまた、「抑制性リガンド」又は「遮断因子」とも称され得、標的細胞によって単離又は発現され得る。

【0076】

免疫細胞上での受容体発現は、本明細書に記載の活性化因子受容体及び抑制性受容体の存在を報告するアッセイによって検証され得る。例えば、免疫細胞の集団を、標識分子（例えば、フルオロフォア標識受容体特異的抗体又はフルオロフォア標識受容体特異的リガンド）で染色し、蛍光活性化セルソーティング（FACS）フローサイトメトリーを使用して定量化することができる。この方法は、免疫細胞の集団における免疫細胞のパーセンテージを、活性化因子受容体、抑制性受容体、又は両方の受容体を発現するものとして特徴付けることを可能にする。本明細書に記載の免疫細胞によって発現される活性化因子受容体及び抑制性受容体の比は、例えば、デジタルドロップレットPCRによって決定され得る。これらのアプローチを使用して、本明細書に記載の免疫細胞、医薬組成物、及びキットの産生及び製造のための細胞の集団を特徴付けることができる。本明細書に記載の免疫細胞、医薬組成物、及びキットについて、活性化因子受容体及び抑制性受容体の両方を発現する免疫細胞の好適なパーセンテージが、本明細書に記載の方法に対して特異的に決定されることを理解されたい。例えば、活性化因子受容体及び抑制性受容体の両方を発現する免疫細胞の好適なパーセンテージは、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、又は少なくとも95%であり得る。更なる例

10

20

30

40

50

として、免疫細胞の50%~99%、60%~95%、65%~95%、65%~90%、70%~90%、75%~90%、75%~85%、80%~99%、85%~99%、90%~99%、又は95%~99%は、活性化因子受容体及び抑制性受容体の両方を発現することができる。例えば、免疫細胞における活性化因子受容体及び抑制性受容体の好適な比は、約5:1、約4:1、約3:1、約2:1、約1:1、約1:2、約1:3、約1:4、又は約1:5であり得る。精製、濃縮、及び／又は枯渇ステップは、本明細書に記載の免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての好適な値を満たすために、免疫細胞の集団に対して使用することができることを理解されたい。

【0077】

本明細書に記載の免疫細胞によって発現される応答性受容体は、受容体の細胞内ドメインによって生成されると予想されるシグナルの生成を測定するアッセイによって検証され得る。Jurkat-ルシフェラーゼNFAT細胞（Jurkat細胞）などのレポーター細胞株を使用して、応答性受容体を特徴付けることができる。Jurkat細胞は、T細胞に由来し、活性化T細胞（NFAT）誘導性ルシフェラーゼレポーター系の安定に組み込まれた核因子を含む。NFATは、免疫細胞活性化に必要な転写因子のファミリーであり、その活性化は、T細胞活性化についてのシグナルマーカーとして使用され得る。Jurkat細胞は、本明細書に記載の活性化因子受容体及び／又は抑制性受容体で形質導入又はトランスフェクトされ得る。活性化因子受容体は、Jurkat細胞がルシフェラーゼレポーター遺伝子を発現する場合、リガンドの結合に応答し、応答性のレベルは、レポーター遺伝子発現のレベルによって決定され得る。ルシフェラーゼの存在は、ルシフェリンなどの任意の既知のルシフェラーゼ検出試薬を使用して決定され得る。抑制性受容体は、Jurkat細胞内の活性化因子受容体と共発現したときに、リガンドの結合に応答し、正常に応答する免疫細胞を活性化因子受容体に応答してルシフェラーゼを発現することを防止する。例えば、抑制性受容体の応答性は、活性化因子及び抑制因子の両方を発現するJurkat細胞において、以下を観察することによって決定及び定量化され得る：1) Jurkat細胞が、活性化因子受容体リガンドの存在下及び抑制性受容体リガンドの不在下でルシフェラーゼを発現し、2) Jurkat細胞におけるルシフェラーゼの発現が、活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方の存在下で低下又は除去される。このアプローチを使用して、活性化因子受容体、並びに活性化因子受容体及び抑制性受容体の特定の対の感受性、効力、及び選択性を決定することができる。感受性、効力、及び選択性は、用量反応実験を使用してEC50又はIC50値によって定量化することができ、活性化因子受容体リガンド及び／又は抑制性受容体リガンドは、活性化因子受容体又は活性化因子受容体及び抑制性受容体の特定の対を発現するJurkat細胞の培養物中に滴定される。代替的に、EC50及びIC50値は、活性化因子受容体、又は活性化因子受容体及び抑制性受容体の特定の対を発現する免疫細胞（例えば、Jurkat細胞又は初代免疫細胞）と、増加した量の活性化因子リガンド又は抑制因子リガンドを発現する標的細胞との共培養において決定することができる。増加した量の活性化因子リガンド又は抑制因子リガンドは、例えば、標的細胞への、mRNAをコードする活性化因子リガンド若しくは抑制因子リガンドの滴定、又は異なるレベルの標的リガンドを天然に発現する標的細胞の使用によって、標的細胞において達成され得る。様々な量の標的及び非標的リガンドを発現する使用した標的細胞を決定する場合の活性化因子受容体及び抑制性受容体についての例示的な好適なEC50及びIC50値には、活性化因子受容体について100万個当たり10個以下の転写産物（TPM）のEC50、例えば、2~10個のTPMのEC50、及び抑制性受容体について25個以下のTPMのIC50、例えば、5~21個のTPMのIC50が含まれる。

【0078】

活性化因子受容体又は活性化因子受容体及び抑制性受容体の特定の対を発現する本明細書に記載の免疫細胞の活性化は、当該免疫細胞との共インキュベーション後の標的細胞の生存率を測定するアッセイによって更に決定され得る。エフェクター細胞と称されることがある免疫細胞は、活性化因子受容体リガンド、抑制性受容体リガンド、又は活性化因子

10

20

30

40

50

受容体及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞と共にインキュベートされる。共インキュベーション後、標的細胞の生存率は、細胞培養における生存率を測定する任意の方法を使用して測定される。例えば、生存率は、テトラゾリウム塩基質を使用して活性ミトコンドリア酵素を測定するミトコンドリア機能アッセイを使用して決定され得る。生存率は、イメージングに基づく方法を使用して決定することもできる。標的細胞は、緑色蛍光タンパク質又は赤色蛍光タンパク質などの蛍光タンパク質を発現することができる。全細胞蛍光の減少は、標的細胞の生存率の減少を示す。活性化因子受容体又は活性化因子受容体及び抑制性受容体の特定の対を発現する免疫細胞とのインキュベーション後の標的細胞の生存率の減少は、免疫細胞の標的細胞媒介性活性化と解釈される。免疫細胞の選択性の尺度は、このアプローチを使用して決定することもできる。活性化因子受容体及び抑制性受容体の対を発現する免疫細胞は、以下が観察される場合、選択的である：1) 活性化因子受容体リガンドを発現するが、抑制性受容体リガンドを発現しない標的細胞では生存率が減少し、2) 活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞では生存率が減少しない。これらの測定値から、陰性対照（活性化因子受容体が発現しない免疫細胞）のパーセンテージとしての標的細胞の生存率の減少に基づいて免疫細胞活性化のパーセンテージを定量化する「特異的死滅」値を導出することができる。更に、これらの測定値から、抑制性受容体リガンドの不在下で活性化因子受容体リガンドを発現する標的細胞において観察される特異的死滅と、活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞において観察される特異的死滅との比を表す「選択性比」値を導出することができる。このアプローチを使用して、本明細書に記載の免疫細胞、医薬組成物、及びキットの産生及び製造のための細胞の集団を特徴付けることができる。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての好適な特異的死滅値は、例えば、以下の基準であり得る：1) 抑制性受容体リガンドの不在下で免疫細胞及び活性化因子受容体リガンドを発現する標的細胞の48時間の共インキュベーション後の少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、又は少なくとも99%の特異的死滅、並びに2) 活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞の40%以下、35%以下、30%以下、25%以下、20%以下、15%以下、10%以下、5%以下、3%以下、又は1%以下の特異的死滅。

【0079】

更なる例として、免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての好適な特異的死滅値は、以下の基準であり得る：1) 活性化因子リガンドを発現するが、抑制因子リガンドを発現しない標的細胞の30%～99%、40%～99%、50%～99%、55%～95%、60%～95%、60%～90%、50%～80%、50%～70%、又は50%～60%が死滅し、2) 活性化因子リガンド及び抑制因子リガンドを発現する標的細胞の1%～40%、3%～40%、5%～40%、5%～30%、10%～30%、15%～30%、又は5%～20%が死滅する。なお更なる例として、免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての好適な特異的死滅値は、例えば、以下の基準であり得る：1) 抑制性受容体リガンドの不在下での、免疫細胞及び活性化因子受容体リガンドを発現する標的細胞の48時間の共インキュベーション後の少なくとも50%の特異的死滅、並びに2) 活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞の20%以下の特異的死滅。更なる例として、免疫細胞は、6時間、12時間、18時間、24時間、30時間、36時間、42時間、48時間、54時間、又は60時間の時間にわたって、活性化因子リガンドを発現し、抑制因子リガンドを発現しない標的細胞の少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、又は少なくとも99%を死滅させることができ、一方、同じ時間にわたって、活性化因子リガンド及び抑制因子リガンドを発現する標的細胞の40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満、3%未満、又は1%未満を死滅させることができる。

【0080】

免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての抑制性リガンド値の不在下で活性化因子リガンドを発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、例えば、少なくとも約50%～少なくとも約95%であり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての抑制性リガンド値の不在下で活性化因子リガンドを発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、例えば、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、又は少なくとも約95%であり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての抑制性リガンド値の不在下で活性化因子リガンドを発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、例えば、最大で約50%、最大で約55%、最大で約60%、最大で約65%、最大で約70%、最大で約75%、最大で約80%、最大で約85%、最大で約90%、又は最大で約95%であり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、約50%未満、約45%未満、約40%未満、約35%未満、約30%未満、約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、又は約5%未満であり得るあり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての好適な特異的死滅値は、標的細胞との免疫細胞の共インキュベーションの約6時間、約12時間、約18時間、約24時間、約30時間、約36時間、約42時間、約48時間、約54時間、約60時間、約66時間、又は約72時間後に決定され得るされ得る。

【0081】

免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての抑制性リガンド値の不在下で活性化因子リガンドを発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、例えば、少なくとも約50%～少なくとも約95%であり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての抑制性リガンド値の不在下で活性化因子リガンドを発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、例えば、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、又は少なくとも約95%であり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての抑制性リガンド値の不在下で活性化因子リガンドを発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、例えば、最大で約50%、最大で約55%、最大で約60%、最大で約65%、最大で約70%、最大で約75%、最大で約80%、最大で約85%、最大で約90%、又は最大で約95%であり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての活性化因子受容体リガンド及び抑制性受容体リガンドの両方を発現する標的細胞の好適な特異的死滅値は、約50%未満、約45%未満、約40%未満、約35%未満、約30%未満、約25%未満、約20%未満、約15%未満、約10%未満、又は約5%未満であり得るあり得る。免疫細胞、医薬組成物、及びキットについての好適な特異的死滅値は、標的細胞との免疫細胞の共インキュベーションの約6時間、約12時間、約18時間、約24時間、約30時間、約36時間、約42時間、約48時間、約54時間、約60時間、約66時間、又は約72時間後に決定され得るされ得る。

【0082】

本明細書で使用される場合、「機能的バリエーション」という用語は、親タンパク質と比較して1つ以上のアミノ酸置換、挿入、又は欠失を有し、親タンパク質の1つ以上の所望の活性を保持するタンパク質を指す。機能的バリエーションは、親タンパク質の1つ以上の所望の活性を保持するタンパク質の断片（すなわち、N末端及び／又はC末端欠失を有するバリエーション）であり得る。

【0083】

本明細書で言及される全ての刊行物及び特許は、各個々の刊行物又は特許が、参照により組み込まれることが具体的かつ個別に示されたかのように、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。矛盾する場合、本明細書におけるあらゆる定義を含む本出願が優先する。しかしながら、本明細書に引用される任意の参考文献、記事、出版物、特許、特許公開、及び特許出願の言及は、それらが有効な先行技術を構成する、又は世界のどの国でも一般的な知識の一部を形成するという認識、又はいかなる形態の示唆ではなく、そ

10

20

30

40

50

れらとみなされるべきではない。

【0084】

活性化因子受容体

本開示は、主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体における、がん細胞特異的抗原、又はそのペプチド抗原を含む標的抗原に特異的な第1の細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体を提供する。第1の受容体は活性化因子受容体であり、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインによる標的抗原の結合時に、第1の受容体を発現する免疫細胞の活性化を媒介する。第1の受容体は、標的抗原（すなわち、活性化因子リガンド）に応答する。例えば、標的抗原が第1の受容体に結合又は接触するとき、第1の受容体は応答性であり、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインによる標的抗原の結合時に第1の受容体を発現する免疫細胞を活性化する。いくつかの実施形態において、第1の受容体は、キメラ抗原受容体（CAR）である。いくつかの実施形態において、第1の受容体は、T細胞受容体（TCR）である。

10

【0085】

いくつかの実施形態において、第1の受容体はヒト化される。本明細書で使用される場合、「ヒト化」とは、非ヒト種から単離されているか、又は非ヒト種から派生されている導入遺伝子における配列又は部分配列を、相同、又は機能的に等価なヒト配列と置き換えることを指す。例えば、ヒト化抗体は、マウスCDRをヒトフレームワーク配列に移植し、続いて起源抗体からの対応するマウス残基に対する特定のヒトフレームワーク残基の逆置換によって作り出すことができる。

20

【0086】

活性化因子標的

いくつかの実施形態において、第1の受容体についての標的抗原は、がん細胞特異的抗原である。標的がん細胞によって発現される任意の細胞表面分子は、第1の受容体リガンド結合ドメインに好適な標的抗原であり得る。例えば、細胞接着分子、細胞間シグナル伝達分子、細胞外ドメイン、走化性に関与する分子、糖タンパク質、Gタンパク質共役受容体、膜貫通、神経伝達物質のための受容体、又は電圧依存性イオンチャネルを、標的抗原として使用することができる。

【0087】

いくつかの実施形態において、標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体におけるがん細胞特異的抗原のペプチド抗原である。標的がん細胞によって発現され、がん細胞表面上の主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）によってペプチド抗原（pMHC）として提示される任意の分子は、第1の受容体細胞外リガンド結合ドメインに好適な標的抗原であり得る。

30

【0088】

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体におけるメソテリン（MSLN）、又はそのペプチド抗原である。

【0089】

主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）は、免疫系の細胞に対する抗原を示し、免疫応答を誘発するタンパク質複合体である。MHC-Ⅰに対応するヒト白血球抗原（HLA）は、HLA-A、HLA-B及びHLA-Cである。

40

【0090】

HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F又はHLA-Gのいずれかを含む、がん細胞特異的pMHC抗原は、本開示の範囲内であると想定される。いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、HLA-Aを含む。HLA-A受容体は、重α鎖及びより小さいβ鎖を含むヘテロ二量体である。α鎖は、HLA-Aのバリエーションによってコードされ、一方、β鎖（β2-マイクログロブリン）は、不変である。数千のバリエーションHLA-A遺伝子が存在し、これらの全ては、本開示の範囲内に入る。いくつかの実施形態において、MHC-Ⅰは、ヒト白血球抗原A*02対立遺伝子（HLA

50

－A＊02）を含む。

【0091】

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、HLA－Bを含む。HLA－B遺伝子の数百のバージョン（対立遺伝子）が知られており、それらの各々には、特定の数（HLA－B＊27など）が与えられる。

【0092】

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、HLA－Cを含む。HLA－Cは、HLAクラスⅠ重鎖パラログに属する。このクラスⅠ分子は、重鎖及び軽鎖（ベータ－2マイクログロブリン）からなるヘテロ二量体である。100を超えるHLA－C対立遺伝子が当該技術分野で既知である。

【0093】

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、卵巣がん抗原、膵臓がん抗原、肺がん抗原、結腸直腸がん抗原、又は中皮腫抗原である。いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、結腸直腸がん抗原である。いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、MSLN又はそのペプチド抗原である。

【0094】

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、MSLN、又は主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC－Ⅰ）との複合体におけるそのペプチド抗原である。MSLNは、通常、中皮細胞、並びに肺、卵管、唾液腺及び脂肪組織において発現される40KDaのタンパク質である（図2）。MSLNは、中皮腫がん、卵巣がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、結腸直腸がん、又は胆管がんを含む、複数のヒト腫瘍型において発現される。いくつかの実施形態において、がんは、対象において再発している。いくつかの実施形態において、がんは、1つ以上の以前に投与された抗がん療法に対して難治性である。いくつかの実施形態において、がんは、転移性である。

【0095】

MSLNの全てのアイソフォームは、本開示のがん細胞特異的抗原として想定される。MSLNアイソフォーム1プレタンパク質は、NCBI記録番号NP_005814.2に記載されており、その内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、MSLNは、以下のアミノ酸配列を含む：

【化1】

```

1 MALPTARPLL GSCGTPALGS LLFLFLSLGW VQPSRTLAGE TGQEAAPLDG VLANPPNISS
61 LSPRQLLGFP CAEVSGLSTE RVRELAVALA QKNVKLSTEQ LRCLAHRLSE PPEDLDALPL
121 DLLLFLNPDFA FSGPQACTRF FSRITKANVD LLPRGAPERQ RLLPAALACW GVRGSLLESEA
181 DVRALGGLAC DLPGRFVAES AEVLLPRLVS CPGPLDQDQQ EAARAALQGG GPPYGPPSTW
241 SVSTMDALRG LLPVLGQPII RSIPOGIVAA WRQRSSRDPS WRQPRTILR PRFRREVEKT
301 ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY
361 PQGYPEVSIQ HLGYLFLKMS PEDIRKWNVT SLETLKALLE VNKGHEMSPQ VATLIDRFVK
421 GRGQLDKDTL DTLTAFYPGY LCSSLPEELS SVPPSSIWAV RPQDLDTCDP RQLDVLYPKA
481 RLAFQNMNGS EYFVKIQSFL GGAPTEDLKA LSQQNVSMOL ATFMKLRTDA VLPLTVAEVQ
541 KLLGPHVEGL KAEERHRPVR DWILRQRQDD LDTLGLGLQG GIPNGYLVLD LSMQEALSGT
601 PCLLGPGPVL TVLALLLAST LA (配列番号1)。
```

【0096】

いくつかの実施形態において、MSLNは、配列番号1と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を共有する配列を含む。

【0097】

MSLNアイソフォーム2プレタンパク質は、NCBI記録番号NP_037536.2に記載されており、その内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、MSLNは、以下のアミノ酸配列を含む：

10

20

30

40

50

【化 2】

1 MALPTARPLL GSCGTPALGS LLFLLFSLGW VQPSRTLAGE TGQEAAPLDG VLANPPNISS
 61 LSPRQLLGFP CAEVSGLSTE RVRELAVALA QKNVKLSTEQ LRCLAHRLSE PFEDLDALPL
 121 DLLLFLNPDFA FSGPQACTRF FSRITKANVD LLPRGAPERQ RLLPAALACW GVRGSLLSEA
 181 DVRLGGLAC DLPGRFVAES AEVLLPRLVS CPGPLDQDQO EAARAALQGG GPPYGGPSTW
 241 SVSTMDALRG LLPVLGQPII RSIPQGIVAA WRQRSSRDPS WRQPRTILR PRFRREVEKT
 301 ACPSGKKARE IDESLIFYKK WELEACVDAA LLATQMDRVN AIPFTYEQLD VLKHKLDELY
 361 PQGYPESVIQ HLGYLFLKMS PEDIRKWNVT SLETLKALLE VNKGHEMSPQ APRRPLPQVA
 421 TLIDRFVKGR QQLDKDTLDT LTAFYPGYLC SLSPHEELSSV PPSSIWAVRP QDLDTCDPRQ
 481 LDVLYPKARL AFQNMNGSEY FVKIQSFLGG APTEDLKALS QQNVSMDLAT FMKLRTDAVL
 541 PLTVAEVQKL LGPHVEGLKA EERHRFVRDW ILRQRQDDLD TLGLGLQGGI PNGYLVLDS
 601 MQEALSGTPC LLGPGPVLTV LALLLASTLA (配列番号 2)。

10

【0098】

いくつかの実施形態において、MSLNは、配列番号2と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を共有する配列を含む。

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、MSLNに由来するペプチド抗原である。いくつかの実施形態において、ペプチド抗原は、配列番号1及び／又は配列番号2の部分配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、ペプチド抗原は、配列番号1及び／又は配列番号2の部分配列と同一の配列を含む。

20

【0099】

細胞外リガンド結合ドメイン

本開示は、標的抗原に特異的な第1の細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体を提供する。いくつかの実施形態において、標的抗原は、がん細胞特異的抗原を含む。

【0100】

いくつかの実施形態において、がん細胞特異的抗原は、MSLN又はMHC-Iと複合体化されたMSLN由来ペプチド抗原であり、第1の受容体のリガンド結合ドメインは、MSLN抗原を認識し、それに結合する。

【0101】

リガンド依存的な様式で受容体の活性を調節することができる任意の種類のリガンド結合ドメインは、本開示の範囲内として想定される。いくつかの実施形態において、リガンド結合ドメインは、抗原結合ドメインである。例示的な抗原結合ドメインには、とりわけ、scFv、sdAb、Vβのみのドメイン、並びにTCR α及びβ鎖可変ドメインに由来するTCR抗原結合ドメインが含まれる。

30

【0102】

任意の種類の抗原結合ドメインは、本開示の範囲内として想定される。

【0103】

例えば、第1の細胞外リガンド結合ドメインは、例えば、Vβのみのドメイン、単ドメイン抗体断片(sdAb)又は重鎖抗体HCAb、マウス、ヒト化又はヒト抗体に由来する一本鎖抗体(scFv)を含む、連続ポリペプチド鎖の一部であり得る(Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, N. Y., Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N. Y., Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883, Bird et al., 1988, Science 242: 423-426)。いくつかの態様において、第1の細胞外リガンド結合ドメインは、抗体断片を含む、抗原結合ドメインを含む。更なる態様において、第1の細胞外リガンド結合ドメインは、scFv又はsdAbを含む、抗体断片を含む。

40

50

【0104】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原に特異的に結合する、免疫グロブリン分子に由来するタンパク質、又はポリペプチド配列を指す。抗体は、ポリクローナル若しくはモノクローナル起源のインタクトな免疫グロブリン、又はその断片であり得、天然又は組換え源に由来し得る。

【0105】

「抗体断片」又は「抗体結合ドメイン」という用語は、抗原結合ドメイン、すなわち、インタクトな抗体の抗原決定可変領域を含有する、抗体又はその組換えバリエーションの少なくとも1つの部分を指し、これは、抗原及びその定義されたエピトープなどの標的に対する抗体断片の認識及び特異的結合を付与するのに十分である。抗体断片の例としては、F a b、F a b'、F (a b')₂、及びF v断片、一本鎖(s c) F v (「s c F v」) 抗体断片、線状抗体、単ドメイン抗体 (「s d A b」と略記される) (V L又はV Hのいずれか)、ラクダ科V H Hドメイン、並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が、これらに限定されない。

【0106】

「s c F v」という用語は、軽鎖の可変領域を含む少なくとも1つの抗体断片、及び重鎖の可変領域を含む少なくとも1つの抗体断片を含む融合タンパク質を指し、軽鎖及び重鎖可変領域は、短い可撓性ポリペプチドリンカーを介して連続して連結され、単一のポリペプチド鎖として発現することが可能であり、s c F vは、それが由来するインタクトな抗体の特異性を保持する。

【0107】

抗体に関して「重鎖可変領域」又は「V H」(又は、単ドメイン抗体、例えば、ナノボディの場合、「V H H」)は、フレームワーク領域として知られている隣接ストレッチ間に介在する3つのC D Rを含有する重鎖の断片を指し、これらのフレームワーク領域は、一般に、C D Rよりも高度に保存され、C D Rを支持するための足場を形成する。

【0108】

本明細書で使用される場合、指定されない限り、s c F vは、例えば、ポリペプチドのN末端及びC末端に関して、いずれかの順序でV L及びV H可変領域を有してもよく、s c F vは、V L-リンカー-V Hを含んでもよく、又はV H-リンカー-V Lを含んでもよい。

【0109】

いくつかの実施形態において、活性化因子及び／又は抑制性受容体の抗原結合ドメインは、s c F vを含む。いくつかの実施形態において、s c F vは、リンカーによって結合されたV L及びV H領域を含む。いくつかの実施形態において、リンカーは、グリシンセリンリンカー、例えば、G G G G S G G G G S G G G G S G G (配列番号152)を含む。いくつかの実施形態において、s c F vは、s c F vのN末端においてシグナル配列を更に含む。例示的なシグナル配列には、M D M R V P A Q L L G L L L W L R G A R C (配列番号362)が含まれ、これは、A T G G A C A T G A G G G T C C C C G C T C A G C T C C T G G G G C T C C T G C T A C T C T G G C T C C G A G G T G C C A G A T G T (配列番号153)によってコードされる。

【0110】

「抗体軽鎖」という用語は、抗体分子中に存在する2つの種類のポリペプチド鎖のうちの、それらの天然に存在する立体配座における、より小さいものを指す。カッパ(「K」)及びラムダ(「λ」)軽鎖は、2つの主要な抗体軽鎖アイソタイプを指す。

【0111】

「組換え抗体」という用語は、組換えDNA技術を使用して生成される抗体、例えば、バクテリオファージ又は酵母発現系によって発現される抗体を指す。この用語はまた、抗体をコードするDNA分子の合成によって生成され、DNA分子が抗体タンパク質を発現する抗体、又は抗体を特定するアミノ酸配列を意味すると解釈されるべきであり、DNA又はアミノ酸配列は、当該技術分野で利用可能であり、周知である組換えDNA又はアミ

ノ酸配列技術を使用して得られている。

【0112】

「Vβドメイン」、「Vβのみのドメイン」、「β鎖可変ドメイン」又は「単一可変ドメインTCR(svd-TCR)」という用語は、第2のTCR可変ドメインの不在下で抗原に特異的に結合する単一T細胞受容体(TCR)ベータ可変ドメインから本質的な抗原結合ドメインを指す。Vβのみのドメインは、相補性決定領域(CDR)を使用して抗原に結合する。各Vβのみのドメインは、3つの相補体決定領域(CDR1、CDR2、及びCDR3)を含有する。追加の要素は、Vβドメインが、第2のTCR可変ドメインの不在下でエピトープに結合するように構成されることを条件に組み合わされてもよい。

10

【0113】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、抗体断片、一本鎖Fv抗体断片(scFv)、又はβ鎖可変ドメイン(Vβ)を含む。

【0114】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、TCRα鎖可変ドメイン及びTCRβ鎖可変ドメインを含む。

【0115】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、scFv抗原結合ドメインを含む。例示的なMSLN scFvを以下の表1に示す。

【表1-1】

20

表1：例示的なMSLN scFvドメイン

	タンパク質配列	DNA 配列
M5	QVQLVQSGAEVEK PGASVKVSCKASG YTFIDYYMHWR QAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKF QGRVTMTRDTSIST AYMELSRLRSDDT AVYYCASGWDFDY WGQGILVTVSSGG GGSGGGSGGGGS GGDIVMTQSSSLA SVGDRVITCRASQ SIRYYLSWYQQKP GKAPKLLIYTASIL QNGVPSRFSGSGSG TDFILTISSLQPEDF ATYYCLQTYTTPDF GPGTKVEIK (配列 番号 3)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGGAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCT GGATACACCTTCACCGACTACTATATGCACTGGGTGCG ACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGG ATCAACCCTAACAGTGGTGGCACAACTATGCACAGA AGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACGTCC ATCAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGGCTGAGAT CTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGTCTGGCTGG GACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGT GTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCGTGATGACCC AGTCTTCCCTCCCTGCTCTGCATCTGTCTGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGCATTAGGTACTA TTTAAGTTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAAGCCCCTA AGCTCCTGATCTATACTGCATCCATTTTACAAAATGGG GTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGA TTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAACCTGAGGATT TTGCAACTTATTACTGCCTCCAGACTTACACTACTCCGG ACTTTGGCCCAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA (配列番 号 363)

30

40

50

【表 1 - 2】

M14	QVQLVQSGAEVRA PGASVKISCKASGF TFRGYYIHWVRQA PGQGLEWMGIINPS GGSRAYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVY MELSSLRSDDTAM YYCARTASCGGDC YYLDYWQGTLVT VSSGGGSGGGGS GGGSGGDIQMTQ SPPTLSASVGDRVTI TCRASENVNIWLA WYQQKPGKAPKLL IYKSSSLASGVPSRF SGSGSGAEFTLTIS LQPDDFATYYCQQ YQSYPLTFGGGTK VEIK (配列番号 4)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAGGG CACCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCT GGATTCACCTTCAGAGGCTACTATATCCACTGGGTGCG ACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATC ATCAACCCTAGTGGTGGTAGCAGAGCCTACGCACAGA AGTTCCAGGGCAGGGTCACCATGACCAGGGACACTTCC ACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGAT CTGACGACACGGCCATGTATTACTGTGCGAGAACCGCA AGTTGTGGTGGTGA CTACTACTTACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTG GAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCG GAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCTCCCACCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCCAGTGAGAATGTTAATATCTGGTTGGCCTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTAT AAGTCATCCAGTTTAGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGGGCAGAATTCCTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTACT GCCAACAGTATCAAAGTTACCCCTCACTTTCGGCGGA GGGACCAAGGTGGAAATCAAA (配列番号 364)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

S5H	QVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASG YSFTGYTMNWVRQ APGQRLEWMGLIT PYNGASSYNQKFR GRVTITRDTSASTA YMELSSLRSEDNAV YYCARGGYDGRGF DYWGQGTITVTVSS GGGSGGGSGGG GSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCS ASSSVSYMHYQQ KPGKAPKRLIYDTS KLASGVPSRFSGSG SGTEFTLTISLQPE DFATYYCQQWSGY PLTFGQGTKLEIK (配列番号 5)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCTTCT GGATACTCATTACCGGCTACACCATGAACTGGGTGAG GCAGGCCCCCTGGACAAAGACTTGAGTGGATGGGACTT ATCACCCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAA GTTTCAGGGGCAGGGTCACAATCACTAGAGACACGTCA GCCAGCACAGCCTACATGGAGCTCTCCAGCCTGAGATC TGAAGACACTGCAGTCTATTACTGTGCAAGGGGGGGTT ACGACGGGAGGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAC CACGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACA TCCAGATGACCCAGTCTCCTTCAAGCTTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGGGTCACCATCACTTGCAGTGCCAGCTCA AGTGTAAGTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAACCAGG CAAGGCCCCCTAAGAGATTGATCTATGACACATCCAAAT TAGCAAGTGGGGTCCCAAGTCGCTTCAGTGGCAGTGGA TCTGGGACCGAATTCCTCTCACCATCAGCAGCTTGCA GCCTGAGGATTTTGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGA GTGGTTACCCTCTCACGTTCGGTCAGGGGACAAAGTTG GAAATCAAA (配列番号 365)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

S5M	QVQLQQSGPELEKP GASVKISCKASGYS FTGYTMNWVKQSH GKSLEWIGLITPYN GASSYNQKFRGKA TLTVDKSSSTAYM DLLSLTSEDSAVYF CARGGYDGRGFDY WGQGTTTVTVSSGG GSGGGGSGGGGS GGDIELTQSPAIMS ASPGEKVTMTCSAS SSVSYMHWYQQKS GTSPKRWIYDTSKL ASGVPGRFSGSGSG NSYSLTISSVEAED DATYYCQQWSGYP LTFGAGTKLEIK (配 列番号 6)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGATTTCTGCAAGGCTTCT GGATACTCATTACCGGCTACACCATGAACTGGGTGAA GCAGAGCCATGGAAAAAGCCTTGAGTGGATTGGACTT ATCACCCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAA GTTCAGGGGCAAGGCCACATTAAGTGTAGACAAGTCAT CCAGCACAGCCTACATGGACCTCCTCAGCCTGACATCT GAAGACTCTGCAGTCTATTTCTGTGCAAGGGGGGGTTA CGACGGGAGGGGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACC ACGGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACAT CGAGCTCACCCAGTCTCCTGCAATCATGTCTGCATCTCC AGGAGAGAAGGTCACCATGACTTGCAGTGCCAGCTCA AGTGTAAGTTACATGCACTGGTATCAGCAGAAATCAGG CACCTCCCCTAAGAGATGGATCTATGACACATCCAAAT TGGCAAGTGGGGTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAGTGGA TCTGGGAACTCTTACTCTCTCACCATCAGCAGCGTGGA GGCTGAGGATGATGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGA GTGGTTACCCTCTCACGTTCCGGTGCTGGGACAAAAGTTG GAAATCAAAA (配列番号 366)
SS1	QVQLQQSGPELE KPGASVKISCKA SGYSFTGYTMN WVKQSHGKSLE WIGLITPYN GAS SYNOKFRGKATL TVDKSSSTAYM DLI.SLTSEDSAV YFCARGGYDGR GFDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGG GSGGGGSDIELT QSPAIMSASPGE KVTMTC SASSSV SYMHWYQQKSG TSPKRWIYDTSK LASGVPGRFSGS GSGNSYSLTISSV EAEDDATYYCQ QWSGYPLTFGA GTKLEI (配列番号 80)	ND

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

1	EVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSNAWMSWVRQ APGKGLEWVGRIK SKTDGGTTDYAAP VKGRFTISRDDSKN TLYLQMNSLKTED TAVYYCTTDLPKL RNFHIWQGQTLVT VSSGGGSGGGGS GGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVII TCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFLTIISSL QPEDFATYYCQQS YSTPLIFGGGTKVE IK (配列番号 154)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCTCGAACGCCTGGATGAGCTGGGTCC GCCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTCTGGACG GATCAAGAGCAAGACCGACGGCGGCACCACCGACTAC GCTGCCCCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGA CGACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACAGC CTGAAAACCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTACCAC AGATCTTCCTAAGCTTAGGAATTTTCATATTTGGGGCC AGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGG AAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGG AGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT CAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCTGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 367)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

2	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGF TFSSYAMHWVRQA PGKGLEYSVAISSN GGSTYYANSVKGR FTISRDNSKNTLYL QMGSRLRAEDMAV YYCASLEYHGFQR YGLRYWHWGQGT LVTVSSGGGGSGG GGSGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSY LNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYY CQQSYSTPLIFGGG TKVEIK (配列番号 155)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATACGTGTCCGCCA TCAGCTCGAACGGCGGCAGCACCTACTACGCCAACAGC GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCA AGAACACCCTGTACCTGCAGATGGGCAGCCTGCGGGCC GAGGATATGGCCGTGTATTACTGTGCGAGCCTAGAATA CCATGGCTTTCGACAATAATGGGCTTCGTTATTGGCATTG GGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGA GGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAA GCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTIG CCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTA CTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 368)

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

3	QLQLQESGSLVKP SQTLSLTCAVSGGS ISSGGYSWSWIRQP PGKGLEWIGYIYHS GSTYYNPSLKSRT ISVDRSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYC ASIKFWFAGINYFF PWGQGTILVTVSSG GGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGS GTDFILTISSLQPED FATYYCQQSYSTPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 156)	CAGCTGCAGCTCCAGGAAAGCGGCAGCGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGTGCCGTGTCC GGCAGGCAGCATCAGCAGCGGCGGCTACAGCTGGTCCT GGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGAT CGGCTACATCTACCACAGCGGCTCGACCTACTACAACC CCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAG AAGCAAGAACCAGTTTACGCCTGAAGCTGAGCAGCGTG ACAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCCAGCAT AAAATTCTGGTTTTCGCGGGGATTAATTATTTTTTCCGTG GGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGA GGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAA GCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTA CTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 369)

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

4	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGF TFSSYWMHWVRQ APGKGLVWVSRIN SDGSSTSYADSVKG RFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAV YYCASGFLGMGSN FIWGQGLTVTVSSG GGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQK PGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQSYSTPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 157)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGTCTGGGTGTCTCGAA TCAACAGCGACGGCAGCAGCACCAGCTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCAAGCGGATTT TTGGGAATGGGCTCGAATTTTATTTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACA TCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAG TGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC TGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAG AGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 370)

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

5	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTICTVSGG SISSGGYYWSWIRQ HPGKGLEWIGYIYY SGSTYYNPSLKSLV TISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CASGDRARYFDLW GRGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQ SISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFLTISLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 158)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCACCCCGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCCTGGTGACAATCTCCGTCGATACCA GCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGAC AGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCAAGCGGGG ACAGGGCACGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACC CTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACAT CCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAG AGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACC AGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCA GTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGT GGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCT GCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGA GTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGCGGCGGAACAAAG GTGGAGATCAAG (配列番号 371)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 0】

6	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGF TFSSYWMHWVRQ APGKGLVWVSRIN SDGSSTSYADSVKG RFTISRDNAKNTLY LQMNSLRAEDTAV YYCARYPRGYHQM VDAFDIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLL IYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFLTIS SLQPEDFATYYCQQ SYSTPLTFGGGTKV EIK (配列番号 159)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGTCTGGGTGTCTCGAA TCAACAGCGACGGCAGCAGCACCAGCTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCAAGATATCCA CGTGGATATCATCAGATGGTTGATGCTTTTGATATCTG GGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTGTCTCAGGCGGA GGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAA GCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCC CTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTG CCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTA CTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 372)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 1】

7	QLQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGGSI SSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSG STYYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCAR VRFLAARTTIPEAN FLWGQGTILTVSS GGGGSGGGGSGGG GSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQSYSTP LTFGGGTKVEIK (配 列番号 160)	CAGCTGCAGCTCCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCGTGTCC GGCGGCAGCATCAGCAGCAGCAGCTACTACTGGGGCT GGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGAT CGGCTCGATCTACTACAGCGGCTCCACCTACTACAACC CCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGTA CGATTTTIGGCTGCTCGCACTACTATTCCGGAGGCGAA TTTCTTTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTC AGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGC GGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTT AAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGT CCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATT TCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTT GCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCT CACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配 列番号 373)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 2】

8	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGF TFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISS SSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARVLSRARFDYW GQGTTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQ SISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 161)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACAGCATGAACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTACA TCAGCAGCAGCAGCTCCACCATCTACTACGCCGACAGC GTGAAGGGTCGATTCACCATCAGCCGGGACAACGCCA AGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGC CGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGTACTCT CCAGGGCTAGGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTG GTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGC ATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGA TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCA ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTT ACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTG GAGATCAAG (配列番号 374)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 3】

9	EVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSSISS SSYIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARLRGRVFDPWG QGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGG DIQMTQSPSSLSAS VGDRVITICRASQS ISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 162)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCAGCTACAGCATGAACTGGGTCC GCCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTCG ATCAGCAGCAGCAGCTCCTACATCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCC AAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGATTACGA GGGAGGGTGTTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGG TCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGG AGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAG ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAICTGTAGGA GACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCAT TAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGA AAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTG CAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATC TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAAC CTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTAC AGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGA GATCAAG (配列番号 375)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 4】

10	QLQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGGSI SSSSYWGWIRQPP GKGLEWIGSIYYSG STYYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCAR IKFTSFLYVHGFLW GQGTLLTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQ SISSYLNWYQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 163)	CAGCTGCAGCTCCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCGTGTCC GGCAGCAGCATCAGCAGCAGCAGCTACTACTGGGGCT GGATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGAT CGGCTCGATCTACTACAGCGGCTCCACCTACTACAACC CCAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAATA AAATTTACCAGCTTTTATATGTTTCATGGTTTTCTGTGG GGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAG GTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAG CGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGC CGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTA TCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACT ACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 376)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 5】

11	QVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKASG YTFTSYAMHWVRQ APGQRLEWMGWIN AGNGNTKYSQKFQ GRVTITRDTSASTA YMELSSLRSEDNAV YYCARGQRWLYLG GIRRHWGQGLVT VSSGGGSGGGGS GGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVII TCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQS YSTPLIFGGGTKVE IK (配列番号 164)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGA AACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACCAGCTACGCCATGCACTGGGTTCG ACAGGCCCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGATGGGCTGG ATCAACGCCGGCAACGGCAACACCAAGTACAGCCAGA AATTCCAGGGCAGAGTGACCATCACCCGGGACACCAG CGCCAGCACCGCCTACATGGAAGTACAGCAGCTGCGG AGCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCA GAGATGGCTGTACCTCGGGGGGATTTCGTCGGCATTGGG GCCAGGGAACCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGT GGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGGCGGAGGAAGC GGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACT ACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 377)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 6】

12	QVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGG SISSYYWSWIRQPP GKGLEWIGYIYYSG STNYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCAR EWIPSRPYFDYW GQGTLLTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQ SISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA IYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 165)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCGTGTCC GGCGGCAGCATCAGCAGCTACTACTGGTCCTGGATCAG ACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTAC ATCTACTACAGCGGCAGCACCAACTACAACCCAGCCT GAAGTCCAGAGTGACCATCTCCGTCGATACCAGCAAGA ACCAAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCC GACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAATGGATTCC CAGCCGTCCGTACTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACA TCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTG TAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCA GAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAC CAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAG TGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTC TGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAG AGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 378)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 7】

13	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTICTVSGG SISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYY SGSTYYNPSLKS RV TISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CARESTGTGAFDIW GQGTMTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQ SISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFILTISLQPEDFA TYYCQQSYSTPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 166)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAA AGTACCGGTACAGGAGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGG GACAATGGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGC GGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGC GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAA GTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGC ATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCA ACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 379)

10

20

30

40

50

【表 1 - 1 8】

14	EVQLVESGGGVVR PGGSLRLSCAASGF TFDDYGMSWVRQ APGKGLEWVSGIN WNGGSTGYADSVK GRFTISRDNKNSL YLQMNSLRAEDTA LYHCARERYRRVL HWYFDLWGRGTL VTVSSGGGSGGG GSGGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYL NWKYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGGTK VEIK (配列番号 167)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGCGGAGTGGTTC GACCTGGCGGAAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTTGACGACTACGGCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGGC ATCAACTGGAACGGCGGCAGCACCGGCTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCTTGTATCACTGTGCGAGAGAGA GGTACAGGCGGGTACTCCACTGGTACTTCGATCTCTGG GGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGG TGGAAGCGGAGGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGC GGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCT GTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTAT CAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGG TTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCAC CATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTACT ACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 380)

10

20

30

40

50

【表 1 - 19】

15	QVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKASG YTFTSYDINWVRQ ATGQGLEWMGWM NPNSGNTGYAQKF QGRVTMTRNTSIST AYMELSSLRSEDTA VYYCAREPDAFDI WGQGTIMVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSG TDFLTISLQPEDF ATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (配列 番号 168)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGA AACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACCAGCTACGACATCAACTGGGTCGG CCAGGCCACCGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGCTGG ATGAACCCCAACAGCGGCAACACCGGCTACGCCCAGA AATTCCAGGGCAGAGTGACCATGACCCGGAACACCTC GATCAGCACCGCCTACATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGG AGCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAACC GGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCA CCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGG ATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATG ACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGA CAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATT GCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGC AAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCT GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACC TGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACA GTACCCCTCTCACTTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAG ATCAAG (配列番号 381)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 0】

16	QVQLQESGPGLVK PSQTLSLTCTVSGG SISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYY SGSTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CAREHMGITIPYYFD YWGQGTILVTVSSG GGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQK PGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQSYSTPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 169)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAA CATATGGGGACGATTCCGTACTACTTTGACTACTGGGG CCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTG GAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCG GAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCG GGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTAT GCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTAC TGTC AACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGCGG CGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 382)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 1】

17	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTICTVSGG SISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYY SGSTYYNPSLKSRLV TISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CAREEFGYGDVLY WGQGILVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (配列 番号 170)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAA GAGTTTGGTTATGGGGACGTCCTCTACTGGGGCCAGGG AACCCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCG GAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGT CAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAA ACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGC AGTGGATCTGGGACAGATTTCCTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAC AGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 383)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 2】

18	QVQLQESGPGLVK PSQTLSLTCTVSGG SISSGDYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYY SGSTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CAREDVVKGAFDI WGQGTMTVTSVSGG GGSGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSG TDFLTITSSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (配列 番号 171)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGACTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCTCGAGTGACCATCAGCGTGGACACCA GCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGAC AGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCCAGAGAGG ACGTAGTCAAAGGCGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGG ACAATGGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCG GAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCAT CTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGT CAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAA ACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGC AGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAAC AGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 384)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 3】

19	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGF TFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISS SSTIYYADSVKGRF TISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAREDFSHKLGYP QHWGQGTLVTVSS GGGSGGGSGSGG GSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQ KPGKAPKLLIYAAS SLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSYSTP LTFGGGGTKVEIK (配 列番号 172)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACAGCATGAACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTACA TCAGCAGCAGCAGCTCCACCATCTACTACGCCGACAGC GTGAAGGGTTCGATTACCATCAGCCGGGACAACGCCA AGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGC CGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGACT TCTCGCATAAGCTAGGGTACTTCCAGCACTGGGGCCAG GGCACCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAG CGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGC GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAA GTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGC ATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTACTACTGTCA ACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 385)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 4】

20	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARDYDYVWGQG TLVTVSSGGGGSG GGGSGGGGSGGDI QMTQSPSSLSASVG DRVITICRASQSISS YLNWYQQKPGKAP KLLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTDFI LTISSLQPEDFATYY CQQSYSTPLTFGGG TKVEIK (配列番号 173)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATTA CGATTACGTGTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGG CGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAG TCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCT ATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGG GGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAT TTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCC TCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 386)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 5】

21	QVQLQESGPGLVK PSQTLSTICTVS SISSGDYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYY SGSTYYNPSLKS TISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CARDRRDWDWFD PWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSL SASVGDRTITCRA SQSISSYLNWYQK PGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQSYSTPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 174)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCAGCATCAGCAGCGGCGACTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCTCGAGTGACCATCAGCGTGGACACCA GCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGAC AGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCCAGAGATC GCCGTGATTGGGACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGA ACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGG AGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGAC ATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAA CCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATC CAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA GAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 387)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 6】

22	QVQLQESGPGLVK PSGTLSTCAVSGG SISSSNWWSWVRQ PPGKGLEWIGEIYH SGSTNYNPSLKS RV TISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYY CARDQQALKYRVD WGQGTILVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSG TDFLTITSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (配列 番号 175)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCGGCACCCTGAGCCTGACCTGTGCCGTGTCT GGCGGCAGCATCAGCAGCAGCAACTGGTGGTCCTGGG TCCGCCAGCCTCCCGGCAAGGGCCTCGAATGGATCGGC GAGATCTACCACAGCGGCAGCACCAACTACAACCCCA GCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACAAGAG CAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACA GCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATCA GCAGGCGTTGAAATACCGTGTGGATTGGGGCCAGGGA ACCTTGGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGG AGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGAC ATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTC AGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAA CCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATC CAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCA GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGT CTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA GAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 388)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 7】

23	QVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKASG YTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISA YNGNTNYAQKLQG RVTMTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAV YYCARDLTLGCFD YWGQGITLVTVSSG GGGSGGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRA SQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGS GTDFILTISSLQPED FATYYCQQSYSTPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 176)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGA AACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACCAGCTACGGCATCAGCTGGGTCGG CCAGGCTCCTGGACAGGGACTGGAATGGATGGGCTGG ATCAGCGCCTACAACGGCAACACCAACTACGCCCAGA AACTGCAGGGCAGAGTGACCATGACCACCGACACCAG CACCAGCACCGCCTACATGGAAGTTCGAAGCCTGAGAA GCGACGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCTT ACGCTAGGATGCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCT GGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCC AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGTCTGC AACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGT TACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGT GGAGATCAAG (配列番号 389)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 8】

24	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAASGF TVSSNYMSWVRQA PGKGLEWVSVIYSG GSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARDGSNSWYFDL WGRGTLTVVSSGG GGSGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSG TDFILTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (配列 番号 177)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTG AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCGTGTCCAGCAACTACATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTG ATCTACAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAGCGT GAAGGGTCGATTACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGA GGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGTCAA ACTCTTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTG GTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCA GATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGG AGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGC ATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGG GAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTT TGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGA TCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCA ACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTT ACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTG GAGATCAAG (配列番号 390)

10

20

30

40

50

【表 1 - 2 9】

25	QVQLVESGGGVVQ PGRSLRLSCAASGF TFSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAVIWY DGSNKYYADSVKG RFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAV YYCARAFLEFSFV WGQGILVTVSSGG GSGSGGSGSGGS GGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSG TDFILTISSLQPEDF ATYYCQQSYSTPLT FGGGTKVEIK (配列 番号 178)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCGTGGTGC AGCCCGGCAGAAGCCTTCGACTGAGCTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGGCATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGGCCGTG ATTTGGTACGACGGCAGCAACAAGTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAG CAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGGGCATT TTTATTCCTGTCTTTTTCGGTTTGGGGCCAGGGAACCCT GGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCC AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGTCTGC AACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGT TACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGT GGAGATCAAG (配列番号 391)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 0】

26	EVQLVESGGVVVQ PGGSLRLSCAASGF TFDDYTMHWVRQ APGKGLEWVSLIS WDGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNSL YLQMNSLR TEDTA LYYCAKGIFYSSKE DFDYWGQGT LVTV SSGGGSGGGGSG GGGSGGDIQMTQS PSSLSASVGDRVIT CRASQSISSYL N WY QQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLISSLQ PEDFATYYCQ QSYS TPLTFGGGTKVEIK (配列番号 179)	GAAGTGCAGCTGGTGGGAATCTGGCGGCGTGGTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCGACGACTACACCATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCCTGA TCAGCTGGGACGGCGGCTCTACCTACTACGCCGACTCC GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCA AGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGAC CGAGGACACCGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGGGATAT TCTACTCGAGTAAAGAGGATTTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAA GCGGAGGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAG GCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCT GCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCT GCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTT CAG TGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCA GCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGT CAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGG AACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 392)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 1】

27	EVQLVESGGVVVQ PGGSLRLSCAASGF TFDDYTMHWVRQ APGKGLEWVSLIS WDGGSTYYADSVK GRFTISRDN SKNSL YLQMNSLRTE DTA LYYCAKDIWIFYSS NPKPTVYWGQGT L VTVSSGGGSGGG GSGGGGSGGDIQM TQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQ QSYSTPLTFGGGTK VEIK (配列番号 180)	GAAGTGCAGCTGGTGG AATCTGGCGGCGTGGTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCGACGACTACACCATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCCTGA TCAGCTGGGACGGCGGCTCTACCTACTACGCCGACTCC GTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGCA AGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGAC CGAGGACACCGCCTTGTATTACTGTGCAAAAGATATAT GGATATTCTACTCGAGTAATCCAAAGCCGACGGTCTAC TGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGG AGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGA AGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTC CCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT GCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGG TATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGAT CTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAA GGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTC ACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTA CTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 393)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 2】

28	QVQLVQSGSELKK PGASVKVSKASG YTFTSYAMNWVRQ APGQGLEWMGWIN INTGNPTYAQGFT GRFVFSFDTSVSTA YLQICSLKAEDTAV YYCARKDQTLTYG NWFDPWGQGTLVT VSSGGGSGGGGS GGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQS YSTPLTFGGGTKVE IK (配列番号 181)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGCAGCGAGCTGAAGA AACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACCAGCTACGCCATGAACTGGGTCCG CCAGGCCCCAGGCCAGGGACTGGAATGGATGGGCTGG ATCAACACCAACACCGGCAACCCACCTACGCCCAGG GCTTCACCGGCAGATTCGTGTTCAGCTTCGACACCAGC GTGTCCACCGCCTACCTGCAGATCTGTAGCCTGAAGGC CGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGGAAGGATC AGACGCTGACCTACGGAACTGGTTCGACCCCTGGGGC CAGGGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGG AAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGG AGGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGT CTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATG CTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTC AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCAT CAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACT GTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 394)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 3】

29	QVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGG SVSSGSYYWSWIR QPPGKGLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKS VTISVDTSKNQFSL KLSSVTAADTAVY YCARDHYERGLYW GQGLTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQ SISSYLNWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQSYSTPLIF GGGTKVEIK (配列 番号 182)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCTGCACCGTGTCC GGCGGCTCTGTGTCCAGCGGCTCCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTCGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCAACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAT CATTACGAGCGGGGGCTCTACTGGGGCCAGGGAACCC GGTCACCGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGG GGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCC AGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTIAAATTGGTATCAGCAGAAACCAG GGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGT TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGG ATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGC AACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGT TACAGTACCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGT GGAGATCAAG (配列番号 395)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 4】

30	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARYMYNWFYDL WGRGTLVTIVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGDIQMTQSPSSVS ASVGDRVTITCRAS QGISSWLAWYQQK PGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQANSFPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 183)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGATATAT GTATAACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCC TGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCAGGAGGAAGCGGAGGCGACATC CAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCGTGTCCGCCAGCGT GGGCGATCGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGG GCATCAGCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCC GGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAG CCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGC GGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCT GCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGG CTAACAGITTTCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAG GTGGAGATCAAG (配列番号 396)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 5】

31	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARDRRPAFDIWG QGTMTVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGG DIQMTQSPSSVSAS VGDRVITICRASQG ISSWLAWYQQKPG KAPKLLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQANSFPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 184)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCG AAGGCCTGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGG TCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGG AGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAG ATGACCCAGAGCCCCAGCAGCGTGTCCGCCAGCGTGG GCGATCGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCTCCAGGGC ATCAGCAGCTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGG CAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGCCGCCAGCAGCC TGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGG CTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCTCCCTGC AGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGCT AACAGITTTCCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGT GGAGATCAAG (配列番号 397)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 6】

32	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAVHLKRRPYFDY WGQGLTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 185)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGGTACATTT GAAACGACGTCCCTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCA TCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGCCAGCCA GGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGC TCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGC CTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 398)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 7】

33	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASVHKKPIFDYW GQGLTLTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLAS VGDRVITICRASQG ISSALAWYQQKPG KAPKLLIYDASSLE SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQFNSYPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 186)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGCGTACA TAAGAAACCCATCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCC TGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCAG CGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 399)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 8】

34	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASTSRRCTFQHW GQGTILVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLAS VGDRVITICRASQG ISSALAWYQQKPG KAPKLLIYDASSLE SGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFA TYYCQQFNSYPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 187)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGTACCAG TCGGCGCTGTACCTTCAGCACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCAG CGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 400)

10

20

30

40

50

【表 1 - 3 9】

35	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASTSPRPLFQHWG QGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGG AIQLTQSPSSLASV GDRVITICRASQGI SSALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLES GVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFAT YYCQQFNSYPLTFG GGTKVEIK (配列番 号 188)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGTACCAG CCCGCGTCCTCTCTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCACCC TGGTCACCGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAG CGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 401)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 0】

36	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASPYQVRGVYFD YWGQGTLTVSSG GGGSGGGSGGGG SGGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 189)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGCCCTTA CCAAGTCCGAGGAGTCTACTTTGACTACTGGGGCCAGG GAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGC GGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGC GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGC CAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCA GCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGC CAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC AGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA GCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 402)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 1】

37	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASPYKKRRTVFD YWGQGITLVTVSSG GGGSGGGSGGGG SGGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 190)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGCCCCTA TAAGAAACGACGAACGGTCTTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAA GCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAG GCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGC GCCAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGCG CAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGC AGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGA CGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCA GCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATC AGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTG CCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCG GAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 403)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 2】

38	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASLQRGLALFQH WGQGLVTVSSGG GGSGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 191)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGTCTTTACA GCGCGGGCTGGCCCTCTTCCAGCACTGGGGCCAGGGCA CCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCA TCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGCCAGCCA GGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGC TCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGC CTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 404)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 3】

39	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASILSVPYFDLWG RGTLVTVSSGGGS GGGSGGGSGGA IQLTQSPSSLSASVG DRVITICRASQGISS ALAWYQQKPGKAP KLLIYDASSLESGV PSRFSGSGSGTDFI LTISSLQPEDFATYY CQQFNSYPLTFGGG TKVEIK (配列番号 192)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCTTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCTAGCATATT GTCAGTTCCTGACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCC TGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAG CGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 405)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 4】

40	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CASGWIRVPLRLPL FQHWGQGTLTVS SGGGSGGGGSGG GSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTITC RASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQFNS YPLIFGGGTKVEIK (配列番号 193)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGTGGGTG GATTTCGTGTACCTTTACGATTGCCCTCTTCCAGCACTG GGGCCAGGGCACCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAG GTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAG CGGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGC CTGAGCGCCAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTG TCGCGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGT ATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGAT CTACGACGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCA GATTACAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTG ACCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTA CTACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGG CGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 406)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 5】

41	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARVTIFAIFDIWG QGTMTVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGG AIQLTQSPSSLASV GDRVITICRASQGI SSALAWYQQKPGK APKLLIYDASSLES GVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFAT YYCQQFNSYPLTFG GGTKVEIK (配列番 号 194)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGTAAC CATATTTGCGATATTTGATACTCTGGGGCCAAGGGACAA TGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAG CGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 407)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 6】

42	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARVGRGFVHFDL WGRGTLTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFILTISSLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 195)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCTTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGTGGG ACGTGGATTCTGTTTCAATTTGATCTCTGGGGCCGTGGCA CCCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCA TCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCA GGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGC TCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGC CTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 408)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 7】

43	QVQLVESGGGLVK	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA	10
	PGGSLRLSCAASGF	AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG	
	TFSDYYMSWIRQA	CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA	
	PGKGLEWVSYISS	GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCTTA	
	GSTIYYADSVKGRF	CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA	
	TISRDNAKNSLYLQ	GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC	
	MNSLRAEDTAVYY	CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG	
	CARTSRGLCVLFDY	GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGGACGTC	
	WGQGLVTVSSGG	AAGAGGTTTGTGTGTTTTATTGACTACTGGGGCCAGG	
	GGSGGGGSGGGGS	GAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGC	
	GGAIQLTQSPSSL	GGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGC	
	ASVGDRVTITCRAS	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGC	
	QGISSALAWYQQK	CAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGCCA	
	PGKAPKLLIYDASS	GCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAG	
	LESGVPSRFSGSGS	AAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGC	
	GTDFLTITSLQPED	CAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG	
	FATYYCQQFNSYPL	GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC	
	TFGGGTKVEIK (配	AGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA	
	列番号 196)	GCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA	
		CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 409)	

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 8】

44	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARSGPSSYWYFD LWGRGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGG SGGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 197)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAAGTGG GCCCAGTAGCTACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTG GCACCCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGC GGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGC GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGC CAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCA GCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGC CAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC AGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA GCAGTTTAATAGTTACCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 410)

10

20

30

40

50

【表 1 - 4 9】

45	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARNIYMGGIWF PWGQGTLVTVSSG GGGSGGGSGGGG SGGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 198)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAAACAT TTACATGGGCGGGATCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGG GAACCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGC GGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGC GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGC CAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCA GCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAG AAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGC CAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCG GCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGC AGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCA GCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 411)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 0】

46	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARLTVRTGAFDI WGQGTIMVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSVSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 199)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGACTTAC AGTCCGCACTGGAGCTTTTIGATATCTGGGGCCAAGGGA CAATGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGG AGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCC ATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCA GCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGC CAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCA GCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTGAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 412)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 1】

47	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARLRTAHLDFDL WGRGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNSYPL TFGGGTKVEIK (配 列番号 200)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCTTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGACTAAG AACTGCCCACCTGGACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCA CCCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCA TCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGCGCCAGCCA GGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGC TCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGC CTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 413)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 2】

48	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARDLIFPVVFDYW GQGTTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLAS VGDRVITICRASQG ISSALAWYQQKPG KAPKLLIYDASSLE SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQFNSYPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 201)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCT CATATTTCCAGTAGTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCA TCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGCCAGCCA GGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC CCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGC TCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGCA GCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGC CTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAA AGGTGGAGATCAAG (配列番号 414)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 3】

49	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARDGYRKYGYVF FDIWQGQTMVTVS SGGGSGGGGSGG GSGGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTITC RASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQFNS YPLIFGGGTKVEIK (配列番号 202)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGG ATATCGCAAATATGGTTACGTATTTTTTGATATCTGGGG CCAAGGGACAATGGTCAACCGTGTCTCAGGCGGAGGT GGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGC GGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCC TGAGCGCCAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGT CGCGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTA TCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAG ATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTAC TACTGCCAGCAGTTTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 415)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 4】

50	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARDGRYRRFWHA FDIWGQGTMTVS SGGGGSGGGGSGG GGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVITIC RASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQP EDFATYYCQQFNS YPLTFGGGTKVEIK (配列番号 203)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGG GAGGTACAGGCGGTTCTGGCATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGG TGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGC GGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCC TGAGCGCCAGCGTGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGT CGCGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTA TCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACGCCAGCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAG ATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTAC TACTGCCAGCAGITTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 416)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 5】

51	QVQLVESGGGLVK PGGSLRLSCAASGF TFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISS GSTIYYADSVKGRF TISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARAHIRGYFDLW GRGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSG GAIQLTQSPSSLAS VGDRVITICRASQG ISSALAWYQQKPG KAPKLLIYDASSLE SGVPSRFSGSGSGT DFILTISSLQPEDFA TYYCQQFNSYPLTF GGGTKVEIK (配列 番号 204)	CAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGA AACCTGGCGGCAGCCTGAGACTGAGCTGCGCCGCCAG CGGCTTCACCTTCAGCGACTACTACATGAGCTGGATCA GACAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTA CATCAGCAGCAGCGGCTCGACCATCTACTACGCCGACA GCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGC CAAGAACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGG GCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGCCCA TATACGGGGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCC TGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGG GGGAGGATCTGGCGGCAGGAGGAAGCGGAGGCGCCATC CAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCG TGGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAG GGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCC CGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCCAGCT CCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGCAG CGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAGCC TGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAG TTAATAGTTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACAAA GGTGGAGATCAAG (配列番号 417)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 6】

52	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CATWMGGGGRWY FDLWGRGTLTVS SGGGGSGGGGSGG GGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRTITC RASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQP EDFATYYCQQFNN YPLIFGGGTKVEIK (配列番号 205)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGITCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGACGTGGATG GGGGGCGGGGGACGATGGTACTTCGATCTCTGGGGCC GTGGCACCCCTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGGTGGA AGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGA GGCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGA GCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTG GGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATC AGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTA CGACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGAT TCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACC ATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTA CTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGG CGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 418)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 7】

53	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CARTSRRTTWYFDL WGRGTLVTIVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNYP LTFGGGTKVEIK (配 列番号 206)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTG AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAGAACTAGT CGTACAACCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCCGTGGCAC CCTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCAT CCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCCAGCC AGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGT CCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCCAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 419)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 8】

54	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKWMGGGGRLY FDLWGRGTLTVS SGGGGSGGGGSGG GGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVITTC RASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFLTITSLQP EDFATYYCQQFNN YPLTFGGGTKVEIK (配列番号 207)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGATG GGGGGCGGGGGACGATTATACTTCGATCTCTGGGGCCG TGGCACCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAA GCGGAGGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAG GCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGC GCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGG CCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACG ACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTC AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 420)

10

20

30

40

50

【表 1 - 5 9】

55	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKWGGRLYWYF DLWGRGILVTVSS GGGGSGGGGSGGG GSGGAIQLTQSPSS LSASVGDRVTITCR ASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDA SSLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQFNYY PLTFGGGTKVEIK (配列番号 208)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTG AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAATGGGGG GGGCGGTTGTACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGG CACCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCG GAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGC CATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCA GCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAG CCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGA AGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCG TCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGG CAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCA GCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAAC AAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 421)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 0】

56	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKVIRQLWYFDL WGRGTLVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNYP LTFGGGTKVEIK (配 列番号 209)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAAGTTATT CGGCAACTCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCAC CCTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCAGGAGGAAGCGGAGGCGCCAT CCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCC AGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGT CCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 422)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 1】

57	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKVFANSWYFDL WGRGTLVTVSSGG GSGSGGSGSGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNYP LTFGGGTKVEIK (配 列番号 210)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAAGTTTTTC GCCAACTCCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCAC CCTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCAGGAAGCGGAGGCGCCAT CCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCCAGCC AGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGT CCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGTTTAATAATTACCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 423)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 2】

58	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKVDRTTWYFDL WGRGTLTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNYP LTFGGGTKVEIK (配 列番号 211)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTG AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAAGTAGAT AGGACTACCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCAC CCTGGTCACTGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAG GGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCAT CCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCCAGCC AGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGT CCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAGATTCAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 424)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 3】

59	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKRWGKDG PYW YFDLWGRGTLTV SSGGGSGGGGSG GGGSGGAIQLTQSP SSLSASVGDRVITIT CRASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQP EDFATYYCQQFNN YPLIFGGG TKVEIK (配列番号 212)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAACGATGG GGTAAGGATGGTCTTACTGGTACTTCGATCTCTGGGG CCGTGGCACCCCTGGTCACTGTGTCTCAGGCGGAGGTG GAAGCGGAGGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCG GAGGCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCT GAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGT CGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTA TCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCCAGCAG ATTGAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTAC TACTGCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 425)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 4】

60	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKRRDSYGPYWY FDLWGRGTLVTVS SGGGSGGGGSGG GGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVITC RASQGISSALAWY QQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQP EDFATYYCQQFNN YPLTFGGGTKVEIK (配列番号 213)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAAAGAAG AGACAGTTATGGTCCTTACTGGTACTTCGATCTCTGGG GCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGT GGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGC GGAGGAAGC GGAGGCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCC TGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGT CGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTA TCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCT ACGACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCC CAGCAG ATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTAC TACTGCCAGCAGITTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGC GGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 426)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 5】

61	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKNRPPPGYWYF DLWGRGTLVTSS GGGSGGGGSGGG GSGGAIQLTQSPSS LSASVGDRVTITCR ASQGISSALAWYQ QKPGKAPKLLIYDA SSLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQFNYY PLTFGGGTKVEIK (配列番号 214)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAGAATCGT CCCCCGCCCGGGTACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCG TGGCACCTGGTCACTGTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAA GCGGAGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAG GCGCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGC GCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGG CCAGCCAGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACG ACGCGTCCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTC AGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCAT CAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACT GCCAGCAGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 427)

10

20

30

40

50

【表 1 - 6 6】

62	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFT FSSYAMSWVRQAP GKGLEWVSAISGSG GSTYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYY CAKGRRFSWYFDL WGRGTLVTVSSGG GSGSGGSGSGGGS GGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRAS QGISSALAWYQQK PGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPED FATYYCQQFNYP LTFGGG TKVEIK (配 列番号 215)	GAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGTCCG CCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTCGAATGGGTGTCCGCCA TCAGCGGCAGCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACAGC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTATATTACTGTGCGAAGGGAAG ACGATTTAGCTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCA CCCTGGTCACTGTGTCTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGA GGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGCCA TCCAGCTGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGC GTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCCAGCC AGGGCATCAGCAGCGCTCTGGCCTGGTATCAGCAGAA GCCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGACGCGT CCTCCCTGGAAAGCGGCGTGCCAGCAGATTCAGCGGC AGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCAGCAG CCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGC AGTTTAATAATTACCCTCTCACTTTCGGCGGCGGAACA AAGGTGGAGATCAAG (配列番号 428)

10

20

【0116】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、s c F vである。いくつかの実施形態において、s c F vドメインは、M S L Nに結合する。いくつかの実施形態において、s c F vは、C A Rのリガンド結合ドメインである。M S L Nに特異的な例示的なs c F vドメインを、上記の表1に示す。表1において、下線は、C D R配列を示す。

30

【0117】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号3～6、80若しくは154～215の配列、又は表1に記載する配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも97%の同一性又は少なくとも99%の同一性を有する抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表1に記載の配列番号3～6、80、又は154～215の配列を含む抗原結合ドメインを含む。

40

【0118】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号171の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも97%の同一性又は少なくとも99%の同一性を有する結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号171の配列を含む結合ドメインを含む。

【0119】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番

50

号3～6のうちのいずれか1つと少なくとも80%の同一性、少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも97%の同一性又は少なくとも99%の同一性を有するs c F v抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号3～6又は80のうちのいずれか1つの配列を含むs c F v抗原結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号3～6又は80からなる群から選択される配列から本質的になる。

【表2-1】

表2：MSLN相補性決定領域（CDR）の配列

#	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3	LC
1	NAWMS (配列番号 429)	RIKSKTDGGTTDYAAPVK G (配列番号 450)	DLPKLRNFHI (配列番号 471)	A
2	SYAMH (配列番号 430)	AISSNGGSTYYANSVKG (配列番号 451)	LEYHGFRQYGLRYWH (配列番号 472)	A
3	SGGYSWS (配列番号 431)	YIYHSGSTYYNPSLKS (配列番号 452)	IKFWFAGINYFFP (配列番号 473)	A
4	SYWMH (配列番号 449)	RINS DGSS TSYADSVKG (配列番号 453)	GFLGMGSNFI (配列番号 474)	A
5	SGGYWS (配列番号 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 454)	GDRARYFDL (配列番号 475)	A
6	SYWMH (配列番号 449)	RINS DGSS TSYADSVKG (配列番号 453)	YPRGYHQMVD AFDI (配列番号 476)	A
7	SSSYWG (配列番号 433)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 455)	VRFLAARTTIPEANFL (配列番号 477)	A
8	SYSMN (配列番号 434)	YISSSSSTIYYADSVKG (配列番号 456)	VLSRARFDY (配列番号 478)	A
9	SYSMN (配列番号 434)	SISSSSYIYYADSVKG (配列番号 457)	LRGRVFDP (配列番号 479)	A

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

10	SSSYWYG (配列番号 433)	SIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 455)	IKFTSFLYVHGFL (配列番号 480)	A
11	SYAMH (配列番号 430)	WINAGNGNTKYSQKFQG (配列番号 458)	GQRWLYLGGIRRH (配列番号 481)	A
12	SYWYS (配列番号 435)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 459)	EWIPSRPYFDY (配列番号 482)	A
13	SGGYWYS (配列番号 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 454)	ESTGTGAFDI (配列番号 483)	A
14	DYGMS (配列番号 436)	GINWNGGSTGYADSVKG (配列番号 460)	ERYRRVLHWYFDL (配列番号 484)	A
15	SYDIN (配列番号 437)	WMNPNSGNTGYAQKFQG (配列番号 461)	EPDAFDI (配列番号 485)	A
16	SGGYWYS (配列番号 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 454)	EHMGTIPYFDY (配列番号 486)	A
17	SGGYWYS (配列番号 432)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 454)	EEFGYGDVLY (配列番号 487)	A
18	SGDYWYS (配列番号 438)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 454)	EDVVKGAFDI (配列番号 488)	A
19	SYSMN (配列番号 434)	YISSSTIYYADSVKG (配列番号 456)	EDFSHKLGYFQH (配列番号 489)	A
20	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	DYDYV (配列番号 490)	A
21	SGDYWYS (配列番号 438)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 454)	DRRDWDWFDL (配列番号 491)	A
22	SSNWYS (配列番号 440)	EIYHSGSTYYNPSLKS (配列番号 463)	DQQALKYRVD (配列番号 492)	A
23	SYGIS (配列番号 441)	WISAYNGNTNYAQKLQG (配列番号 464)	DLTLGCFDY (配列番号 493)	A
24	SNYMS (配列番号 442)	VIYSGGSTYYADSVKG (配列番号 465)	DGSNSWYFDL (配列番号 494)	A
25	SYGMH (配列番号 443)	VIWYDGSNKYYADSVKG (配列番号 466)	AFLFLSFSV (配列番号 495)	A
26	DYTMH (配列番号 444)	LISWDGGSTYYADSVKG (配列番号 467)	GIFYSSKEDFDY (配列番号 496)	A
27	DYTMH (配列番号 444)	LISWDGGSTYYADSVKG (配列番号 467)	DIWIFYSSNPKPTVY (配列番号 497)	A

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

28	SYAMN (配列番号 445)	WINTNTGNPTYAQGFTG (配列番号 468)	KDQTLTYGNWFDP (配列番号 498)	A
29	SGSYYS (配列番号 446)	YIYSSGSTNYNPSLKS (配列番号 459)	DHYERGLY (配列番号 499)	A
30	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	YMYNWFYFDL (配列番号 500)	B
31	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	DRRPAFDI (配列番号 501)	B
32	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	HLKRRPYFDY (配列番号 502)	C
33	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	VHKKPIFDY (配列番号 503)	C
34	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	TSRRCTFQH (配列番号 504)	C
35	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	TSPRPLFQH (配列番号 505)	C
36	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	PYQVRGVYFDY (配列番号 506)	C
37	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	PYKKRRTVFDY (配列番号 507)	C
38	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	LQRGLALFQH (配列番号 508)	C
39	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	ILSVPYFDL (配列番号 509)	C
40	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	GWIRVPLRLPLFQH (配列番号 510)	C
41	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	VTIFAIFI (配列番号 511)	C
42	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	VGRGFVHFDL (配列番号 512)	C
43	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	TSRGLCVLFDY (配列番号 513)	C
44	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	SGPSSYWFYFDL (配列番号 514)	C
45	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	NIYMGGIWFDP (配列番号 515)	C

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

46	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	LTVRTGAFDI (配列番号 516)	C
47	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	LRTAHLDFDL (配列番号 517)	C
48	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	DLIFPVVFDY (配列番号 518)	C
49	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	DGYRKYGYVFFDI (配列番号 519)	C
50	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	DGRYRRFWHAFDI (配列番号 520)	C
51	DYYMS (配列番号 439)	YISSSGSTIYYADSVKG (配列番号 462)	AHIRGYFDL (配列番号 521)	C
52	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	WMGGGGRWYFDL (配列番号 522)	C
53	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	TSRTTWYFDL (配列番号 523)	C
54	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	WMGGGGRLYFDL (配列番号 524)	C
55	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	WGGRLYWYFDL (配列番号 525)	C
56	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	VIRQLWYFDL (配列番号 526)	C
57	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	VFANSWYFDL (配列番号 527)	C
58	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	VDRITWYFDL (配列番号 528)	C
59	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	RWGKDGYPYWYFDL (配列番号 529)	C
60	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	RRDSYGPYWYFDL (配列番号 530)	C
61	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	NRPPPGYWYFDL (配列番号 531)	C
62	SYAMS (配列番号 447)	AISGSGGSTIYYADSVKG (配列番号 469)	GRRFSWYFDL (配列番号 532)	C
	SGDYYWS (配列番号 438)	YIYYSGSTIYNPSLKS (配列番号 454)	CAREDVVKGAFDIW (配列番号 533)	A

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

	GYTMN (配列番号 448)	LITPYNGASSYNQKFRG (配列番号 470)	GGYDGRGFDY (配列番号 534)	D
軽鎖 CDR				
	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3	
A	RASQSISSYLN (配列番号 535)	AASSLQS (配列番号 539)	QQSYSTPLT (配列番号 542)	
B	RASQGISSWLA (配列番号 536)	AASSLQS (配列番号 539)	QQANSFPLT (配列番号 543)	
C	RASQGISSALA (配列番号 537)	DASSLES (配列番号 540)	QQFNSYPLT (配列番号 544)	
D	SASSSVSYM (配列番号 538)	DTSKLAS (配列番号 541)	QQWSGYPLT (配列番号 545)	

10

【0120】

表 2 において、示される重鎖（HC）CDR と対になった軽鎖（LC）CDR を左欄に示す。

20

【0121】

いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の HC CDR 1、HC CDR 2、及び HC CDR 3（例えば、表 2 のライン # 1、ライン # 2、ライン # 3 の HC CDR 1、HC CDR 2、及び HC CDR 3 など）、又は表 2 の CDR と比較して最大で 1、2、若しくは 3 個の置換、欠失、若しくは挿入を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3（例えば、表 2 のライン A、ライン B、又はライン C の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3）、又は表 2 の CDR と比較して最大で 1、2、若しくは 3 個の置換、欠失、若しくは挿入を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の HC CDR 1、HC CDR 2、及び HC CDR 3（例えば、表 2 のライン # 1、ライン # 2、ライン # 3 の HC CDR 1、HC CDR 2、及び HC CDR 3 など）を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3（例えば、表 2 のライン A、ライン B、又はライン C の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3）を含む。

30

【0122】

いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の HC CDR 1、HC CDR 2、HC CDR 3、LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3（例えば、ライン 1 に記載の HC CDR 1、HC CDR 2 及び HC CDR 3、並びにライン A の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3）を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の HC CDR 1、HC CDR 2、及び HC CDR 3（例えば、表 2 のライン # 1、ライン # 2、ライン # 3 の HC CDR 1、HC CDR 2、及び HC CDR 3 など）、又は表 2 の CDR と比較して最大で 1、2、若しくは 3 個の置換、欠失、若しくは挿入を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表 2 に記載の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3（例えば、表 2 のライン A、ライン B、又はライン C の LC CDR 1、LC CDR 2、及び LC CDR 3）、又は表 2 の CDR と比較して最大で 1、2、若しくは 3 個の置換

40

50

、欠失、若しくは挿入を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表2に記載の1つ以上のHC CDR及び表2に記載の1つ以上のLC CDRを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、(i)表2の1つのラインに記載のHC CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3（例えば、表2のライン#1、ライン#2、ライン#3のHC CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3など）、並びに(ii)表2の1つのラインに記載のLC CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3（例えば、表2のラインA、ラインB、又はラインCのLC CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3）を含む。各場合において、HC CDRは、重鎖及び軽鎖が類似性を共有するため、所望の発現及び結合活性を確認するための日常的な試験を用いて、LC CDRのいずれかと対合され得る。しかしながら、いくつかの実施形態の重鎖と軽鎖との間の好ましい対合は、表2の右側の欄に示される。

【0123】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、SGDY YWS（配列番号438）の配列を含むHC CDR1、YIYYSGSTYYNPS LKS（配列番号454）の配列を含むHC CDR2、及びCAREDVVKGAFDIW（配列番号533）の配列を含むHC CDR3、又はそれと比較して最大で1、2若しくは3個のアミノ酸置換、挿入、若しくは欠失を有するCDR配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、SGDY YWS（配列番号438）の配列を含むHC CDR1、YIYYSGSTYYNPS LKS（配列番号454）の配列を含むHC CDR2、及びCAREDVVKGAFDIW（配列番号533）の配列を含むHC CDR3を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、RASQSISSYLN（配列番号535）の配列を含むLC CDR1、AASSLQS（配列番号539）の配列を含むLC CDR2、及びQQSYSTPLT（配列番号542）の配列を含むLC CDR3、又はそれと比較して最大で1、2若しくは3個のアミノ酸置換、挿入、若しくは欠失を有するCDR配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、RASQSISSYLN（配列番号535）の配列を含むLC CDR1、AASSLQS（配列番号539）の配列を含むLC CDR2、及びQQSYSTPLT（配列番号542）の配列を含むLC CDR3を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、SGDY YWS（配列番号438）の配列を含むHC CDR1、YIYYSGSTYYNPS LKS（配列番号454）の配列を含むHC CDR2、CAREDVVKGAFDIW（配列番号533）の配列を含むHC CDR3、RASQSISSYLN（配列番号535）の配列を含むLC CDR1、AASSLQS（配列番号539）の配列を含むLC CDR2、及びQQSYSTPLT（配列番号542）の配列を含むLC CDR3、又はそれと比較して最大で1、2、若しくは3個のアミノ酸置換、挿入、若しくは欠失を有するCDR配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、SGDY YWS（配列番号438）の配列を含むHC CDR1、YIYYSGSTYYNPS LKS（配列番号454）の配列を含むHC CDR2、CAREDVVKGAFDIW（配列番号533）の配列を含むHC CDR3、RASQSISSYLN（配列番号535）の配列を含むLC CDR1、AASSLQS（配列番号539）の配列を含むLC CDR2、及びQQSYSTPLT（配列番号542）の配列を含むLC CDR3を含む。

【0124】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、scFvを含む。いくつかの実施形態において、scFvは、GYTMN（配列番号448）、LITPYNGASSYNQKFRG（配列番号470）及びGGYDGRGF DY（配列番号534）の配列から選択されるCDRを含む重鎖を含む。いくつかの実施形態において、重鎖は、GYTMN（配列番号448）、LITPYNGASSYNQKFRG（配列番号470）、及びGGYDGRGF DY（配列番号534）の配列を含む。いくつ

かの実施形態において、**s c F v**は、**S A S S S V S Y M H**（配列番号538）、**D T S K L A S**（配列番号541）、及び**Q Q W S G Y P L T**（配列番号545）の配列から選択される**C D R**を含む軽鎖を含む。いくつかの実施形態において、軽鎖は、**S A S S S V S Y M H**（配列番号538）、**D T S K L A S**（配列番号541）、及び**Q Q W S G Y P L T**（配列番号545）の配列を含む。

【0125】

M S L Nに特異的な抗原結合ドメインの例示的な重鎖及び軽鎖の配列を、以下の表3及び4に記載する。好ましい実施形態において、重鎖と対合した軽鎖が、表3の右側に示される。

【表3-1】

表2：重鎖可変断片（VH）の配列

#	配列番号	重鎖(VH)	LC
1	216	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGK GLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNS LKTEDTAVYYCTTDLPKLRNFHIWGQGTLLTVSS	A
2	217	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKG LEYVSAISSNGGSTYYANSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMGSRAE DMAVYYCASLEYHGFRQYGLRYWHWGQGTLLTVSS	A
3	218	QLQLQESGSLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQPPGK GLEWIGYIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDRSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCASIKFWFAGINYFFPWGQGTLLTVSS	A
4	219	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGK GLVWVSRINDGSSTSYADSVKGRFTISRDN AKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCASGFLGMGSNFIWGQGTLLTVSS	A
5	220	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGK GLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSLVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCASGDRARYFDLWGRGTLTVSS	A
6	221	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGK GLVWVSRINDGSSTSYADSVKGRFTISRDN AKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARYPRGYHQMVD AFDIWGQGTMTVTVSS	A
7	222	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARVRFLAARTTIPEANFLWGQGTLLTVSS	A
8	223	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKG LEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARVLSRARFDYWGQGTLLTVSS	A
9	224	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKG LEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARLRGRVDFPWGQGTLLTVSS	A
10	225	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDT SKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARIKFTSFLYVHGFLWGQGTLLTVSS	A

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

#	配列 番号	重鎖(VH)	LC
11	226	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSLR SEDTAVYYCARGQRWLYLGGIRRHWGQGLTVTVSS	A
12	227	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKLE WIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCAREWIPSRPYFDYWGQGLTVTVSS	A
13	228	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARESTGTGAFDIWGQGTMTVTVSS	A
14	229	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGK GLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLR AEDTALYHCARERYRRVLHWYFDLWGRGTLTVTVSS	A
15	230	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQ GLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTNRTSISTAYMELSSL RSEDTAVYYCAREPDAFDIWGQGTMTVTVSS	A
16	231	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCAREHMGTPYYFDYWGQGLTVTVSS	A
17	232	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCAREEFGYGDVLYWGQGLTVTVSS	A
18	233	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCAREDVVKGAFDIWGQGTMTVTVSS	A
19	234	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKG LEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCAREDFSHKLGYPQHWGQGLTVTVSS	A
20	235	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDYDYVWGQGLTVTVSS	A
21	236	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGK GLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARDRRDWDWFDPWGQGLTVTVSS	A

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

#	配列 番号	重鎖(VH)	LC
22	237	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGK GLEWIGEIIYHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARDQQALKYRVDWGQGTLVTVSS	A
23	238	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQG LEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLR SDDTAVYYCARDLTLGCFDYWGQGTLVTVSS	A
24	239	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKG LEWVSVIYSGGSTIYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDGSNSWYFDLWGRGTLVTVSS	A
25	240	QVQLVESGGGVVQPGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARAFLLSFSVWGQGTLVTVSS	A
26	241	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAPGK GLEWVSLISWDGGSTIYYADSVKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLR TEDTALYYCAKGIFYSSKEDFDYWGQGTLVTVSS	A
27	242	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAPGK GLEWVSLISWDGGSTIYYADSVKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLR TEDTALYYCAKDIWIFYSSNPKPTVYWGQGTLVTVSS	A
28	243	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFTSYAMNWVRQAPGQ GLEWMGWINTNTGNPTIYAQGFTGRFVFSFDTSVSTAYLQICSLK AEDTAVYYCARKDQTLTYGNWFDLPWGQGTLVTVSS	A
29	244	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIRQPPGK GLEWIGIYYSGSTINYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARDHYERGLYWGQGTLVTVSS	A
30	245	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARYMYNWFYDLWGRGTLVTVSS	B
31	246	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDRRPAFDIWGQGTMTVTVSS	B
32	247	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCAVHLKRRPYFDYWGQGTLVTVSS	C

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

#	配列 番号	重鎖(VH)	LC
33	248	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASVHKKPIFDYWGQGTLLTVSS	C
34	249	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASTSRRCTFQHWGQGTLLTVSS	C
35	250	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASTSPRPLFQHWGQGTLLTVSS	C
36	251	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASPYQVRGVYFDYWGQGTLLTVSS	C
37	252	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASPYKKRRTVFDYWGQGTLLTVSS	C
38	253	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASLQRLALFQHWGQGTLLTVSS	C
39	254	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASILSVPYFDLWGRGTLTVSS	C
40	255	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCASGWIRVPLRLPLFQHWGQGTLLTVSS	C
41	256	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARVTIFAIFDIWGQGTMTVTVSS	C
42	257	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARVGRGFVHFDLWGRGTLTVSS	C
43	259	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARTSRGLCVLFDYWGQGTLLTVSS	C

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

#	配列 番号	重鎖(VH)	LC
44	260	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARSGPSSYWFYFDLWGRGTLTVSS	C
45	261	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARNIYMGGIWFDPPWQGTLTVSS	C
46	262	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARLTVRTGAFDIWQGTMVTVSS	C
47	263	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARLRTAHLDFDLWGRGTLTVSS	C
48	264	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDLIFPVVFDYWGQGTTLTVSS	C
49	265	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDGYRKYGYVFFDIWGQGTMTVTVSS	C
50	266	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARDGRYRRFWHAFDIWGQGTMTVTVSS	C
51	267	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKG LEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAE DTAVYYCARAHIRGYFDLWGRGTLTVSS	C
52	268	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCATWMGGGGRWYFDLWGRGTLTVSS	C
53	269	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARTSRTTWYFDLWGRGTLTVSS	C
54	270	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKWMGGGGRLYFDLWGRGTLTVSS	C

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

#	配列 番号	重鎖(VH)	LC
55	271	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKWGGRLYWFYFDLWGRGTLTVSS	C
56	272	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKVIRQLWFYFDLWGRGTLTVSS	C
57	273	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKVFANSWYFDLWGRGTLTVSS	C
58	274	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKVDRTTWYFDLWGRGTLTVSS	C
59	275	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKRWGKDGPYWFYFDLWGRGTLTVSS	C
60	276	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKRRDSYGPYWFYFDLWGRGTLTVSS	C
61	277	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKNRPPPGYWFYFDLWGRGTLTVSS	C
62	278	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCAKGRRFSWYFDLWGRGTLTVSS	C

10

20

30

40

50

【表 4】

表 3：軽鎖可変断片（VL）の配列

#	配列番号	軽鎖(VL)
A	279	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYA ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGG GTKVEIK
B	280	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIY AASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPLTFG GGTKVEIK
C	281	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN SYPLTFGG GTKVEIK
D	282	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYD ASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGG GTKVEIK

10

20

【0126】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表3に記載の重鎖可変領域（VH）配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表3に記載のVHと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列同一性を有するVH配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表4に記載の軽鎖可変領域（VL）配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表4に記載の記載のVLと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列同一性を有するVL配列を含む。

30

【0127】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、（i）表2に記載のHC CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3配列（例えば、表2のライン#1、ライン#2、ライン#3のHC CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3など）を含み、（ii）表3に記載のVH配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列同一性を有するVHを含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、（i）表2の1つのラインに記載のLC CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3配列（例えば、表2のラインA、ラインB、又はラインCのLC CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3）、並びに表4に記載のVL配列を含み、（ii）表4に記載の記載のVLと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列同一性を有する。

40

【0128】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、（i）

50

表 3 に記載の V H 配列、又は表 3 に記載の V H と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する V H 配列、及び (i i) 表 4 に記載の V L 配列、又は表 4 に記載の V L と少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する V L を含む。各場合において、V H は、重鎖及び軽鎖が類似性を共有するため、所望の発現及び結合活性を確認するための日常的な試験を用いて、V L のいずれかと対合され得るが、表 3 と表 4 との間の好ましい対合は、表 4 の # 欄に対応する、表 3 の「L C」欄に示される。

10

【 0 1 2 9 】

いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号 2 3 3 の V H 配列、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、又は少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号 2 3 3 の V H 配列を含む。

【 0 1 3 0 】

いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号 2 7 9 の V L 配列、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、又は少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号 2 7 9 の V L 配列を含む。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号 2 3 3 の V H 配列、及び配列番号 2 7 9 の V L 配列、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、若しくは少なくとも 9 9 % の配列同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、V H 及び V L は、リンカー、例えば、G G G G S G G G S G G G S G G (配列番号 1 5 2) の配列を含むリンカーについて分離される。V H 及び V L は、任意の配向、例えば、V H、リンカー、V L、又は代替的に、V L、リンカー V H であり得る。

20

30

【 0 1 3 1 】

いくつかの実施形態において、本明細書に提供される抗原結合ドメインの C D R 中の 1 つ以上 (例えば、1、2、3、4、5、又は 6 個) のアミノ酸残基は、別のアミノ酸で置換される。置換は、アミノ酸の同じファミリー内の置換であるという意味で「保存的」であり得る。天然に存在するアミノ酸は、以下の 4 つのファミリーに分割され得、保存的置換はそれらのファミリー内で行われる。(1) 塩基性側鎖を有するアミノ酸：リジン、アルギニン、ヒスチジン；(2) 酸性側鎖を有するアミノ酸：アスパラギン酸、グルタミン酸；(3) 非荷電極性側鎖を有するアミノ酸：アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン；及び(4) 非極性側鎖を有するアミノ酸：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン、システイン。抗体の C D R のアミノ酸配列を、アミノ酸の付加、欠失又は置換によって変化させることにより、標的抗原に対する結合親和性の増加などの様々な効果が得られ得る。

40

【 0 1 3 2 】

キメラ抗原受容体 (C A R)

本開示は、第 1 の活性化因子受容体、及びそれを含む免疫細胞を提供する。いくつかの実施形態において、第 1 の受容体は、キメラ抗原受容体である。

50

【0133】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗原受容体（CAR）」という用語は、T細胞受容体に由来する人工受容体を指すことができ、特定の免疫エフェクター細胞に人工特異性を移植する操作された受容体を包含する。CARは、T細胞にモノクローナル抗体の特異性を付与するために用いられてもよく、それによって、例えば、養子細胞療法での使用のために、多数の特異的T細胞が生成されることが可能になる。特定の実施形態において、CARは、例えば、腫瘍関連抗原に対する細胞の特異性を指示する。例示的なCARは、細胞内活性化ドメイン、膜貫通ドメイン、及び腫瘍関連抗原結合領域を含む細胞外ドメインを含む。いくつかの実施形態において、CARは、ヒンジドメインを更に含む。特定の態様において、CARは、CD3膜貫通ドメイン及びエンドドメインに融合した、モノクローナル抗体に由来する一本鎖可変断片（scFv）の融合を含む。他のCAR設計の特異性は、受容体のリガンド（例えば、ペプチド）に由来し得る。ある特定の場合において、CARは、CD3、4-1BB、FcR、CD27、CD28、CD137、DAP10、及び／又はOX40などの追加の共刺激シグナル伝達のためのドメインを含む。ある場合には、分子は、共刺激分子、イメージングのためのレポーター遺伝子、プロドラッグの添加時にT細胞を条件付きで除去する遺伝子産物、ホーミング受容体、サイトカイン、及びサイトカイン受容体を含む、CARと同時発現され得る。

【0134】

いくつかの実施形態において、第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、CARの細胞外ドメインに融合される。

【0135】

いくつかの実施形態において、本開示のCARは、細胞外ヒンジ領域を含む。ヒンジ領域の組み込みは、CAR-T細胞からのサイトカイン産生に影響を及ぼし、インビボでのCAR-T細胞の拡大を改善することができる。例示的なヒンジは、IgD及びCD8ドメイン、例えば、IgG1から単離又は派生され得る。いくつかの実施形態において、ヒンジは、CD8α又はCD28から単離されるか、又は派生される。

【0136】

いくつかの実施形態において、ヒンジは、CD8α又はCD28から単離されるか、又は派生される。いくつかの実施形態において、CD8αヒンジは、TTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD（配列番号7）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CD8αヒンジは、配列番号7を含む。いくつかの実施形態において、CD8αヒンジは、配列番号7から本質的になる。いくつかの実施形態において、CD8αヒンジは、ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAACCAACCGGCGGCCCAACCATCGCGTTCGCGAGCCCTGTCCCTGCGCCCAAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCCTGTGAT（配列番号8）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、CD8αヒンジは、配列番号8によってコードされる。

【0137】

いくつかの実施形態において、CD28ヒンジは、CTIEVMYPPPYLDNEK SNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKP（配列番号9）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CD28ヒンジは、配列番号9を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、CD28ヒンジは、TGTAACCATTTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAA

CCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCC
CCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCC（配列番号10）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、CD28ヒンジは、配列番号10によってコードされる。

【0138】

本開示のCARは、CARの細胞外ドメインに融合される膜貫通ドメインを含むように設計され得る。いくつかの実施形態において、CARにおけるドメインのうちの1つと自然に会合する膜貫通ドメインが使用される。例えば、CD28共刺激ドメインを含むCARはまた、CD28膜貫通ドメインを使用してもよい。いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、同じ又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへのそのようなドメインの結合を避け、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限に抑えるために、アミノ酸置換によって選択又は修飾され得る。

【0139】

膜貫通ドメインは、天然又は合成源のいずれかに由来し得る。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質に由来し得る。膜貫通領域は、T細胞受容体、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154のアルファ、ベータ、若しくはゼータ鎖、又はIgG4などの免疫グロブリンから単離されてもよい、又は派生されてもよい（すなわち、それらの少なくとも膜貫通領域を含む）。代替的に、膜貫通ドメインは合成であってもよく、その場合、ロイシン及びバリンなどの主に疎水性残基を含む。いくつかの実施形態において、フェニルアラニン、トリプトファン、及びバリンのトリプレットは、合成膜貫通ドメインの各末端に見出される。任意選択で、好ましくは2～10アミノ酸長の短いオリゴリンカー又はポリペプチドリンカーが、CARの膜貫通ドメインと細胞質シグナル伝達ドメインとの間に結合を形成してもよい。グリシン-セリンダブレットは、特に好適なリンカーを提供する。

【0140】

本開示のCARのいくつかの実施形態において、CARは、CD28膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、CD28膜貫通ドメインは、FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWV（配列番号11）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CD28膜貫通ドメインは、配列番号11を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、CD28膜貫通ドメインは、TTCTGGGTGCTGGTCTGTTGTGGGCGGCGTGTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACAGTGGCCTTCAATCATCTTTTGGGTG（配列番号12）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、CD28膜貫通ドメインは、配列番号12によってコードされる。

【0141】

本開示のCARのいくつかの実施形態において、CARは、IL-2Rベータ膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、IL-2Rベータ膜貫通ドメインは、IPWLGHLLVGLSGAFGFIIILVYLLI（配列番号13）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、IL-2Rベータ膜貫通ドメインは、配列番号13を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、IL-2Rベータ膜貫通ドメインは、

【化 3】

ATTCCGTGGC TCGGCCACCT CCTCGTGGGC CTCAGCGGGG CTTTGGCTT CATCATCTTA
GTGTACTTGC TGATC

(配列番号 14) の配列と少なくとも 80% の同一性、少なくとも 90% の同一性、少なくとも 95% の同一性、少なくとも 99% の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、IL-2R ベータ膜貫通ドメインは、配列番号 14 によってコードされる。

【0142】

本開示の CAR の細胞質ドメイン、又はそうでなければ、細胞内シグナル伝達ドメインは、CAR が配置されている免疫細胞の正常なエフェクター機能のうちの少なくとも 1 つの活性化を担う。「エフェクター機能」という用語は、細胞の特殊化された機能を指す。したがって、「細胞内シグナル伝達ドメイン」という用語は、エフェクター機能シグナルを形質導入し、細胞に特殊化された機能を実行させるタンパク質の部分の部分を指す。通常、細胞内シグナル伝達ドメイン全体を用いることができるが、多くの場合、ドメイン全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインの切断部分が使用される範囲で、そのような切断部分は、エフェクター機能シグナルを形質導入する限り、インタクトな鎖の代わりに使用されてもよい。ある場合には、複数の細胞内ドメインを組み合わせて、本開示の CAR-T 細胞の所望の機能を達成することができる。したがって、細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能シグナルを形質導入するのに十分な 1 つ以上の細胞内シグナル伝達ドメインの任意の切断部分を含むことを意味する。

【0143】

本開示の CAR において使用するための細胞内シグナル伝達ドメインの例としては、T 細胞受容体 (TCR) の細胞質配列、及び抗原受容体関与後のシグナル伝達を開始するために協調的に作用する共受容体、並びにこれらの配列の任意の誘導体又はバリエーション、及び同じ機能的能力を有する任意の合成配列が挙げられる。

【0144】

したがって、本開示の CAR の細胞内ドメインは、少なくとも 1 つの細胞質活性化ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内活性化ドメインは、CAR-T 細胞のエフェクター機能を活性化するのに必要な T 細胞受容体 (TCR) シグナル伝達が存在することを確実にする。いくつかの実施形態において、少なくとも 1 つの細胞質活性化は、CD247 分子 (CD3ζ) 活性化ドメイン、刺激性キラー免疫グロブリン様受容体 (KIR) KIR2DS2 活性化ドメイン、又は 12 kDa (DAP12) 活性化ドメインの DNA X 活性化タンパク質である。

【0145】

いくつかの実施形態において、CD3ζ 活性化ドメインは、RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (配列番号 15) の配列と少なくとも 80% の同一性、少なくとも 90% の同一性、少なくとも 95% の同一性、少なくとも 99% の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。

【0146】

いくつかの実施形態において、CD3ζ 活性化ドメインは、配列番号 15 を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、CD3ζ 活性化ドメインは、AGAGTGAAGTTCAAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAA GCAGGGCCAGAACCAAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGCGTAGAGGCC GGGACCCCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCC TCAGGAAGGCCCTGTACAATGAACCTGCAGAAAGATAAGATG

G C G G A G G C C T A C A G T G A G A T T G G G A T G A A A G G C G A G C G C C
G G A G G G G C A A G G G G C A C G A T G G C C T T T A C C A G G G A C T C A G
T A C A G C C A C C A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G
G C C C T G C C C C C T C G C (配列番号 16) の配列と少なくとも 80% の同一性、
少なくとも 90% の同一性、少なくとも 95% の同一性、少なくとも 99% の同一性を有
するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施
形態において、CD3ζ 活性化ドメインは、配列番号 16 によってコードされる)。

【0147】

TCRのみを通じて生成されるシグナルは、多くの場合、T細胞の完全な活性化には不
十分であり、二次又は共刺激シグナルもまた必要であることが知られている。したがって
、T細胞活性化は、2つの異なるクラスの細胞質シグナル伝達配列である、TCRを介し
て抗原依存性の一次活性化を開始するもの(一次細胞質シグナル伝達配列)、及び二次又
は共刺激シグナルを提供するために抗原非依存的に作用するもの(二次細胞質シグナル伝
達配列)によって媒介されると言うことができる。

【0148】

一次細胞質シグナル伝達配列は、刺激的な方式、又は抑制的な方式のいずれかでTCR
複合体の一次活性化を調節する。刺激的な様式で作用する一次細胞質シグナル配列は、免
疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ又はITAMとして知られているシグナル伝達
モチーフを含有し得る。いくつかの実施形態において、ITAMは、任意の2つの他のア
ミノ酸(YxxL/I(配列番号546))によってロイシン又はイソロイシンから分離
されたチロシンを含有する。いくつかの実施形態において、細胞質ドメインは、1、2、
3、4、又は5個のITAMを含有する。例示的なITAM含有細胞質ドメインは、CD
3ζ 活性化ドメインである。本開示のCARに使用され得る一次細胞質シグナル伝達配列
を含有するITAMの更なる例としては、TCRζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、C
D3δ、CD3ε、CD3ζ、CD5、CD22、CD79a、CD79b、及びCD6
6dに由来するものが挙げられる。

【0149】

いくつかの実施形態において、単一のITAMを含むCD3ζ 活性化ドメインは、RV
KFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLHMQALPP
R(配列番号17)の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少
なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一である
アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CD3ζ 活性化ドメインは、配列番
号17を含む。いくつかの実施形態において、単一のITAMを含むCD3ζ 活性化ドメ
インは、RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLH
MQALPPR(配列番号17)のアミノ酸配列から本質的になる。いくつかの実施形態
において、単一のITAMを含むCD3ζ 活性化ドメインは、

【化4】

AGAGTGAAGT TCAGCAGGAG CGCAGACGCC CCCGCGTACC AGCAGGGCCA GAACCAGCTC
TATAACGAGC TCAATCTAGG ACGAAGAGAG GAGTACGATG TTTTGCACAT GCAGGCCCTG
CCCCCTCGC

(配列番号18)の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少な
くとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌ
クレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、CD3ζ 活性化ド
メインは、配列番号18によってコードされる。

【0150】

いくつかの実施形態において、CARの細胞質ドメインは、それ自体でCD3ζシグナ
ル伝達ドメインを含むか、又は本開示のCARの文脈において有用な任意の他の所望の細
胞質ドメインと組み合わせるように設計され得る。例えば、CARの細胞質ドメインは、

CD3ζ鎖部分及び共刺激ドメインを含むことができる。共刺激ドメインとは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むCARの一部を指す。共刺激分子は、抗原に対するリンパ球の効率的な応答に必要とされる、抗原受容体又はそのリガンド以外の細胞表面分子である。そのような分子の例としては、共刺激ドメインが挙げられ、その共刺激ドメインは、IL-2Rβ、Fc受容体ガンマ(FcRγ)、Fc受容体ベータ(FcRβ)、CD3g分子ガンマ(CD3γ)、CD3δ、CD3ε、CD5分子(CD5)、CD22分子(CD22)、CD79a分子(CD79a)、CD79b分子(CD79b)、がん胎児抗原関連細胞接着分子3(CD66d)、CD27分子(CD27)、CD28分子(CD28)、TNF受容体スーパーファミリーメンバー9(4-1BB)、TNF受容体スーパーファミリーメンバー4(OX40)、TNF受容体スーパーファミリーメンバー8(CD30)、CD40分子(CD40)、プログラム細胞死1(PD-1)、誘導性T細胞共刺激(ICOS)、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、CD2分子(CD2)、CD7分子(CD7)、TNFスーパーファミリーメンバー14(LIGHT)、キラー細胞レクチン様受容体C2(NKG2C)、及びCD276分子(B7-H3)共刺激ドメイン、又はそれらの機能的バリエーションからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、本開示のCARの細胞内ドメインは、少なくとも1つの共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態において、共刺激ドメインは、CD28から単離されるか、又は派生される。

【0151】

いくつかの実施形態において、本開示のCARの細胞内ドメインは、少なくとも1つの共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態において、共刺激ドメインは、CD28から単離されるか、又は派生される。いくつかの実施形態において、CD28共刺激ドメインは、RSKRSRL LHS DY MN MTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(配列番号19)の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、CD28共刺激ドメインは、配列番号19を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、CD28共刺激ドメインは、AGGAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGAACATGACCCCGGAGGCGCTGGCCCCACCCGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCTCCAGGGATTTCGCCGCGCTACCGGAGC(配列番号20)の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、CD28共刺激ドメインは、配列番号20によってコードされる。

【0152】

いくつかの実施形態において、共刺激ドメインは、4-1BBから単離されるか、又は派生される。いくつかの実施形態において、4-1BB共刺激ドメインは、KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(配列番号283)の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、4-1BB共刺激ドメインは、KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT TQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL(配列番号283)を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、4-1BB共刺激ドメインは、AAACGGGGCAGAAAGAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGGCCAGTACAAACTACTCAAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAAGAAAGAAAGGAGGAGGATGTGAACCTG(配列番号284)の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。

【0153】

いくつかの実施形態において、CARの細胞内ドメインは、CD28共刺激ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3ζ活性化ドメインを含む。いくつかの実施形態において、CARの細胞内ドメインは、RSKRSRL LHS DYMNMT PRRPGPT RKHYQPYAPP R D F A A Y R S K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G G C E L R V K F S R S A D A P A Y K Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R（配列番号285）の配列、又はそれと少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0154】

本開示のCARの細胞質シグナル伝達部分内の細胞質ドメインは、ランダム又は指定された順序で互いに連結され得る。任意選択で、例えば、2～10アミノ酸長の短いオリゴリンカー又はポリペプチドリンカーが、連結を形成してもよい。グリシン-セリンダブルットは、好適なリンカーの一例を提供する。例示的なリンカーは、GGGGSGGGSGGGSGGG（配列番号152）の配列を含む。

【0155】

本開示のCARの細胞質シグナル伝達部分内の細胞質ドメインは、ランダム又は指定された順序で互いに連結され得る。任意選択で、例えば、2～10アミノ酸長の短いオリゴリンカー又はポリペプチドリンカーが、連結を形成してもよい。グリシン-セリンダブルットは、好適なリンカーの一例を提供する。本開示の例示的な全長活性化因子受容体は、表20に記載される。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、表20に記載の配列番号286～347の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、表20に記載の配列番号286～347の配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号288の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号297の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号301の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号302の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号303の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号314の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号335の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号340の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の活性化因子受容体は、配列番号344の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0156】

本開示のCARの細胞質シグナル伝達部分内の細胞質ドメインは、ランダム又は指定された順序で互いに連結され得る。任意選択で、例えば、2～10アミノ酸長の短いオリゴ

10

20

30

40

50

リンカー又はポリペプチドリンカーが、連結を形成してもよい。グリシン-セリンダブルットは、好適なリンカーの一例を提供する。

【0157】

T細胞受容体（TCR）

本開示は、第1の活性化因子受容体、及びそれを含む免疫細胞を提供する。いくつかの実施形態において、第1の受容体は、T細胞受容体（TCR）である。

【0158】

本明細書で使用される場合、「TCR複合体」又は「TCR／CD3複合体」と呼ばれることもある「TCR」は、サブユニットと称されることもある、TCRアルファ鎖、TCRベータ鎖、及びインバリエントCD3鎖（ゼータ、ガンマ、デルタ、及びイプシロン）のうちの1つ以上を含むタンパク質複合体を指す。TCRアルファ鎖及びベータ鎖は、ペプチド-MHC複合体に結合するヘテロ二量体として機能するようにジスルフィド結合され得る。TCRアルファ／ベータヘテロ二量体がペプチド-MHCに関与すると、関連するインバリエントCD3サブユニット内のTCR複合体における立体構造変化が誘導され、これが、それらのリン酸化及び下流タンパク質との会合をもたらし、それによって一次刺激シグナルを形質導入する。例示的なTCR複合体では、TCRアルファ及びTCRベータポリペプチドは、ヘテロ二量体を形成し、CD3イプシロン及びCD3デルタは、ヘテロ二量体を形成し、ヘテロ二量体のためのCD3イプシロン及びCD3ガンマ、並びに2つのCD3ゼータは、ホモ二量体を形成する。

【0159】

任意の好適なリガンド結合ドメインは、本明細書に記載のTCRの細胞外ドメイン、ヒンジドメイン又は膜貫通に融合され得る。例えば、リガンド結合ドメインは、抗体若しくはTCRの抗原結合ドメインであってもよく、又は抗体断片、Vβのみのドメイン、直鎖抗体、一本鎖可変断片（scFv）、若しくは単一ドメイン抗体（sdAb）を含んでもよい。

【0160】

いくつかの実施形態において、リガンド結合ドメインは、1つ以上のTCRサブユニットの1つ以上の細胞外ドメイン又は膜貫通ドメインに融合される。TCRサブユニットは、TCRアルファ、TCRベータ、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD3ガンマ又はCD3ゼータであってもよい。例えば、リガンド結合ドメインは、TCRアルファ、若しくはTCRベータに融合され得るか、又はリガンド結合の部分は、2つのサブユニットに融合され得、例えば、リガンド結合ドメインの部分は、TCRアルファ及びTCRベータの両方に融合され得る。

【0161】

TCRサブユニットには、TCRアルファ、TCRベータ、CD3ゼータ、CD3デルタ、CD3ガンマ、及びCD3イプシロンが含まれる。TCRアルファ、TCRベータ鎖、CD3ガンマ、CD3デルタ、CD3イプシロン、若しくはCD3ゼータ、又はそれらの断片若しくは誘導体のうちのいずれか1つ以上は、本開示の刺激シグナルを提供することができる1つ以上のドメインに融合され得、それによって、TCR機能及び活性が増強される。

【0162】

任意の供給源から単離又は派生されるTCR膜貫通ドメインは、本開示の範囲内として想定される。膜貫通ドメインは、天然又は組換え源のいずれかに由来し得る。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質に由来し得る。

【0163】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、TCR複合体が標的に結合しているときはいつでも、細胞内ドメインにシグナル伝達することができる。本開示における特定の使用の膜貫通ドメインは、例えば、TCR、CD3デルタ、CD3イプシロン又はCD3ガンマ、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134

、CD137、CD154のアルファ、ベータ、又はゼータ鎖の膜貫通領域を少なくとも含み得る。

【0164】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジを介して、TCRのポリペプチドの細胞外領域、例えば、TCRアルファ又はベータ鎖の抗原結合ドメインに結合することができる。例えば、ヒンジは、ヒト免疫グロブリン(Ig)ヒンジ、例えば、IgG4ヒンジ、又はCD8αヒンジであってもよい。いくつかの実施形態において、ヒンジは、CD8α又はCD28から単離されるか、又は派生される。

【0165】

いくつかの実施形態において、細胞外リガンド結合ドメインは、TCRの1つ以上の膜貫通ドメインに結合される。いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、TCRアルファ膜貫通ドメイン、TCRベータ膜貫通ドメイン、又はその両方を含む。いくつかの実施形態において、膜貫通は、CD3ゼータ膜貫通ドメインを含む。

【0166】

膜貫通ドメインは、膜貫通領域に隣接する1つ以上の追加のアミノ酸、例えば、膜貫通が由来したタンパク質の細胞外領域と会合する1つ以上のアミノ酸(例えば、細胞外領域の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又は最大15個のアミノ酸)、及び／又は膜貫通タンパク質が由来するタンパク質の細胞内領域と会合する1つ以上の追加のアミノ酸(例えば、細胞内領域の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、又は最大15個のアミノ酸)を含み得る。

【0167】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、同じ又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへのそのようなドメインの結合を避け、例えば、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限に抑えるために、アミノ酸置換によって選択又は修飾され得る。

【0168】

存在する場合、膜貫通ドメインは、天然TCR膜貫通ドメイン、異種膜タンパク質由来の天然膜貫通ドメイン、又は人工膜貫通ドメインであってもよい。膜貫通ドメインは、膜アンカードメインであってもよい。限定されないが、天然又は人工膜貫通ドメインは、多くの場合、膜貫通セグメントに隣接する正電荷を有する、約20個のアミノ酸の疎水性α-ヘリックスを含み得る。膜貫通ドメインは、1つの膜貫通セグメント又は2つ以上の膜貫通セグメントを有し得る。膜貫通ドメイン／セグメントの予測は、公開されている予測ツールを使用して作製され得る(例えば、TMHMM, Krogh et al. Journal of Molecular Biology 2001; 305 (3): 567-580、又はTMpred, Hofmann & Stoffel Biol. Chem. Hoppe-Seyler 1993; 347: 166)。膜アンカー系の非限定的な例としては、血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)膜貫通ドメイン、グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)アンカー(シグナル配列に翻訳後付加される)などが挙げられる。

【0169】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、TCRアルファ膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、TCRアルファ膜貫通ドメインは、VIGFRILL LKVAGFNLLMTLR LW(配列番号21)の配列と少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも96%の同一性、少なくとも97%の同一性、少なくとも98%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、TCRアルファ膜貫通ドメインは、配列番号21を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、TCRアルファ膜貫通ドメインは、GTGATTGGGTTC CGAATCCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCAT GACGCTGCGGCTGTGG(配列番号22)の配列によってコードされる。

【0170】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、TCRベータ膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、TCRベータ膜貫通ドメインは、TILYEILLGKA TL YAVLVSA LVL（配列番号23）の配列と少なくとも85%の同一性、少なくとも90%の同一性、少なくとも95%の同一性、少なくとも96%の同一性、少なくとも97%の同一性、少なくとも98%の同一性、少なくとも99%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、TCRベータ膜貫通ドメインは、配列番号23を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、TCRベータ膜貫通ドメインは、ACCATCCTCTATGAGATCTTGCTAGGGAAGGCCACCTTGTAATGCCGTGCTGGTCA GTGCCCTCGTGCTG（配列番号24）の配列によってコードされる。

10

【0171】

本開示のTCRは、1つ以上の細胞内ドメインを含むことができる。本開示で使用するための細胞内ドメインを含む例示的なTCRは、2020年9月6日に出願されたPCT/US2020/045250に記載されており、その内容は参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、膜貫通ドメインに刺激シグナルを提供することができる1つ以上のドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、刺激シグナルを提供することができる第1の細胞内ドメイン、及び刺激シグナルを提供することができる第2の細胞内ドメインを含む。他の実施形態において、細胞内ドメインは、刺激シグナルを提供することができる第1、第2及び第3の細胞内ドメインを含む。刺激シグナルを提供することができる細胞内ドメインは、CD28分子（CD28）ドメイン、LCKがん原遺伝子、Srcファミリーチロシンキナーゼ（Lck）ドメイン、TNF受容体スーパーファミリーメンバー9（4-1BB）ドメイン、TNF受容体スーパーファミリーメンバー18（GITR）ドメイン、CD4分子（CD4）ドメイン、CD8a分子（CD8a）ドメイン、FYNがん原遺伝子、Srcファミリーチロシンキナーゼ（Fyn）ドメイン、T細胞受容体関連タンパク質キナーゼ70（ZAP70）ドメインのゼータ鎖、T細胞（LAT）ドメインの活性化のためのリンカー、リンパ球細胞質タンパク質2（SLP76）ドメイン、（TCR）アルファ、TCRベータ、CD3デルタ、CD3ガンマ、及びCD3イプシロン細胞内ドメインからなる群から選択される。

20

30

【0172】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。細胞内シグナル伝達ドメインは、機能細胞、例えば、TCR含有細胞、例えば、TCR発現T細胞の免疫エフェクター機能を促進するシグナルを生成する。いくつかの実施形態において、本開示の第1の受容体の細胞内ドメインは、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。例えば、CD3ガンマ、デルタ、又はイプシロンの細胞内ドメインは、シグナル伝達ドメインを含む。

【0173】

いくつかの実施形態において、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインは、同じタンパク質、例えば、T細胞受容体（TCR）アルファ、TCRベータ、CD3デルタ、CD3ガンマ、CD3イプシロン又はCD3ゼータから単離されるか、又はそれらから派生される。

40

【0174】

本開示の活性化因子受容体において使用するための細胞内ドメインの例としては、TCRアルファ、TCRベータ、CD3ゼータ、及び4-1BBの細胞質配列、並びに抗原受容体関与後のシグナル伝達を開始するために協調して作用する細胞内シグナル伝達共受容体、並びにこれらの配列の任意の誘導体又はバリエーション、及び同じ機能的能力を有する任意の組換え配列が挙げられる。

【0175】

いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次細胞内シグナル伝

50

達ドメインを含む。例示的な一次細胞内シグナル伝達ドメインには、一次刺激、又は抗原依存性刺激を担うタンパク質に由来するものが含まれる。

【0176】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、CD3デルタ細胞内ドメイン、CD3イプシロン細胞内ドメイン、CD3ガンマ細胞内ドメイン、CD3ゼータ細胞内ドメイン、TCRアルファ細胞内ドメイン、又はTCRベータ細胞内ドメインを含む。

【0177】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、TCRアルファ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、TCRアルファ細胞内ドメインは、Ser-Serを含む。いくつかの実施形態において、TCRアルファ細胞内ドメインは、TCCAGCの配列によってコードされる。

10

【0178】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、TCRベータ細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、TCRベータ細胞内ドメインは、MAMVKRKDSR（配列番号25）の配列と少なくとも80%の同一性、少なくとも90%の同一性を有するか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、TCRベータ細胞内ドメインは、配列番号25を含むか、又はそれから本質的になる。いくつかの実施形態において、TCRベータ細胞内ドメインは、ATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTCCAGA（配列番号26）の配列によってコードされる。

【0179】

いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、少なくとも1つの刺激性細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3デルタ、CD3ガンマ及びCD3イプシロン細胞内ドメインなどの一次細胞内シグナル伝達ドメイン、並びに1つの追加の刺激性細胞内ドメイン、例えば、共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3デルタ、CD3ガンマ及びCD3イプシロン細胞内ドメインなどの一次細胞内シグナル伝達ドメイン、並びに2つの追加の刺激性細胞内ドメインを含む。

20

【0180】

例示的な共刺激性細胞内シグナル伝達ドメインには、共刺激性シグナル、又は抗原非依存性刺激を担うタンパク質に由来するものが含まれる。共刺激分子には、MHCクラスI分子、BTLA、Tollリガンド受容体、並びにDAP10、DAP12、CD30、LIGHT、OX40、CD2、CD27、CDS、ICAM-1、LFA-1（CD11a/CD18）4-1BB（CD137、TNF受容体スーパーファミリーメンバー9）、及びCD28分子（CD28）が含まれるが、これらに限定されない。共刺激タンパク質は、以下のタンパク質ファミリーに表され得る：TNF受容体タンパク質、免疫グロブリン様タンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、シグナル伝達リンパ球活性化分子（SLAMタンパク質）、及びNK細胞活性化受容体。このような分子の例としては、CD27、CD28、4-1BB（CD137）、OX40、GITR、CD30、CD40、ICOS、BAFFR、HVEM、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、SLAMF7、NKP80、CD160、B7-H3、CD83、CD4と特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。共刺激ドメインは、それが由来する分子の細胞内部分全体、若しくは天然の細胞内シグナル伝達ドメイン全体、又はそれらの機能的バリエーションを含むことができる。

30

【0181】

いくつかの実施形態において、刺激ドメインは、共刺激ドメインを含む。いくつかの実施形態において、共刺激ドメインは、CD28又は4-1BB共刺激ドメインを含む。CD28及び4-1BBは、完全なT細胞活性化に必要な十分に特徴付けられた共刺激分子であり、T細胞エフェクター機能を増強することが知られている。例えば、CD3ゼータシグナル伝達ドメインのみを含有する第1世代のCARにわたるサイトカインの放出、細胞溶解機能、及び持続性を強化するために、CD28及び4-1BBがキメラ抗原受容体

40

50

(CAR)において利用されている。同様に、TCRに共刺激ドメイン、例えば、CD28及び4-1BBドメインを含めることにより、T細胞エフェクター機能を増加させることができ、典型的には、腫瘍細胞の表面上で下方制御される共刺激リガンドの不在下での共刺激を特異的に可能にすることができる。いくつかの実施形態において、刺激ドメインは、CD28細胞内ドメイン又は4-1BB細胞内ドメインを含む。

【0182】

抑制性受容体

本開示は、がん細胞、例えば、遺伝子の対立遺伝子バリエーションにおいて喪失している非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体を提供する。非標的対立遺伝子バリエーションは、限定されないが、非標的対立遺伝子バリエーションの発現に影響を及ぼすエピジェネティック変化、非標的対立遺伝子バリエーションをコードする遺伝子に対する変異、非標的対立遺伝子バリエーションの発現を調節する細胞シグナル伝達の破壊、染色体消失、ゲノム遺伝子座の部分的若しくは完全な欠失、核酸若しくはヘテロクロマチンの修飾による遺伝子サイレンシング、又は他の機構による発現の喪失などの任意の機構を通してがん細胞内で喪失され得る。本明細書に開示される組成物及び方法の変形例において、処理された細胞又は対象は、非遺伝的変化のために非標的対立遺伝子バリエーションの発現の喪失を示し得る。したがって、本開示は、ヘテロ接合性の喪失を含むが、これに限定されない任意の原因からの非標的抗原の発現を欠く細胞を死滅させる、かつ／又は対象を治療するための組成物及び方法を提供する。

【0183】

非標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスI (MHC-I) との複合体におけるタンパク質、又はその抗原ペプチドであってもよく、非標的抗原は多型を含む。非標的抗原は多型であるため、がん細胞内のヘテロ接合性の喪失によって生じ得る、非標的抗原をコードする遺伝子の単一コピーの喪失は、遺伝子の他の多型バリエーションを保持するが、非標的抗原を喪失したがん細胞を生じる。例えば、HLA遺伝子座にHLA-A*02及びHLA-A*01対立遺伝子を有する対象は、HLA-A*02対立遺伝子のみが喪失されるがんを有し得る。このような対象において、HLA-A*01タンパク質は依然として存在するが、抑制因子受容体が、HLA-A*02 (又は他の非標的抗原) に特異的であるように設計されているため、がん細胞に遭遇する免疫細胞の抑制性受容体によって認識されない。正常な非悪性細胞において、HLA-A*02 (又は他の非標的抗原) が存在し、操作された免疫細胞の活性化を阻害する。ヘテロ接合性の喪失を有するがん細胞において、HLA-A*02対立遺伝子バリエーション (又は他の非標的抗原) が喪失される。抑制性受容体は、がん細胞には存在しないHLA-A*02 (又は他の非標的抗原) にのみ応答するため、抑制性受容体を発現するように操作された免疫細胞は、抑制性受容体から抑制シグナルを受け取らない。この機構によって、免疫細胞は、選択的に活性化され、MSLNを発現するが、ヘテロ接合性の喪失によりHLA-A*02 (又は別の非標的抗原) を喪失しているがん細胞を選択的に死滅させる。本明細書では、HLA-Aを例として使用する。同様の多型変異は、他のMHC遺伝子の集団においても、また他の非MHC遺伝子においても生じる。したがって、本開示は、細胞間接着分子1 (ICAM1)、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT)、C-X-Cモチーフケモカインリガンド16 (CXCL16)、ロイシンリッチリピートニューロナル4 (LRRN4) 及びウロプラキン3B (UPK3B) から選択される非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメイン、又は主要組織適合性複合体クラスI (MHC-I) との複合体におけるそれらの抗原ペプチドを含む、第2の受容体を提供し、非標的抗原は、非同義の細胞外ドメイン多型 (例えば、ICAM1、COMT、CXCL16の細胞外ドメインにおける)、及びそれらを含む免疫細胞を含み得る。いくつかの実施形態において、第2の受容体は、抑制性キメラ抗原受容体である。代替的に、非標的抗原は、発現が腫瘍内で喪失されるが、重要なMSLN発現正常組織 (例えば、LRRN4、UPK3B) に存在するタンパク質を含んでもよい。

【0184】

例示的な抑制性受容体は、2020年9月6日に出願されたPCT/US2020/045228、2020年12月11日に出願されたPCT/US2020/064607、2021年4月29日に出願されたPCT/US2021/029907、及び2020年11月10日に出願されたPCT/US2020/059856に記載されており、これらの各々の内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0185】

いくつかの実施形態において、第2の受容体は、ヒト化される。

【0186】

本開示は、非標的抗原の単一アミノ酸バリエーション対立遺伝子を区別することができる細胞外リガンド結合を含む、抑制性受容体である、第2の受容体を提供する。非標的抗原の対立遺伝子バリエーションを区別するこの能力は、第2の受容体が、リガンド結合ドメインによって認識される対立遺伝子を発現する非標的細胞の存在下で、第2の受容体を含む免疫細胞の活性化を抑制することを可能にする。しかしながら、免疫細胞の活性化は、対立遺伝子を喪失した標的細胞、例えば、ヘテロ接合性の喪失により遺伝子の1つの対立遺伝子を喪失したがん細胞の存在下では抑制されない。

【0187】

本開示は、非標的抗原の異なるレベルの発現を区別することができる細胞外リガンド結合を含む、抑制性受容体である、第2の受容体を提供する。これにより、第2の受容体が、第2の受容体に対するリガンドを発現する非標的細胞の存在下で第2の受容体を含む免疫細胞の活性化を抑制することを可能にするが、第2の受容体に対するリガンドの低いレベルを発現するか、又は発現しないがん細胞の存在下での免疫細胞の活性化を可能にする。

【0188】

抑制因子リガンド

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、標的細胞によって発現されず、非標的細胞によって発現される。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、健常な細胞、すなわち、がん細胞ではない細胞によって発現される。いくつかの実施形態において、標的細胞は、ヘテロ接合性の喪失（LOH）を通じて非標的抗原の発現を喪失した複数のがん細胞である。いくつかの実施形態において、非標的細胞は、標的及び非標的抗原の両方を発現する、複数の健常な細胞（すなわち、非がん細胞）である。

【0189】

標的細胞によって発現されない、非標的細胞によって発現される任意の細胞表面分子は、第2の受容体細胞外リガンド結合ドメインに好適な非標的抗原であり得る。例えば、細胞接着分子、細胞間シグナル伝達分子、細胞外ドメイン、走化性に関与する分子、糖タンパク質、Gタンパク質共役受容体、膜貫通、神経伝達物質のための受容体、又は電圧依存性イオンチャネルを、非標的抗原として使用することができる。

いくつかの実施形態において、標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスI（MHC-I）との複合体におけるがん細胞特異的抗原のペプチド抗原である。

【0190】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、ヘテロ接合性の喪失に起因してがん細胞内で喪失される。ヘテロ接合性の喪失によりがん細胞内で喪失した例示的な非標的抗原には、ICAM1、COMT及びCXCL16が含まれる。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、ICAM1、COMT及びCXCL16の多型バリエーションからなる群から選択される。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスI（MHC-I）との複合体におけるICAM1、COMT、又はCXCL16の多型残基を含む抗原ペプチドである。

【0191】

HLA-A、HLA-B、HLA-C、又はHLA-Eのいずれかを含む非標的主要組織適合性複合体クラスI MHC-I（又はpMHC-I）抗原は、本開示の範囲内であると想定される。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、主要組織適合性複合体（MHC）タンパク質を含む。いくつかの実施形態において、MHCはMHCクラスIであ

10

20

30

40

50

る。いくつかの実施形態において、MHCクラスIIタンパク質は、ヒト白血球抗原（HLA）タンパク質を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、又はHLA-Eからなる群から選択されるHLAクラスIIタンパク質の対立遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、HLA-A対立遺伝子は、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、又はHLA-A*11を含む。いくつかの実施形態において、HLA-B対立遺伝子は、HLA-B*07を含む。いくつかの実施形態において、HLA-C対立遺伝子は、HLA-C*07を含む。

【0192】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Aを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Aの対立遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、HLA-Aの対立遺伝子は、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、又はHLA-A*11を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*69を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、ヒト白血球抗原A*02対立遺伝子（HLA-A*02）を含む。

【0193】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Bの対立遺伝子を含む。いくつかの実施形態において、HLA-Bの対立遺伝子は、HLA-B*07を含む。

【0194】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Cを含む。いくつかの実施形態において、HLA-C対立遺伝子は、HLA-C*07を含む。

【0195】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-Iとの複合体におけるICAM1又はその抗原ペプチドを含む。ヒトICAM1は、がん細胞においてLOHを介して頻繁に喪失される。

【0196】

野生型ヒトICAM1は、NCBI記録番号NP_000192.2に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、ICAM1は、

【化5】

```

1 MAPSSPRPAL PALLVLLGAL FPGPGNAQTS VSPSKVILPR GGSVLVTCST SCDQPKLLGI
61 ETPLPKKELL LPGNNRKVYE LSNVQEDSQP MCYSNCPDGQ STAKTFLTVY WTPERVELAP
121 LPSWQPVGKN LTLRCQVEGG APRANLTVVL LRGEKELKRE PAVGEPAEVT TTVLVRRDHH
181 GANFSCRTTEL DLRPQGLELF ENTSAPYQLQ TFVLPATPPQ LVSPRVLEVD TQGTVVCSLD
241 GLFPVSEAQV HLAGDQRLN PTVTYGNDSE SAKASVSVTA EDEGTQRLTC AVILGNQSQE
301 TLQTVTIYSF PPNVILTKP EVSEGTEVTV KCEAHPRKV TLNGVPAQPL GPRAQLLLKA
361 TPEDNGRSFS CSATLEVAGQ LIHKNQTRRL RVLYGPRLDE RDCPGNWTWP ENSQQTPMCQ
421 AWGNPLPELK CLKDGTFLPL IGESVTVTRD LEGTYLCRAR STQGEVTRKV TVNVLSPRYE
481 IVIITVVAAG VIMGTAGLST YLYNRQRKIK KYRLQQAQKG TPMKPNTQAT PP

```

（配列番号27）のアミノ酸配列を含む。

【0197】

いくつかの実施形態において、ICAM1は、配列番号27と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を共有する配列を含む。ICAM1の多型残基は、配列番号27に太字としてマークされ、下線が引かれている。例えば、rs5498は、配列番号27の469位にある多型であり、K又はEであり得る。

【0198】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、ICAM1の多型を含む。例えば、非標的抗原は、ICAM1の多型残基を含むICAM1に由来するペプチドを含む。ICAM1の多型残基は、配列番号27のアミノ酸残基469を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号27のアミノ酸469を含む、ICAM1のペプチドを含む

。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 27 の 469 位に K を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 27 の 469 位に E を含む。

【0199】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 27 の 469 位に K を有する ICAM1 多型を含み、第 2 の受容体は、配列番号 27 の 469 位に E を有する ICAM1 リガンドに対してよりも、配列番号 27 の 469 位に K を有する ICAM1 リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 27 の 469 位に E を有する ICAM1 多型を含み、第 2 の受容体は、配列番号 27 の 469 位に K を有する ICAM1 リガンドに対してよりも、配列番号 27 の 469 位に E を有する ICAM1 リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。

10

【0200】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-I との複合体における COMT 又はその抗原ペプチドを含む。ヒト COMT は、がん細胞において LOH を介して頻繁に喪失される。

【0201】

野生型ヒト COMT は、NCBI 記録番号 NP_000192.2 に記載されており、その内容は、それらの体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、COMT は、以下のアミノ酸配列を含む：

【化 6】

20

```

1 MPEAPPLLLA AVLLGLVLLV VLLLLLRHWG WGLCLIGWNE FILQPIHNLL MGDTKQORIL
61 NHVLQHAEPG NAQSVLEAID TYCEQKEWAM NVGDKKGKIV DAVIQEHQPS VLLELGAYCG
121 YSAVRMARLL SPGARLITIE INPDCAAITQ RMVDFAGVKD KVTLVVGASQ DIIPQLKKKY
181 DVDTLDMVFL DHWKDRYLPD TLLLEECGLL RKGTVLLADN VICPGAPDFL AHVRGSSCFE
241 CTHYQSFLFY REVVDGLEKA IYKPGGSEAG P (配列番号 28)。
```

【0202】

いくつかの実施形態において、COMT は、配列番号 28 と少なくとも 80 %、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、又は少なくとも 99 % の同一性を共有する配列を含む。COMT の多型残基は、配列番号 28 に太字としてマークされ、下線が引かれている。例えば、V158M は、配列番号 28 の 158 位にある多型であり、V 又は M であり得る。

30

【0203】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、COMT の多型を含む。例えば、非標的抗原は、COMT の多型残基を含む COMT に由来するペプチドを含む。COMT1 の多型残基は、配列番号 28 のアミノ酸残基 158 を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 28 のアミノ酸 158 を含む、COMT のペプチドを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 28 の 158 位に V を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 28 の 158 位に M を含む。

【0204】

40

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 28 の 158 位に V を有する COMT 多型を含み、第 2 の受容体は、配列番号 28 の 158 位に M を有する COMT リガンドに対してよりも、配列番号 28 の 158 位に V を有する COMT リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号 28 の 158 位に M を有する COMT 多型を含み、第 2 の受容体は、配列番号 28 の 158 位に V を有する COMT リガンドに対してよりも、配列番号 28 の 158 位に M を有する COMT リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。

【0205】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-I との複合体において C-X-

50

Cモチーフケモカインリガンド16 (CXC L 16) 又はその抗原ペプチドを含む。ヒトCXC L 16前駆体は、NCBI記録番号NP_001094282.1に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、CXC L 16は、

【化7】

```

1 MSGSQSEVAP SPQSPRSPER GRDLRPGSRV LLLLLLLLLLV YLTQPGNGNE GSVTGSCYCG
61 KRISDSPPS VQFMNRLRKH LRAYHRCLYY TRFQLLSWSV CGGNKDPWVQ ELMSCLDLKE
121 CGHAYSGIVA HQKHLPTSP PISQASEGAS SDIHTPAQML LSTLQSTQRP TLPVGSLSDD
181 KELTRPNETT IHTAGHSLAA GPEAGENQKQ PEKNAGPTAR TSATVPVLCL LAIIFILTA
241 LSYVLCKRRR GQSPQSSPDL PVHYIFVAPD SNT (配列番号29)

```

10

のアミノ酸配列を含む。

【0206】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、CXC L 16の多型を含む。例えば、非標的抗原は、CXC L 16の多型残基を含むCXC L 16に由来するペプチドを含む。CXC L 16の多型残基は、配列番号29の142位及び200位を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸142又は200を含むCXC L 16のペプチドを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸200におけるAを含む、CXC L 16のペプチドを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸200におけるVを含む、CXC L 16のペプチドを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸142におけるIを含む、CXC L 16のペプチドを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸142におけるTを含む、CXC L 16のペプチドを含む。

20

【0207】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、CXC L 16の多型を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸200におけるAを含むCXC L 16のペプチドを含み、第2の受容体は、配列番号29の200位におけるVを有するCXC L 16リガンドに対してよりも、配列番号29の200位におけるAを有するCXC L 16リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸200におけるVを含むCXC L 16のペプチドを含み、第2の受容体は、配列番号29の200位におけるAを有するCXC L 16リガンドに対してよりも、配列番号29の200位におけるVを有するCXC L 16リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸142におけるIを含むCXC L 16のペプチドを含み、第2の受容体は、配列番号29の142位におけるTを有するCXC L 16リガンドに対してよりも、配列番号29の142位におけるIを有するCXC L 16リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、配列番号29のアミノ酸142におけるTを含むCXC L 16のペプチドを含み、第2の受容体は、配列番号29の142位におけるIを有するCXC L 16リガンドに対してよりも、配列番号29の142位におけるTを有するCXC L 16リガンドに対して高い親和性を有するリガンド結合ドメインを含む。

30

40

【0208】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*11、HLA-B*07、又はHLA-C*07を含む。本明細書に記載の実施形態で使用するために、特定のHLA対立遺伝子に結合するか、又はそれらを認識する様々な単一可変ドメインを表5に記載する。(相補性決定領域には下線が引かれている)：

50

【表 5 - 1】

表 5 : HLA s c F v 結合ドメイン

HLA-A*02 抗原結合ドメイン	
DVLMTQTPLSLPVSL GDQASISCRSSSIVH SNGNTYLEWYLQKP GQSPKLLIYKVS SGVPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHPRTSGG GTKLEIKGGGSGGG GSGGGSGGGQVQLQ QSGPELVKPGASVRI SCKASGYTETSYHH WVKQRPGQGLEWIG WIYPGNVNTHEYNEK FKGKATLTADKSSST AYMHLSSLTSEDSAV YFCAREEITYAMDY WGQGTSVTVSS (配列番号 30)	GATGTTTTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCA GTCTTGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGAGATCTAGTCA GAGCATTGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTAGAATG GTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGAT CTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAA GATCAGTAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTA CTGCTTTCAAGGTTACATGTTCTCGGACGTCCGGTGGG GGCACCAAGCTGGAAATCAAAGGCGGAGGTGGAAGCGG AGGGGGAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCCAGG TCCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTG GGGCTTCAGTGAGGATATCCTGCAAGGCTTCTGGCTACA CCTTCACAAGTTACCATATACATTGGGTGAAGCAGAGGC CTGGACAGGGACTTGAGTGGATTGGATGGATTTATCCTG GAAATGTAAATACTGAGTACAATGAGAAGTTCAAGGGCA AGGCCACACTGACTGCAGACAAATCGTCCAGCACAGCCT ACATGCACCTCAGCAGCCTGACCTCTGAGGACTCTGCGG TCTATTTCTGTGCCAGAGAGGAGATTACCTATGCTATGG ACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTGTCTCTCA (配列番号 548)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF TSYHIHWVRQAPGQ GLEWMGWIYPQNVN TEYNEKFKGKATITA DKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREEIT YAMDYWGQGTITV VSSGGGSGGGGSG GGSGGEIVLTQSPG TLSLSPGERATLSCR SQSIHVSNGNTYLEW YQKPGQAPRLLIYK VSNRFSGIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPED FAVYYCFQGSHPRT FGGGTKVEIK (配列番号 31)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAA GCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACTAGCTATCATATACATTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTA CCCTGGCAATGTTAACACAGAATATAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGCCACCATTACCGCGGACAAATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACG CTATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCACAGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGAGATTGTATTGACCCAGAG CCCAGGCACCCTGAGCCTCTCTCCAGGAGAGCGGGCCAC CCTCAGTTGTAGATCCAGTCAGAGTATTGTACACAGTAA TGGGAACACCTATTTGGAATGGTATCAGCAGAAACCAGG TCAAGCCCCAAGATTGCTCATCTACAAAGTCTCTAACAG ATTTAGTGGTATTCCAGACAGGTTTCAGCGGTTCCGGAAG TGGTACTGATTTACCCTCACGATCTCCAGGCTCGAGCCA GAAGATTTGCGCGTTTATTACTGTTTTCAAGGTTACATG TGCCGCGCACATTCGGTGGGGGTACTAAAGTAGAAATCA AA (配列番号 549)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSK<u>ASGYTF</u> <u>TSYHIHWVRQAPGQ</u> GLEWMGWIYPGNVN <u>TEYNEKFKGKATITA</u> DKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCARE<u>EIT</u> <u>YAMDYWGQGT</u>TVT VSSGGGSGGGGSG GGGSGGDIVMTQTPL SLPVTPGEPASIS<u>CRS</u> <u>SOSIVHSNGNTYLEW</u> <u>YLOKPGQSPOLLIYK</u> <u>VSNRFS</u>GVPDRFSGS GS~~GT~~DFTLKISRVEA EDVGVYYC<u>FQGS</u>HV <u>PR</u>IFGGGTKVEIK (配列番号 32)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAA GCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACTAGCTATCATATACATTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTA CCCTGGCAATGTTAACACAGAATATAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGCCACCATTACCGCGGACAAATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACG CTATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCACAGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATTGTAATGACCCAGAC CCCACTCAGCCTGCCCCGTCCTCCAGGAGAGCCGGCCAG CATCAGTTGTAGATCCAGTCAGAGTATTGTACACAGTAA TGGGAACACCTATTTGGAATGGTATCTGCAGAAACCAGG TCAATCCCCACAATTGCTCATCTACAAAGTCTCTAACAG ATTTAGTGGTGTACCAGACAGGTTTCAGCGGTTCCGGAAG TGGTACTGATTTACCCTCAAGATCTCCAGGGTCGAGGC AGAAGATGTCGGCGTTTATTACTGTTTTCAAGGTTACAT GTGCCGCGCACATTTCGGTGGGGGTACTAAAGTAGAAATC AAA (配列番号 550)

10

20

30

40

50

【表 5 - 4】

<u>EVQLVESGGGLVKP</u> <u>GGSLRLSCAASGYTF</u> <u>TSYHIHWVRQAPGK</u> <u>GLEWVGWIYPGNVN</u> <u>TEYNEKFKGRTISR</u> <u>DDSKNTLYLQMNSL</u> <u>KTEDTAVYYCAREEI</u> <u>TYAMDYWGQGTTV</u> <u>TVSSGGGSGGGGS</u> <u>GGGSGGDIQMTQS</u> <u>PSSLSASVGDRVITIC</u> <u>RSSQSIIVHSNGNTYL</u> <u>EWYQQKPGKAPKLL</u> <u>IYKVSNRFSGVPSRFS</u> <u>GSGSGTDFTLTISLQ</u> <u>PEDFATYYCFQGS HV</u> <u>PRTFGGGTKVEIK</u> (配列番号 33)	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGTGGGCTGGTGAA GCCTGGGGGCTCACTGAGGCTTTCCTGCGCGGCTTCTGG ATACACCTTCACTAGCTATCATATACATTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGAAAAGGGCTTGAGTGGGTGGGATGGATCTA CCCTGGCAATGTTAACACAGAATATAATGAGAAGTTCAA GGGCAGATTCACCATTAGCAGGGACGATTCCAAGAACAC ACTCTACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAAGTGAAGACAC GGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGC TATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCACAGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATTCAAATGACCCAGAGC CCATCCAGCCTGAGCGCATCTGTAGGTGACCGGGTCACC ATCACTTG TAGATCCAGTCAGAGTATTGTACACAGTAAT GGGAACACCTATTTGGAATGGTATCAGCAGAAACCAGGT AAAGCCCCAAAATTGCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGA TTTAGTGGTGTACCAAGCAGGTTTACGCGGTTCCGGAAGT GGTACTGATTTACCCCTCACGATCTCCTCTCTCCAGCCAG AAGATTTGCGCACTTATTACTGTTTTCAAGGTTACATGT GCCGCGCACATTCGGTGGGGGTACTAAAGTAGAAATCAA A (配列番号 551)

10

20

30

40

50

【表 5 - 5】

QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSKKASGYTF TSYHIHWVRQAPGQ GLEWIGWIYPGNVN TEYNEKFKGKATITA DESTNTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREEIT YAMDYWGQGLVT VSSGGGSGGGGSG GGSGGGDIQMTQSPS TLASVGDRTITCR SSQIVHSNGNTYLE WYQKPGKAPKLLI YKVSNRFSGVPARFS GSGSGTEFTLTISLQ PDDFATYYCFQGS VPRTFGQGTKVEVK (配列番号 34)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAA GCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACTAGCTATCATATACATTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGATGGATCTA CCCTGGCAATGTTAACACAGAATATAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGCCACCATTACCGCGGACGAATCCACGAACA CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACA CGGCTGTGTATTACTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACG CTATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATTCAAATGACCCAGAG CCCATCCACCCTGAGCGCATCTGTAGGTGACCGGGTCAC CATCACTTGATAGATCCAGTCAGAGTATTGTACACAGTAA TGGGAACACCTATTTGGAATGGTATCAGCAGAAACCAGG TAAAGCCCCAAAATTGCTCATCTACAAAGTCTCTAACAG ATTTAGTGGTGTACCAGCCAGGTTTACGCGGTTCCGGAAG TGGTACTGAATTCACCCTCACGATCTCCTCTCTCCAGCCA GATGATTTGCGCACTTATTACTGTTTTCAAGGTTACATG TGCCGCGCACATTCGGTCAGGGTACTAAAGTAGAAGTCA AA (配列番号 552)

10

20

30

40

50

【表 5 - 6】

QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYTF <u>TSYHMHWRQAPG</u> <u>QGLEWIGYIYPQNVN</u> <u>TEYNEKFKGKATLT</u> ADKSTNTAYMELSSL RSED~~T~~AVYFCAREEI <u>TYAMDYWGQGTIV</u> TVSSGGGSGGGGS GGGSGGDVQMTQS PSTLSASVGDRVTITC <u>SSQSIVHSNGNTYM</u> <u>EWYQQKPGKAPKLL</u> <u>IYKVS</u>NRFSGVPDRF SGSGSGTEFTLTISL QPDDFATYYCHQGS <u>HVPRT</u>FGQGTKVEV K (配列番号 35)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAA GCCTGGGTCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACTAGCTATCATATGCATTGGGTGCGCCA GGCCCCCGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGATACATCTA CCCTGGCAATGTTAACACAGAATATAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGCCACCCTTACCGCGGACAAATCCACGAACAC AGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACAC GGCTGTGTATTTCTGTGCGAGGGAGGAAATTACCTACGC TATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACGTTCAAATGACCCAGAGC CCATCCACCCTGAGCGCATCTGTAGGTGACCGGGTCACC ATCACTTGTAGCTCCAGTCAGAGTATTGTACACAGTAAT GGGAACACCTATATGGAATGGTATCAGCAGAAACCAGGT AAAGCCCCAAAATTGCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGA TTTAGTGGTGTACCAGACAGGTTTACGCGTTCCGGAAGT GGTACTGAATTCACCCTCACGATCTCCTCTCTCCAGCCAG ATGATTTGCGCACTTATTACTGTCATCAAGGTTACATGT GCCGCGCACATTCGGTCAGGGTACTAAAGTAGAAGTCAA A (配列番号 553)

10

20

30

40

50

【表 5 - 7】

<u>QVQLQQSGPELVKP</u> <u>GASVKMSCKASGYT</u> <u>FTSYHIQWVKQRP</u> <u>QGLEWIGWIYPGDGS</u> <u>TOYNEKFKGKTLT</u> <u>ADKSSSTAYMLLSSL</u> <u>TSEDSAIYFCAREGT</u> <u>YYAMDYWGQTSV</u> <u>TVSSGGGSGGGGS</u> <u>GGGSGGDVLMQT</u> <u>PLSLPVSLGDQVSISC</u> <u>RSSQSIVHSNGN'TYL</u> <u>EWYLQKPGQSPKLLI</u> <u>YKYSNRFSGVPDRFS</u> <u>SGSGTDFTLKISR</u> <u>EAEDLGVYYCFQGS</u> <u>HVPRTFGGGTKLEIK</u> (配列番号 36)	CAGGTGCAGCTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGTGAAG CCTGGGGCCTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGA TACACCTTCACTAGCTATCATATCCAGTGGGTGAAGCAG AGGCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGATGGATCTAC CCTGGCGATGGTAGTACACAGTATAATGAGAAGTTCAAG GGCAAAACCACCCTTACCGCGGACAAATCCTCCAGCACA GCCTACATGTTGCTGAGCAGCCTGACCTCTGAAGACTCT GCTATCTATTTCTGTGCGAGGGAGGGGACCTACTACGCT ATGGACTACTGGGGCCAGGGAACCTCAGTCACCGTGTCC TCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCGG CGGAGGAAGCGGAGGCGATGTTTTGATGACCCAGACTCC ACTCTCCCTGCCTGTCTCTCTTGGAGACCAAGTCTCCATC TCTTGTAGATCCAGTCAGAGTATTGTACACAGTAATGGG AACACCTATTTAGAATGGTATCTGCAGAAACCAGGTCAG TCTCCAAAGTTGCTCATCTACAAAGTCTCTAACAGATTTA GTGGTGTACCAGACAGGTTTCAGCGGTTCCGGAAGTGGTA CTGATTTACCCCTCAAGATCTCGAGAGTGGAGGCTGAGG ATCTGGGAGTTTATTACTGTTTTCAAGGTTACATGTGCC GCGCACATTTCGGTGGAGGTACTAAACTGGAAATCAAA (配列番号 554)

10

20

30

40

50

【表 5 - 8】

QLQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGYTFTS YHIQWIRQPPGKGLE WIGWIYPGDGSTQY NEKEKGRATISVDTS KNQFSLNLDSVSAAD TAIYYCAREGTYYA MDYWGKGSTVTVSS GGGSGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRSSQ SIVHSNGNTYLEWY QKPGKAPKLLIYKV SNRFSGVPSRFSGSGS GTDFTFITISLQPEDI ATYYCFQGSHPVPRTF GPGTKVDIK (配列番号 37)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCTGGGCCCCGGGCTGGTGAAG CCTTCGGAAACGCTGAGCCTCACCTGCACGGTTTCTGGA TACACCTTCACCAGCTATCATATCCAGTGGATCCGACAG CCCCCTGGAAAAGGGCTTGAGTGGATCGGATGGATCTAC CCTGGCGATGGTTCAACACAGTACAATGAGAAGTTCAAG GGCAGAGCCACGATTAGCGTGGACACATCCAAGAACCA ATTCTCCCTGAACCTGGACAGCGTGAGTGCTGCGGACAC GGCCATTTATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGC TATGGACTACTGGGGCAAAGGGAGCACGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGGCGACATCCAGATGACCCAGAGC CCAAGCTCCCTGAGTGCGTCCGTGGGCGACCGCGTGACC ATCACTTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACG GCAACACGTACCTCGAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGG AAGGCCCCGAAACTGCTCATCTACAAGGTGAGCAACCGG TTCTCCGGCGTCCCCAGCCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGG GGACGGATTTACCTTCACGATTAGCAGCTTGCAGCCCG AAGACATCGCCACGTACTACTGCTTTCAGGGAAGTCACG TGCCGCGTACCTTCGGGCCGGGCACGAAAGTGGATATTA AG (配列番号 555)

10

20

30

40

50

【表 5 - 9】

EVQLVQSGAELKKP GSSVKVSCKASGYTE TSYHIQWVKQAPGQ GLEWIGWIYPGDGST QYNEKFKGKATLTV DKSTNTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREGT YYAMDYWGQGLTV TVSSGGGSGGGGS GGGSGGDIQMTQS PSTLSASVGDRVITIC RSSQSIVHSNGNTYL EWYQQKPGKAPKLL IYKVSNRFSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQ PDDFATYYCFQGS VPRTFGQGTKVEVK (配列番号 38)	GAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCCGAGCTGAAGAA GCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACCAGCTATCATATCCAGTGGGTAAAACA GGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATCGGATGGATCTA CCCTGGCGATGGTTCAACACAGTACAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGCCACGCTTACCGTGGACAAATCCACGAACAC AGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACAC GGCCGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGAACCTACTACGC TATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGAGC CCATCCACCCTGAGTGCGTCCGTGGGCGACCGCGTGACC ATCACTTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACG GCAACACGTACCTCGAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGG AAGGCCCCGAAACTGCTCATCTACAAGGTGAGCAACCGG TTCTCCGGCGTCCCCAGCCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGG GGACGGATTTACCCCTCACGATTAGCAGCTTGCAGCCCG ATGACTTCGCCACGTACTACTGCTTTCAGGGAAGTCACG TGCCGCGTACCTTCGGGCAGGGCACGAAAGTGGAAGTTA AG (配列番号 556)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 0】

QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSKASGYTF <u>TSYHIQWVRQAPGQ</u> GLEWMGWIYPGDGS <u>TOYNEKFKGRVTITA</u> DKSTSTAYMELSSLR SEDTAVYYCAREGT <u>YYAMDYWGQGTTV</u> TVSSGGGSGGGGS GGGSGGGEIVLTQSP GTLSLSPGERATLSC <u>RSSQSIVHSNGNTYL</u> <u>EWYQQKPGQAPRLLI</u> <u>YKVS</u>NRFSQIPDRFS GSSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCFQGSH <u>VPRT</u>FGGGTKVEIK (配列番号 39)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCCGAGGTGAAGAA GCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACCAGCTATCATATCCAGTGGGTACGACA GGCCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTA CCCTGGCGATGGTTCAACACAGTACAATGAGAAGTTCAA GGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCA CAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACA CGGCCGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACG CTATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGAGATCGTCCTGACCCAGAG CCCAGGGACCCTGAGTTTGTCCCCGGGCGAGCGCGCGAC CCTCAGTTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAAC GGCAACACGTACCTCGAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGG GCAGGCCCCGCGACTGCTCATCTACAAGGTGAGCAACCG GTTCTCCGGCATCCCCGACCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCG GGGACGGATTTCACCCTCACGATTAGCCGCTTGAGAGCCC GAAGACTTCGCCGTGTACTACTGCTTTCAGGGAAGTCAC GTGCCGCGTACCTTCGGGGGGGGCACGAAAGTGGAATT AAG (配列番号 557)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 1】

<u>QVTLKQSGAEVKKP</u> <u>GSSVKVSCITASGYTF</u> <u>TSYHVSWVRQAPGQ</u> <u>GLEWLGRIPGDGST</u> <u>QYNEKFKGKVTITAD</u> <u>KSMDTSMELTSLTS</u> <u>EDTAVYYCAREGT</u> <u>YAMD</u><u>LWG</u><u>OGTL</u><u>VT</u> <u>VSSGGGSGGGGSG</u> <u>GGSGGGEIVLTQSPG</u> <u>TLSLSPGERATLS</u><u>CRS</u> <u>SQSIVHSNGNTYLA</u><u>W</u> <u>YQKPGQAPRLISK</u> <u>VSNRFS</u><u>GV</u><u>PDR</u><u>FSGS</u> <u>GSGTDFTLTISRLEPE</u> <u>DFAVYYC</u><u>QQGSHVP</u> <u>RTFGG</u><u>GTKVEIK</u> (配列番号 40)	CAGGTGACCCTGAAGCAGTCTGGGGCCGAGGTGAAGAA GCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCACGGCTTCTGG ATACACCTTCACCAGCTATCATGTCAGCTGGGTACGACA GGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGTTGGGAAGGATCTA CCCTGGCGATGGTTCAACACAGTACAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCATGGACAC ATCCTTCATGGAGCTGACCAGCCTGACATCTGAGGACAC GGCCGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGAACTTACTACGC TATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTGTC CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGAGATCGTCCTGACCCAGAGC CCAGGGACCCTGAGTTTGTCCCCGGGCGAGCGCGCGACC CTCAGTTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCACTCCAACG GCAACACGTACCTCGCGTGGTACCAGCAGAAGCCCCGGGC AGGCCCCGCGACTGCTCATCTCCAAGGTGAGCAACCGGT TCTCCGGCGTCCCCGACCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGG GGACGGATTTCACCCTCACGATTAGCCGCTTGGAGCCCG AAGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAACAGGGAAGTCACG TGCCGCGTACCTTCGGGGGGGGCACGAAAGTGGAATTA AG (配列番号 558)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 2】

QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYT FTSYHMHWRQAPG QRLEWMGWYIPGDG STQYNEKFKGKVTIT RDTASTAYMELSSL RSEDNAVYYCAREG TYYAMDYWGQGT VTVSSGGGSGGGG SGGGSGGDIVMTQ TPLSLPVTPEP SISCRSSQSIVHSNGNTY LDWYLQKPGQSPQL LIYKVSNRFGVDPDR FSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCMQ GSHVPRTFGGGTKVE IK (配列番号 41)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCCGAGGTGAAGAA GCCTGGGGCCTCGGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCTTCTGG ATACACCTTCACCAGCTATCATATGCACTGGGTACGACA GGCCCCGACAAAGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCTA CCCTGGCGATGGTTCAACACAGTACAATGAGAAGTTCAA GGGCAAAGTCACGATTACCCGGGACACATCCGCGAGCAC AGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACAC GGCCGTATATTACTGTGCGAGAGAGGGAACCTTACTACGC TATGGACTACTGGGGCCAAGGGACCCTGGTCACCGTGTCT CTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGCG GCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCGTCATGACCCAGACC CCACTGTCCCTGCCTGTGACCCCGGGCGAGCCCGCGAGC ATCAGTTGCAGATCCTCTCAGTCCATCGTGCCTCCAACG GCAACACGTACCTCGACTGGTACCTGCAGAAGCCCGGGC AGTCCCCGCAACTGCTCATCTACAAGGTGAGCAACCGGT TCTCCGGCGTCCCCGACCGCTTCTCAGGGTCCGGCTCGG GGACGGATTTCACCTCAAGATTAGCCGCGTGGAGGCCG AAGACGTCGGCGTGTACTACTGCATGCAGGGAAGTCACG TGCCGCGTACCTTCGGGGGGGGCACGAAAGTGGAATTA AG (配列番号 559)
HLA-B*07 抗原結合ドメイン	
1.10_scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQP PGKGLEWIGYIHFSGSTHYHPSLKSRTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTITVTVSSGG GGSGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS ENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFGSGS GTDFLTITSLQPEDFATYYCQHFVWTPYTFGGGKVEIK (配列番号 560)
1.9_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWHWVRQ APGKGLEWVSYYIHFSGSTHYHPSLKSRTISRDNKNSLYL QMNSLRAEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTITVTVS SGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVSASVGDRTITC RASENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFGS SGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQHFVWTPYTFGGGKVEI K (配列番号 561)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 3】

1.8_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWHWVRQ APGKGLEWVGYYIHFGSTHYHPSLKSRTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC RASENIYSNLAWYQQKPGQAPRLLIYAATYLPDGIPARFSG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQHFVWTPYTFGGGTKVEI K (配列番号 562)
1.7_scFv	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGYSITSGYSWHWIRQSP SRGLEWLGYIHFGSTHYHPSLKSRTINPDTSKNQFSLQLNS VTPEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASEN IYSNLAWYQQKPGQAPRLLIYAATYLPDGIPARFSGSGSGT DFILTISRLEPEDFAVYYCQHFVWTPYTFGGGTKVEIK (配 列番号 563)
1.6_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWHWVRQ APGKGLEWVGYYIHFGSTHYHPSLKSRTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVSASVGDRVITTC RASENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFVWTPYTFGGGTKVEI K (配列番号 564)
1.5_scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWHWVRQ APGKGLEWVSYIHFGSTHYHPSLKSRTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCR ASENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFVWTPYTFGGGTKVEIK (配列番号 565)
1.4_scFv	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYSITSGYSWHWVRQ APGKGLEWVGYYIHFGSTHYHPSLKSRTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTC RASENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHFVWTPYTFGGGTKVEI K (配列番号 566)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 4】

1.3_scFv	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGYSITSGYSWHWIRQ PPGKGLEWIGYIHFGSTHYHPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVSSG GGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRA SENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQHFVWVTPYTFGGGTKVEIK (配列番号 567)
1.2_scFv	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQH PGKGLEWIGYIHFGSTHYHPSLKSRTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVSSGG GGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRAS ENIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGS GTDFLTISLQPEDFATYYCQHFVWVTPYTFGGGTKVEIK (配列番号 568)
1.1_scFv	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGYITSGYSWHWIRQSP SRGLEWLGYIHFGSTHYHPSLKSRTINPDTSKNQFSLQLNS VTPEDTAVYYCARGGVVSHYAMDCWGQGTTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASE NIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYAATYLPDGVPSRFSGSGSG TDFLTISLQPEDFATYYCQHFVWVTPYTFGGGTKVEIK (配 列番号 569)
HLA-A*11 抗原結合ドメイン	

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 5】

QVOLQESGPGLVKPS QTL~~SL~~TC~~TV~~SGGSIS~~S~~ <u>GGYYWSWIRQPPGK</u> <u>GLEWIGYIYYSGSTY</u> <u>YNPSLKS</u>RV~~TIS~~VD~~TS~~ KNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARHYYYY~~S~~ <u>MDVWGKGTTTVTVSS</u> GGGSGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITC~~RASQ~~ <u>SISSYLNWYQQKPGK</u> APKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYC <u>QOSYSTPLTFGGG</u>TK VEIK (配列番号 114)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGAA ACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCCGG CGGCTCGATCAGCAGCGGGCGGCTACTACTGGTCCTGGAT CAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTA CATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGCCT GAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGA ACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCG ACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACT ACTCCATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCG TGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCA GTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 123)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 6】

QITLKESGPTLVKPT QTLTLCTFSGFSLST <u>SGVGVGWIRQPPGK</u> ALEWLALIYWND DK <u>RYSPLKSRLTITKDT</u> SKNQVVLTMNMDP VDATYYCAHRHMR <u>LSCFDYWQGTLVT</u> VSSGGGSGGGGSG GGSGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCR <u>ASQISSYLNWYOQK</u> PGKAPKLLIYAASSL <u>QSGVPSRFSGSGGT</u> DFTLTISSLQPEDFAT YYCQOSYSTPLTFGG GTKVEIK (配列番号 115)	CAGATCACCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGTGAAA CCCACCCAGACCCTGACCCTGACATGCACCTTCAGCGGC TTCAGCCTGAGCACCTCTGGCGTGGGCGTGGGCTGGATC AGACAGCCTCCCGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCCTG ATCTACTGGAACGACGACAAGCGGTACAGCCCCAGCCTG AAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACACCTCGAAGAAC CAGGTGGTGCTGACCATGACAAACATGGACCCCGTGGAC ACCGCCACATATTACTGTGCACACAGACACATGCGTTTA AGCTGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTGTCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATC TGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCC AGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTA TTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA GCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTC CCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC ACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCA ACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTT TCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 124)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 7】

QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYT <u>FTSYAMHWVRQAPG</u> QRLEWMGWINAGN <u>GNTKYSQKFOGRVTI</u> TRDTSASTAYMELSS LRSEDTAVYYCARE <u>GNGANPDAFDIWQ</u> GTMVTVSSGGGSG GGSGGGGSGGDIQ MTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLI <u>YAASSLQSGVPSRFS</u> GSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYC<u>QOSYST</u> <u>PLTFGGG</u>TKVEIK (配列番号 116)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAA ACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGG CTACACCTTCACCAGCTACGCCATGCACTGGGTTCGACA GGCCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGATGGGCTGGATCAA CGCCGGCAACGGCAACACCAAGTACAGCCAGAAATTCC AGGGCAGAGTGACCATCACCCGGGACACCAGCGCCAGC ACCGCCTACATGGAAGTGTGAGCAGCCTGCGGAGCGAGGA CACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAAGGAAATGGTGC CAACCCTGATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAAT GGTCACCGTGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGG GAGGATCTGGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAG ATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAG ACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATT GCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAG CCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG TGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGAC AGATTTCACCTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGA TTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CTCACTTTCGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配 列番号 125)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 8】

EVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTF <u>SSYDMHWVRQATG</u> KGLEWVSA<u>IGTAGD</u> <u>TYYPGSVKGRFTISR</u> ENAKNSLYLOMNSL RAGDTAVYYCARDL <u>PGSYWYFDLWGRGT</u> LVTVSSGGGSGGG GSGGGSGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWY QQKPGKAPKLLIY<u>AA</u> <u>SSLQSGVPSRFS</u>SGSGS GTDFTLTISSLQPEDF ATYYCQOSY<u>STPLTF</u> GGGTKVEIK (配列番号 117)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCA GCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGG CTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGCACTGGGTCCGCCA GGCCACCGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCGG CACAGCCGGCGACACTTACTACCCCGGCAGCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCAGCAGAGAGAACGCCAAGAACAGCCT GTACCTGCAGATGAACAGCCTTCGAGCCGGCGATACCGC CGTGTATTACTGTGCAAGAGATCTCCCTGGTAGCTACTG GTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACCCCTGGTCACTGTG TCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGG CGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGT CTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTT AAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCT CCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCC ATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCAC TCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 126)

10

20

30

40

50

【表 5 - 1 9】

<u>QVQLQESGPGLVKPS</u> <u>QTLSTCTVSGGSISS</u> <u>GGYYWSWIRQPPGK</u> <u>GLEWIGYIYYSGSTY</u> <u>YNPSLKSRVTISVDTS</u> <u>KNQFSLKLSSVTAAD</u> <u>TAVYYCARHYYYYY</u> <u>LDVWGKGTTTVTVSS</u> <u>GGGSGGGSGGGG</u> <u>SGGDIQMTQSPSSLS</u> <u>ASVGDRVTITCRASQ</u> <u>SISSYLNWYQQKPGK</u> <u>APKLLIYAASSLQSG</u> <u>VPSRFSGSGSGTDF</u> <u>LTISSLQPEDFATYYC</u> <u>QOSYSTPLTFGGGTK</u> VEIK (配列番号 118)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGAA ACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCCGG CGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTGGAT CAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTA CATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCCAGCCT GAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGA ACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCG ACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACT ACTACCTGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCG TGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCA GTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 127)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 0】

<u>EVQLVESGGGLVQP</u> <u>GGSLRLSCAASGFTF</u> <u>SSYWMHWVRQAPG</u> <u>KGLVWVSRINSDGSS</u> <u>TSYADSVKGRFTISR</u> <u>DNAKNTLYLQMNSL</u> <u>RAEDTAVYYCCLGV</u> <u>LLYNWFDPWGQGTL</u> <u>VTVSSGGGSGGGG</u> <u>SGGGSGGDIQMTQ</u> <u>SPSSLSASVGDRTIT</u> <u>CRASQSISSYLNWYQ</u> <u>QKPGKAPKLLIYAAS</u> <u>SLQSGVPSRFSGSGS</u> <u>GTDFTLTISSLQPEDF</u> <u>ATYYCQOSYSTPLTF</u> <u>GGGTKVEIK</u> (配列番号 119)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCA GCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGG CTTACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTCCGCCA GGCCCCCTGGCAAGGGACTGGTCTGGGTGTCTCGAATCAA CAGCGACGGCAGCAGCACCAGCTACGCCGACAGCGTGA AGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACGCCAAGAAC ACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGAC ACCGCCGTGTATTACTGTTGTTTGGGTGTTTTATTATACA ACTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCG TGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGGCGACATCCAGATGACCCA GTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 128)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 1】

QVQLQESGPGLVKPS QTLSTCTVSGGSIS <u>GGYYWSWIRQPPGK</u> <u>GLEWIGYIYYSGSTY</u> <u>YNPSLKSRVTISVDTS</u> KNQFSLKLSSVTAAD TAVYYCARHYYYY <u>MDVWGKGTTTVTVSS</u> GGGSGGGSGGGG SGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQ <u>SISSYLNWYQQKPGK</u> <u>APKLLIYAASSLQSG</u> VPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYC <u>QSYSTPLTFGGGTK</u> VEIK (配列番号 120)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGAA ACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCCGG CGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTGGAT CAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTA CATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCAGCCT GAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGA ACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCG ACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACT ACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTGT CCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGGC GGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGTC TCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTA AATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTC CTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACCTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTT ACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTCGG CGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 129)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 2】

QITLKESGPTLVKPT QTLTLCTFSGFSLST <u>SGVGVGWIRQPPGK</u> <u>ALEWLALIYWNDK</u> <u>RYSPSLKSRLTITKDT</u> SKNQVVLMTNMDP VDTATYYCAHKTTS <u>FYFDYWQGTLVTV</u> SSGGGSGGGGSGG GGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRA <u>SQSISSYLNWYQQKP</u> GKAPKLLIYAASSLQ <u>SGVPSRFSGSGSGTD</u> FTLTISLQPEDFATY <u>YCQOSYSTPLTFGGG</u> TKVEIK (配列番号 121)	CAGATCACCCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGTGAAA CCCACCCAGACCCTGACCCTGACATGCACCTTCAGCGGC TTCAGCCTGAGCACCTCTGGCGTGGGCGTGGGCTGGATC AGACAGCCTCCCGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGCCCTG ATCTACTGGAACGACGACAAGCGGTACAGCCCCAGCCTG AAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACACCTCGAAGAAC CAGGTGGTGCTGACCATGACAAACATGGACCCCGTGGAC ACCGCCACATATTACTGTGCACACAAAACGACGTCGTTT TACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTG TCCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGGAGGATCTGG CGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCAGT CTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCAC CATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTT AAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCT CCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCC ATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTAC TCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACT TACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTG GCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 130)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 3】

QVQLQESGPGLVKPS QTLSTCTVSGGSIS <u>GGYYWSWIRQPPGK</u> <u>GLEWIGYIYYSGSTY</u> <u>YNPSLKSRVTISVDT</u> <u>KNQFSLKLSVTAAD</u> <u>TAVYYCARHYYYYY</u> <u>MDVWGKGTTVTVS</u> <u>GGGSGGGSGGGG</u> <u>SGGDIQMTQSPSSL</u> <u>ASVGDRVTITCRASQ</u> <u>SISSYLNWYQKPGK</u> <u>APKLLIYAASSLQSG</u> <u>VPSRFSGSGSGDFT</u> <u>LTISLQPEDFATYYC</u> <u>QQSYSTPLTFGGGK</u> <u>VEIK</u> (配列番号 122)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGAA ACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCCGG CGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTGGAT CAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTA CATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCCAGCCT GAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGA ACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCG ACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACACTACTACTACT ACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCG TGTCTCAGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGGGAGGATCT GGCGGCGGAGGAAGCGGAGGCGACATCCAGATGACCCA GTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTC ACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAG CTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCC CATCAAGGTTCACTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTC CTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTT CGGCGGCGGAACAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 131)	10
HLA-C*07 抗原結合ドメイン		
C7-45	EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAVSFDWFDPWGQGLTVTVSSGGGG SGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSI SSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配列番 号 570)	30
C7-44	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARERSISPPYYYYMDVWGKGTTVTVS SGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLASVGDRVTITC RASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配列番号 571)	40

【表 5 - 2 4】

C7-43	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARDSEIWIWYFDPWGGQTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGQSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLT VL (配列番号 572)
C7-42	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREEILPRLSYYYMDVWGKGTITVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTKVEI K (配列番号 573)
C7-41	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTSYAMNWVRQ APGQGLEWMGWINTNIGNPTYAQGFTGRFVFSFDTSVSTA YLQICSLKAEDTAVYYCARGGRAHSSWYFDLWGRGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTKVE IK (配列番号 574)
C7-40	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDRIKILPRLGYYYMDVWGKGTITV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTK VEIK (配列番号 575)
C7-39	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDTVIHYYYMDVWGKGTITVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTKVEIK (配列番号 576)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 5】

C7-38	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDVIVEVFLSYYYMDVWGKGTTV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGK VEIK (配列番号 577)
C7-37	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDIFIHYYMDVWGKGTTVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGK VEIK (配列番号 578)
C7-36	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDGTFYSYSPYYFDYWGQGLTV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGK VEIK (配列番号 579)
C7-35	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREWIKILPRLGYYMDVWGKGTT VTVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGK VEIK (配列番号 580)
C7-34	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDRLYMDVWGKGTTVTVSS GGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGK VEIK (配列番号 581)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 6】

C7-33	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDKILAPNYYYYMDVWGKGTITV SSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEI K (配列番号 582)
C7-32	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREKSWKYFYYYYYYMDVWGKGTIT VTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 583)
C7-31	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARENTSTIPYYYYYMDVWGKGTITV VSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVE IK (配列番号 584)
C7-30	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTICTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREDVDKNTSTIYYYYYMDVWGKG TTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 585)
C7-29	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDGGDIVSSAIYWYFDLWGRGTLV TVSSGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKV EIK (配列番号 586)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 7】

C7-28	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDLILPPYYYYYMDVWGKGTTVT SSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEI K (配列番号 587)
C7-27	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARETWIKILPRYYYYYYYMDVWGKG TTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 588)
C7-26	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDLSRYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (配列番号 589)
C7-25	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAREHIVLCFDYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQ GISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK (配 列番号 590)
C7-24	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDKILPRPPYYYYYMDVWGKGTTVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVE IK (配列番号 591)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 8】

C7-23	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARGSNEYFQHWGQGTLVTVSSG GGSGGGGGSGGGSGGQSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGT SSDVGGYNVYSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPDRFS GSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSNNWVFGGGT KLTVL (配列番号 592)
C7-22	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQ APGQGLEWMGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSFDTSVSTA YLQICSLKAEDTAVYYCARGTSYWYFDLWGRGTLVTVSSG GGSGGGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配 列番号 593)
C7-21	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREEIVEFYFYYMDVWVGKGTITVTV SSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEI K (配列番号 594)
C7-20	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDDYYFDYWGQGTILVTVSSGG GGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG IDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配 列番号 595)
C7-19	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQ APGKGLVWVSRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAWSTNILLSYTKAFDIWGQGTMTVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVE IK (配列番号 596)

10

20

30

40

50

【表 5 - 2 9】

C7-18	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDKTYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS GGGSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (配列番号 597)
C7-17	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREKYFHDKYFHDYYYYYMDVWGK GTTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGG GTKVEIK (配列番号 598)
C7-16	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDTSVYYYYYMDVWGKGTTVTVSS GGGSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (配列番号 599)
C7-15	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREKILPYYYYYYMDVWGKGTTVTV SSGGGSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGS SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEI K (配列番号 600)
C7-14	EVQLVESGGGLVQPGLSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAIQWIYIYNPRGFIFLHDAFDIWGQG TMVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGGQSVLTQPPSASGTPGQ RVTISCSGSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSG VPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNG WVFGGGTKLTVL (配列番号 601)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 0】

C7-13	QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVSSNSAAWNWIRQ SPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQF SLQLNSVTPEDTAVYYCAKEDVDFHDAFDIWGQGTMTVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTIT TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVE IK (配列番号 602)
C7-12	QVQLQESGPGLVKPSQTLTLCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREGVDKNTSTIYYYYYYMDVWGKG TTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 603)
C7-11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDRRGYFDLWGRGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQG ISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGGGTKVEIK (配列 番号 604)
C7-10	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFDYYMHVWVQQ APGKGLEWMGLVDPEDGETTYAEKFQGRVTITADTSTDTA YMESSLRSEDVAVYYCATGIHVDIRSMEDWFDPWGQGT VTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRT VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 605)
C7-9	QVQLQESGPGLVKPSQTLTLCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDIGTSYYYYMDVWGKGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (配列番号 606)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 1】

C7-8	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREVVEVFLYYYYYMDVWGKGTITVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVE IK (配列番号 607)
C7-7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDLYYYYYYMDVWGKGTITVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配列番号 608)
C7-6	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARESWKYFYPRGSIFHYYYYYMDVWG KGTITVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFG GGTKVEIK (配列番号 609)
C7-5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDRIVEVFYYYYYMDVWGKGTITVT SSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEI K (配列番号 610)
C7-4	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCAREKYFHDWLYYYYYYMDVWGKGT VTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 611)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 2】

C7-3	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDLVDKNTSYYYYYMDVWGKGT VTVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDR VTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 612)
C7-2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARVQNEYFQHWGQGTTLVTSSG GGSGGGSGGGSGGQSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGT SSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPDRFS GSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSNNWVFGGGT KLTVL (配列番号 613)
C7-1	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCATANWFDPWGQGTTLVTVSSGGGGSG GGSGGGSGGGDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISS WLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDF LTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKVEIK (配列番号 614)
HLA-A*3 scFv 配列	
15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARERVSQRGAFDIWGQGTMTV SSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEI K (配列番号 615)
16	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGNPKDPFDYWGQGTTLVTSSGG GGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSG TDFLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (配 列番号 616)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 3】

17	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDFYCTNWYFDLWGRGTLVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配 列番号 617)
18	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPG KGLEWIGYIYYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARESSGSYWYFDLWGRGTLVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配列 番号 618)
19	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGYSFTSYWIGWVRQM PGKGLEWMGIHYPGDSDFRYSPSFQGVITISADKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARDSGYKYNLYYYYYYMDVWGKGT TVTIVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGD RVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGT KVEIK (配列番号 619)
20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARGGDLSHYYYYYMDVWGKGTT VTIVSSGGGGSGGGSGGGSGGGQTVVTQEPSLTVSPGGTV TLTCASSTGAVTSGYYPNWFQQKPGQAPRALIYSTSNKHS WTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCLLYGGAQ WVFGGGTKLTVL (配列番号 620)
21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARENRRYNSCYYFDYWGQGTIV TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRV ITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGK VEIK (配列番号 621)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 4】

22	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARGGDLSHYYYYLDVWGKGTTV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVT LTCASSTGAVTSGYYPNWFQQKPGQAPRALIYSTSNKHSW TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCLLYYGGAQW VFGGGTKLTVL (配列番号 622)
23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQA PGKGLEWVSVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARATLLSLSYDAFDIWGQGTMTVTSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配列番号 623)
24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARGGDLSHYYYYMDVWGKGTTV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGQTVVTQEPSLTVSPGGTVT LTCASSTGAVTSGYYPNWFQQKPGQAPRALIYSTSNKHSW TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCLLYYGGAQW VFGGGTKLTVL (配列番号 624)
25	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKSGSYSFTSYWIGWVRQM PGKGLEWMGIYPGDSDFRYSPSFQQQVTISADKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARERDRWFDPWGQGLTVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSI SSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIK (配列番 号 625)
26	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARETPPSLGAFDIWGQGTMTVTS SGGGGSGGGGSGGGGSGGQSALTQPPSASGSPGQSVTISCT GTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIEVSKRPSGVPDR FSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSNNWVFGG GTKLTVL (配列番号 626)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 5】

27	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWRQP PGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK SSVTAADTAVYYCAREAYCLSDSYWYFDLWGRGTLVTVS SGGGGSGGGSGGGSGGQSVLTQPPSASGTPGQRTVISC GSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGG TKLTVL (配列番号 627)
28	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARESWKYFYPRGYMDVWGKGTTVT SSGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEI K (配列番号 628)
HLA-A*01 scFv 配列	
A1-9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQA PGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARGGWTAWYYMDVWGKGTT VTVSSGGGGSGGGSGGGSGGQTVVTQEPSLTVSPGGTV TLTCASTGAVTSGYYPNWFQKPGQAPRALIYSTSNKHS WTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCLLYGGAQ WVFGGGTKLTVL (配列番号 629)
A1-8	EVQLVESGGGLVQPGLSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQA PGKGLEWVSYISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARAKYYYMDVWGKGTTVTVSSGGG GSGGGSGGGSGGQSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSS NIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGWVFGGGTKLT VL (配列番号 630)
A1-7	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDQVDKNTYYYYMDVWGKGTTVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVE IK (配列番号 631)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 6】

A1-6	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYYMSWIRQA PGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARACQLAEYFQHWGQGTLLTVSSGG GGSGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRAS QGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGGTKVEIK (配 列番号 632)
A1-5	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQ PPGKGLEWIGYIYYSGSTIYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARDRVDKNTSYIYMDVWGKGITVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVIT TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGGTKVE IK (配列番号 633)
A1-4	QVQLQESGPGLVKPSDTLSLTCAVSGYSISSNWWGWIRQP PGKGLEWIGYIYYSGSTIYYNPSLKSRTVMSVDTSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARRVQLKLHWFDPWGQGTLLTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGGTKVEIK (配列番号 634)
A1-3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYDINWVRQA TGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTA YMESSLRSEDVAVYYCATYYDYVTVFYFQHWGQGTLLTV VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVIT TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGGTKVE IK (配列番号 635)
A1-2	QLQLQESGGLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQP PGKGLEWIGYIYHSGSTIYYNPSLKSRTISVDRSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARESYPSFYAFDIWGQGTMTVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQ SISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGGTKVEIK (配列 番号 636)

10

20

30

40

50

【表 5 - 3 7】

A1-1	QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPP GKALEWLALIYWND DKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVL T MTNMDPVD TATYYCAHSNMWSYSLNDYYFDYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASV GDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTK VEIK (配列番号 637)

10

【0209】

いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体のリガンド結合ドメインは、s c F vを含む。いくつかの実施形態において、s c F vは、H L A - A * 0 1、H L A - A * 0 2、H L A - A * 3、H L A - A * 1 1、H L A - B * 0 7、又はH L A - C * 0 7に結合し、表5に記載の配列群から選択される配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、s c F vは、H L A - A * 0 1、H L A - A * 0 2、H L A - A * 3、H L A - A * 1 1、H L A - B * 0 7、又はH L A - C * 0 7に結合し、表5に記載の配列群から選択される配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A - A * 0 1を含み、第2の受容体の非標的細胞外リガンド結合ドメインは、表5に記載のH L A - A * 0 1 s c F v配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A - A * 0 2を含み、第2の受容体の非標的細胞外リガンド結合ドメインは、表5に記載のH L A - A * 0 2 s c F v配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A - A * 0 3を含み、第2の受容体の非標的細胞外リガンド結合ドメインは、表5に記載のH L A - A * 0 3 s c F v配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A - A * 1 1を含み、第2の受容体の非標的細胞外リガンド結合ドメインは、表5に記載のH L A - A * 1 1 s c F v配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A - B * 0 7を含み、第2の受容体の非標的細胞外リガンド結合ドメインは、表5に記載のH L A - B * 0 7 s c F v配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A - C * 0 7を含み、第2の受容体の非標的細胞外リガンド結合ドメインは、表5に記載のH L A - C * 0 7 s c F v配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

20

30

40

【0210】

H L A - A * 0 1、H L A - A * 0 2、H L A - A * 0 3、H L A - A * 1 1、H L A - B * 0 7、及びH L A - C * 0 7リガンド結合ドメインについての例示的な重鎖及び軽鎖C D R（それぞれ、C D R - H 1、C D R - H 2、及びC D R - H 3、又はC D R - L 1、C D R - L 2、及びC D R - L 3）を以下の表6に示す。

50

【表 6 - 1】

表 6 : HLA 抗原結合ドメインに対応する CDR

CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3
RSSQSIVHS NGNTYLE (配列番号 42)	KVSNRFSG VPDR (配列 番号 43)	FQGSHVPR T (配列番号 44)	ASGYTFTS YHIH (配列 番号 45)	WIYPGNVN TEYNEKFK GK (配列番 号 46)	EEITYAMD Y (配列番号 47)
RSSQSIVHS NGNTYLD (配列番号 48)	KVSNRFSG VPDR (配列 番号 49)	MQGSHVPR T (配列番号 50)	SGYTFTSY HMH (配列 番号 51)	WIYPGDGS TQYNEKFK G (配列番号 52)	EGTYIAM DY (配列番 号 53)
HLA-A*03 CDR					
RASQSISSY LN (配列番 号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	ERVSQRGA FDI (配列番 号 693)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYSMN (配 列番号 658)	YISSSSSTIY YADSVKG (配列番号 677)	GNPDKDPF DY (配列番 号 694)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGSYYWS (配列番号 659)	YIYYSGSTN YNPSLKS (配列番号 678)	DFYCTNWF FDL (配列番 号 695)

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYWWS (配 列番号 660)	YIYYSGSTN YNPSLKS (配列番号 678)	ESSSGSYW YFDL (配列 番号 696)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYWIG (配 列番号 661)	IIYPGDSDT RYSPSFQG (配列番号 679)	DSGYKYNL YYYYYYM DV (配列番 号 697)
ASSTGAVT SGYYPN (配 列番号 639)	STSNKHS (配列番号 646)	LLYYGGAQ WV (配列番 号 651)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	GGDLSHYY YYMDV (配 列番号 698)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	ENRRYNSC YYFDY (配 列番号 699)
ASSTGAVT SGYYPN (配 列番号 639)	STSNKHS (配列番号 646)	LLYYGGAQ WV (配列番 号 651)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	GGDLSHYY YYLDV (配 列番号 700)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SNYMS (配 列番号 662)	VIYSGGSTY YADSVKG (配列番号 680)	ATLLSLSY DAFDI (配列 番号 701)
ASSTGAVT SGYYPN (配 列番号 639)	STSNKHS (配列番号 646)	LLYYGGAQ WV (配列番 号 651)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	GGDLSHYY YMDV (配列 番号 702)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYWIG (配 列番号 661)	IIYPGDSDT RYSPSFQG (配列番号 679)	ERDRWFDP (配列番号 703)
TGTSSDVG GYNYVS (配 列番号 640)	EVSKRPS (配列番号 647)	SSYAGSNN WV (配列番 号 652)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	ETPPSLGAF DI (配列番号 704)

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

SGSSSNIGS NTVN (配列 番号 641)	SNNQRPS (配列番号 648)	AAWDDSL NGWV (配列 番号 653)	SSSYWYG (配列番号 663)	SIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 681)	EAYCLSDS YWYFDL (配列番号 705)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	ESWKYFYP RGYMDV (配列番号 706)
HLA-B*07 CDR					
RASENIYSN LA (配列番 号 642)	AATYLPD (配列番号 649)	QHFWVTPY T (配列番号 654)	SGYSWH (配列番号 665)	YIHFSGSTH YHPSLKS (配列番号 683)	GGVVSHYA MDC (配列 番号 707)
HLA-C*07 CDR					
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYAMS (配 列番号 668)	AISGSGGST YYADSVKG (配列番号 686)	SFDWFDP (配列番号 708)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	ERSISPYYY YYMDV (配 列番号 709)
SGSSSNIGS NTVN (配列 番号 641)	SNNQRPS (配列番号 648)	AAWDDSL NGWV (配列 番号 653)	SSSYWYG (配列番号 663)	SIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 681)	DSVIWYWF DP (配列番 号 710)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EEILPRLSY YYYMDV (配列番号 711)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYAMN (配 列番号 669)	WINTNTGN PTYAQGFT G (配列番号 687)	GGRAHSSW YFDL (配列 番号 712)

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DRIKILPRL GYYYMD V (配列番号 713)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DTVIHYYY YMDV (配列 番号 714)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DVIVEVFLS YYYYMDV (配列番号 715)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DIFIHYYY MDV (配列 番号 716)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYSMN (配 列番号 658)	YISSSSSTIY YADSVKG (配列番号 677)	DGTFYSYS PYYFDY (配 列番号 717)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EWIKILPRL GYYYMD V (配列番号 718)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DRSLYYYY YMDV (配列 番号 719)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DKILAPNY YYMDV (配列番号 720)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EKSWKYFY YYYYMD V (配列番号 721)

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	ENTSTIPYY YYYMDV (配列番号 722)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EDVDKNTS TIYYYYYY MDV (配列 番号 723)
RASQGISSA LA (配列番 号 643)	DASSLES (配列番号 55)	QQFNSYPL T (配列番号 60)	DYYMS (配 列番号 670)	YISSSGSTIY YADSVKG (配列番号 688)	DGGDIVSSS AIYWYFDL (配列番号 724)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DLILPPYY YYMDV (配 列番号 725)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	ETWIKILPR YYYYYYY MDV (配列 番号 726)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DLSRIYYY YMDV (配列 番号 727)
RASQGISS WLA (配列 番号 644)	AASSLQS (配列番号 645)	QQYNSYPL T (配列番号 655)	SYSMN (配 列番号 658)	YISSSSSTIY YADSVKG (配列番号 677)	EHIVLCFDY (配列番号 728)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DKILPRPY YYYMDV (配列番号 729)
TGTSSDVG GYNYVS (配 列番号 640)	EVSKRPS (配列番号 647)	SSYAGSNN WV (配列番 号 652)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQLQ G (配列番号 676)	GSNEYFQH (配列番号 730)

10

20

30

40

50

【表 6 - 6】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYAMN (配 列番号 669)	WINTNTGN PTYAQGFT G (配列番号 687)	GTSYWYFD L (配列番号 731)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EEIVEVFYY YYMDV (配 列番号 732)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYAMS (配 列番号 668)	AISGSGGST YYADSVKG (配列番号 686)	VDDYYFDY (配列番号 733)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SYWMH (配 列番号 667)	RINSDGSST SYADSVKG (配列番号 685)	STNILLSYT KAFDI (配列 番号 734)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DKTYYYYY YMDV (配列 番号 735)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EKYFHDKY FHDYYYYY MDV (配列 番号 736)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DTSVYYYY YMDV (配列 番号 737)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EKILPYYY YYYMDV (配列番号 738)
SGSSNIGS NTVN (配列 番号 641)	SNNQRPS (配列番号 648)	AAWDDSL NGWV (配列 番号 653)	SYSMN (配 列番号 658)	YISSSSSTIY YADSVKG (配列番号 677)	QWIYIYNP RGFIFLHDA FDI (配列番 号 739)

10

20

30

40

50

【表 6 - 7】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SNSAAWN (配列番号 671)	RTYYRSKW YNDYAVSV KS (配列番 号 689)	EDVDFHHD AFDI (配列 番号 740)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EGVDKNTS TIYYYYYY MDV (配列 番号 741)
RASQGISS WLA (配列 番号 644)	AASSLQS (配列番号 645)	QQYNSYPL T (配列番号 655)	SYSMN (配 列番号 658)	YISSSSSTIY YADSVKG (配列番号 677)	DRRGYFDL (配列番号 742)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	DYYMH (配 列番号 672)	LVPEDGE TIYAEKFQ G (配列番号 690)	GIHVDIRSM EDWFDL (配 列番号 743)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DIGTSYYY YMDV (配列 番号 744)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EVVEVFLY YYYYMDV (配列番号 745)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DLYYYYYY YMDV (配列 番号 746)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	ESWKYFYP RGSIFIHYY YYMDV (配 列番号 747)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DRIVEVfy YYYYMDV (配列番号 748)

10

20

30

40

50

【表 6 - 8】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	EKYFHDWL YYYYYMD V (配列番号 749)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DLVDKNTS YYYYYMD V (配列番号 750)
TGTSSDVG GYNYVS (配 列番号 640)	EVSKRPS (配列番号 647)	SSYAGSNN WV (配列番 号 652)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	VQNEYFQH (配列番号 751)
RASQGISS WLA (配列 番号 644)	AASSLQS (配列番号 645)	QQANSFPL T (配列番号 656)	DYYMS (配 列番号 670)	YISSSGSTIY YADSVKG (配列番号 688)	ANWFDP (配列番号 752)
HLA-A*01 CDR					
ASSTGAVT SGYYPN (配 列番号 639)	STSNKHS (配列番号 646)	LLYYGGAQ WV (配列番 号 651)	SYGIS (配列 番号 657)	WISAYNGN TNYAQKLQ G (配列番号 676)	GGWTAWY YYMDV (配 列番号 753)
SGSSSNIGS NTVN (配列 番号 641)	SNNQRPS (配列番号 648)	AAWDDSL NGWV (配列 番号 653)	SYSMN (配 列番号 658)	YISSSSSTIY YADSVKG (配列番号 677)	AKYYYYMD V (配列番号 754)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QQSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYYSWS (配列番号 664)	YIYYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DQVDKNTY YYYMDV (配列番号 755)
RASQGISS WLA (配列 番号 644)	AASSLQS (配列番号 645)	QQANSFPL T (配列番号 656)	DYYMS (配 列番号 670)	YISSSGSTIY YADSVKG (配列番号 688)	ACQLAEYF QH (配列番 号 756)

10

20

30

40

50

【表 6 - 9】

RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYWS (配列番号 664)	YIYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	DRVDKNTS YYYMDV (配列番号 757)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QSYSTPLT (配列番号 650)	SSNWWG (配列番号 673)	YIYSGSTY YNPSLKS (配列番号 682)	RVQLKLVH WFDP (配列 番号 758)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QSYSTPLT (配列番号 650)	SYDIN (配列 番号 674)	WMNPNSG NTGYAQKF QG (配列番 号 691)	YYDYVTVF YFQH (配列 番号 759)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QSYSTPLT (配列番号 650)	SGGYSWS (配列番号 675)	YIYHSGSTY YNPSLKS (配列番号 692)	ESYPSFYAF DI (配列番号 760)
RASQSISSY LN(配列番号 638)	AASSLQS (配列番号 645)	QSYSTPLT (配列番号 650)	TSGVGVG (配列番号 666)	LIYWDDK RYSPSLKS (配列番号 684)	SNMWSYSL NDYYFDY (配列番号 761)

10

20

【0211】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Aを含む。いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体のリガンド結合ドメインは、表6又は表7に記載のCDR配列を含む、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、又はHLA-A*11リガンド結合ドメインを含む。

30

【0212】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Bを含む。いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体のリガンド結合ドメインは、表6に記載のCDR配列を含むHLA-B*07リガンド結合ドメインを含む。

【0213】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Cを含む。いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体のリガンド結合ドメインは、表6に記載のCDR配列を含むHLA-C*07リガンド結合ドメインを含む。

40

【0214】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A、HLA-B、又はHLA-Cタンパク質の対立遺伝子バリエーションに特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*11、HLA-B*07、又はHLA-C*07に特異的に結合する。

【0215】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*01に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リ

50

ガンド結合ドメインは、表6に開示されるようなHLA-A*01相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表6のHLA-A*01 CDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

【0216】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*02に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表6に開示されるようなHLA-A*02相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表6のHLA-A*02 CDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

10

【0217】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号103~108若しくは配列番号109~114の相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は配列番号103~108若しくは配列番号109~114のCDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

【0218】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*03に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表6に開示されるようなHLA-A*03相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表6のHLA-A*03 CDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

20

【0219】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*11に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表7に開示されるようなHLA-A*11相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表7のHLA-A*11 CDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

30

【0220】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-B*07に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表6に開示されるようなHLA-B*07相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表6のHLA-B*07 CDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

【0221】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-C*07に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、表6に開示されるようなHLA-C*07相補性決定領域(CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表6のHLA-C*07 CDRと比較して、最大で1、2、若しくは3個の置換、欠失、若しくは挿入を有するCDR配列を含む。

40

【0222】

リガンド結合ドメインのいずれかの更なる実施形態において、各CDR配列は、1、2、3個以上の置換、挿入、又は欠失を有し得る。CDR配列は、置換、欠失、又は挿入を許容し得る。配列アラインメントツール、日常的な実験、及び既知のアッセイを使用して、当業者は、過度の実験なしに、CDR配列において、1、2、3個以上の置換、挿入、

50

又は欠失を有するバリエーション配列を生成及び試験することができる。

【0223】

いくつかの実施形態において、HLA-A*02を含む非標的抗原、及び第2の受容体のリガンド結合ドメインは、HLA-A*02リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、リガンド結合ドメインは、HLA-A*02を含むpMHC複合体において、ペプチドとは独立してHLA-A*02に結合する。いくつかの実施形態において、HLA-A*02リガンド結合ドメインは、scFvドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*02リガンド結合ドメインは、配列番号30～41のうちのいずれか1つの配列を含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*02リガンド結合ドメインは、配列番号30～41のうちのいずれか1つの配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、又は少なくとも99%同一の配列を含む。

10

【0224】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*02を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号30の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*02を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、配列番号30の配列を含む。

【0225】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*02を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、DVLMTQTPLSLPVSLGDAQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNNRFSQVPSDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPRTSVGGTKLEIK（配列番号762）の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含むVLを含む。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、QVQLQQSGPELVKPGASVRISSCKASGYTFTSYHIHWVKQRPQGGLIEWIGWIYPGNVNT EYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMHLSSSLTSEDSAVYFCAREEITYAMDYWGQGTSTVTVSS（配列番号763）の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含むVHを含む。いくつかの実施形態において、VH及びVLは、リンカー、例えば、GGGGSGGGGSGGGGSGGG（配列番号152）によって分離される。いくつかの実施形態において、VH及びVLは、NからC末端まで、VH、リンカー、及びVLで順序付けられる。いくつかの実施形態において、VH及びVLは、NからC末端まで、VL、リンカー、及びVHで順序付けられる。

20

30

【0226】

いくつかの実施形態において、HLA-A*02 scFvは、配列番号42～53のうちのいずれか1つの相補性決定領域（CDR）を含む。いくつかの実施形態において、scFvは、配列番号42～53のうちのいずれか1つと少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、scFvは、配列番号42～53のうちのいずれか1つと同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインの重鎖は、配列番号42～53のうちのいずれか1つの重鎖CDRを含み、抗原結合ドメインの軽鎖は、配列番号42～53のうちのいずれか1つの軽鎖CDRを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*02抗原結合ドメインは、重鎖及び軽鎖を含み、重鎖は、配列番号45～47及び51～53から選択されるCDRを含み、軽鎖は、配列番号42～44及び48～50から選択されるCDRを含む。

40

【0227】

いくつかの実施形態において、HLA-A*02抗原結合ドメインは、重鎖及び軽鎖を含み、重鎖は、配列番号30～41のうちのいずれか1つの重鎖部分と少なくとも95%同一の配列を含み、軽鎖は、配列番号30～41のうちのいずれか1つの軽鎖部分と少な

50

くとも95%同一の配列を含む。

【0228】

いくつかの実施形態において、重鎖は、配列番号30～41のうちのいずれか1つの重鎖部分と同一の配列を含み、軽鎖は、配列番号30～41のうちのいずれか1つの軽鎖部分と同一の配列を含む。

【0229】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*01を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*01リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*01リガンド結合ドメインは、表5に記載の配列群から選択される配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも99%同一である配列を含むs c F vドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*01 s c F vは、表6に記載のHLA-A*1 CDR配列を含む。

10

【0230】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*03を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*03リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*03リガンド結合ドメインは、表5に記載の配列群から選択される配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも99%同一である配列を含むs c F vドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*03 s c F vは、表6に記載のHLA-A*03 CDR配列を含む。

20

【0231】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*11を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-A*11リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*11リガンド結合ドメインは、表5に記載の配列群から選択される配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも99%同一である配列を含むs c F vドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*11 s c F vは、表7に記載のHLA-A*11 CDR配列を含む。

【0232】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-B*07を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-B*07リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-B*07リガンド結合ドメインは、表5に記載の配列群から選択される配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも99%同一である配列を含むs c F vドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-B*07 s c F vは、表6に記載のHLA-B*07 CDR配列を含む。

30

【0233】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-C*07を含み、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、HLA-C*07リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-C*07リガンド結合ドメインは、表5に記載の配列群から選択される配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、若しくは少なくとも99%同一である配列を含むs c F vドメインを含む。いくつかの実施形態において、HLA-C*07 s c F vは、表6に記載のHLA-C*07 CDR配列を含む。

40

【0234】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*11を含む。HLA-A*11に結合し、それを認識する当該技術分野で知られているか、又は本明細書で開示される様々な単一可変ドメインは、実施形態での使用に好適である。このようなs c F vとしては、例えば、上記表5に示されるペプチド非依存的な方式でHLA-A*11に結合する、以下のマウス及びヒト化s c F v抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

【0235】

HLA-A*11リガンド結合ドメインについての例示的な重鎖及び軽鎖CDR（それぞれ、CDR-H1、CDR-H2及びCDR-H3、又はCDR-L1、CDR-L2及びCDR-L3）を以下の表7に示す。表7のVH CDRのうちのいずれか、及び表

50

7に開示されるV L C D Rと組み合わせることができる。

【表 7】

表 7：例示的な抗H L A－A＊1 1 C D R配列

CDR H1	CDR H2	CDR H3
SGGYWS (配列番号 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 97)	HYYYYYMDV (配列番号 105)
TSGVGVG (配列番号 93)	LIYWNDKRYSPSLKS (配列番号 98)	KTTSFYFDY (配列番号 106)
SGGYWS (配列番号 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 97)	HYYYMDV (配列番号 104)
SYWMH (配列番号 96)	RINSDGSSTSYADSVKG (配列番号 101)	GVLLYNWFDP (配列番号 110)
SGGYWS (配列番号 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 97)	HYYYYLDV (配列番号 103)
SYDMH (配列番号 95)	AIGTAGDTYYPGSVKG (配列番号 100)	DLPGSYWYFDL (配列番号 109)
SYAMH (配列番号 94)	WINAGNGNTKYSQKFQG (配列番号 99)	EGNGANPDAFDI (配列番号 108)
TSGVGVG (配列番号 93)	LIYWNDKRYSPSLKS (配列番号 98)	RHMRLSCFDY (配列番号 107)
SGGYWS (配列番号 92)	YIYYSGSTYYNPSLKS (配列番号 97)	HYYYSM DV (配列番号 102)
CDR1 LC	CDR2 LC	CDR3 LC
RASQSISSYLN (配列番号 111)	AASSLQS (配列番号 112)	QQSYSTPLT (配列番号 113)

【0 2 3 6】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、H L A－A＊1 1を含み、第2の受容体のリガンド結合ドメインは、H L A－A＊1 1リガンド結合ドメインを含む。いくつかの実施形態において、リガンド結合ドメインは、H L A－A＊1 1を含むp M H C複合体において、ペプチドとは独立してH L A－A＊1 1に結合する。いくつかの実施形態において、H L A－A＊1 1リガンド結合ドメインは、s c F vドメインを含む。いくつかの実施形態において、H L A－A＊1 1リガンド結合ドメインは、配列番号1 1 4～1 2 2のうちのいずれか1つの配列を含む。いくつかの実施形態において、H L A－A＊1 1リガンド結合ドメインは、配列番号1 1 4～1 2 2のうちのいずれか1つの配列と少なくとも9 0 %、少なくとも9 5 %、又は少なくとも9 9 %同一の配列を含む。

【0 2 3 7】

いくつかの実施形態において、H L A－A＊1 1 s c F vは、配列番号1 1 4～1 2 2のうちのいずれか1つの相補性決定領域（C D R）を含む。いくつかの実施形態において、s c F vは、配列番号1 1 4～1 2 2のうちのいずれか1つと少なくとも9 5 %同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、s c F vは、配列番号1 1 4～1 2 2のうちのいずれか1つと同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、抗原結合ドメインの重鎖は、配列番号1 3 2～1 4 0のうちのいずれか1つの重鎖C D Rを含み、抗原結合

ドメインの軽鎖は、配列番号 1 4 1 の軽鎖 C D R を含む。いくつかの実施形態において、H L A - A * 1 1 抗原結合ドメインは、重鎖及び軽鎖を含み、重鎖は、配列番号 9 2 ~ 1 1 0 から選択される 1、2、又は 3 つの C D R を含み、軽鎖は、配列番号 1 1 1 ~ 1 1 3 から選択される 1、2、又は 3 つの C D R を含む。

【0 2 3 8】

H L A - A * 1 1 抗原結合ドメインについての例示的な重鎖及び軽鎖配列は、以下の表 8 に提供される。いくつかの実施形態において、H L A - A * 1 1 抗原結合ドメインは、重鎖及び軽鎖を含み、重鎖は、配列番号 1 3 2 ~ 1 4 0 のうちのいずれか 1 つの重鎖部分と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含み、軽鎖は、配列番号 1 4 1 の軽鎖部分と少なくとも 9 5 % 同一の配列を含む。

【0 2 3 9】

いくつかの実施形態において、重鎖は、配列番号 1 1 4 ~ 1 2 2 のうちのいずれか 1 つの重鎖部分と同一の配列を含み、軽鎖は、配列番号 1 1 4 ~ 1 2 2 のうちのいずれか 1 つの軽鎖部分と同一の配列を含む。

【表 8 - 1】

表 8 : 例示的な抗 H L A - A * 1 1 重鎖及び軽鎖配列

scFv	タンパク質配列	DNA 配列
重鎖配列		
9	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISGGYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYYYSMDVWGKGTTVTVSS (配列番号 132)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACAC TACTACTACTACTCCATGGACGTCTGGGGCAAAGGGAC CACGGTCACCGTGTCTCTCA (配列番号 142)
8	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPPGKALEWLALIYWND DKRYSPSLKSR LITKDTSKNQVVL TMTNMDPVDTATYYCAHRHMLRLSCFDYWGQGLTVTVSS (配列番号 133)	CAGATCACCCCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGTGAA ACCCACCCAGACCCTGACCCTGACATGCACCTTCAGCG GCTTCAGCCTGAGCACCTCTGGCGTGGGCGTGGGCTGG ATCAGACAGCCTCCCGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGC CCTGATCTACTGGAACGACGACAAGCGGTACAGCCCCA GCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACACCTCG AAGAACCAGGTGGTGCTGACCATGACAAACATGGACC CCGTGGACACCGCCACATATTACTGTGCACACAGACAC ATGCGTTTAAAGCTGTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTGTCTCTCA (配列番号 143)

10

20

30

40

50

【表 8 - 2】

scFv	タンパク質配列	DNA 配列
7	<u>QVQLVQSGAEV</u> <u>KKPGASVKVSC</u> <u>KASGYTFTSYA</u> <u>MHWVRQAPGQ</u> <u>RLEWMGWINA</u> <u>GNGNTKYSQKF</u> <u>QGRVTITRDTS</u> <u>STAYMELSSLRS</u> <u>EDTAVYYCARE</u> <u>GNGANPDADF</u> <u>WGQGTMTVS</u> <u>S</u> (配列番号 134)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGA AACCTGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTTGCAAGGCCAGC GGCTACACCTTCACCAGCTACGCCATGCACTGGGTTCG ACAGGCCCTGGCCAGAGACTGGAATGGATGGGCTGG ATCAACGCCGGAACGGCAACACCAAGTACAGCCAGA AATTCCAGGGCAGAGTGACCATCACCCGGGACACCAG CGCCAGCACCCGCTACATGGAAGTGTGAGCAGCCTGCGG AGCGAGGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAAG GAAATGGTGCCAACCCTGATGCTTTTGATATCTGGGGC CAAGGGACAATGGTCACCGTGTCTCTCA (配列番号 144)
6	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYD <u>MHWVRQATGK</u> <u>GLEWVSAIGTA</u> <u>GDTYYPGSVKG</u> RFTISRENAKNS LYLQMNSLRAG DTAVYYCARDL <u>PGSYWYFDLW</u> GRGTLVTVSS (配列番号 135)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACGACATGCACTGGGTCCG CCAGGCCACCGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCC ATCGGCACAGCCGGCGACACTTACTACCCCGGCAGCGT GAAGGGCCGGTTCACCATCAGCAGAGAGAACGCCAAG AACAGCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTTCGAGCCGG CGATACCGCCGTGTATTACTGTGCAAGAGATCTCCCTG GTAGCTACTGGTACTTCGATCTCTGGGGCCGTGGCACC CTGGTCACTGTGTCCTCA (配列番号 145)
5	QVQLQESGPGL VKPSQTLSTCT VSGGSISSGGYY <u>WSWIRQPPGKG</u> <u>LEWIGYIYYS</u> <u>GS</u> <u>TYYNPSLKSRV</u> TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYY <u>YYYLDYWGKG</u> TTVTVSS (配列番号 136)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACAC TACTACTACTACTACCTGGACGTCTGGGGCAAAGGGAC CACGGTCACCGTGTCTCTCA (配列番号 146)

10

20

30

40

50

【表 8 - 3】

scFv	タンパク質配列	DNA 配列
4	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFSSYW MHWVRQAPGK GLVWVSRINSD GSSTSYADSVK GRFTISRDNANK TLYLQMNSLRA EDTAVYYCCLG VLLYNWFDPW GQGTLVTVSS (配列番号 137)	GAAGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGC AGCCTGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGC GGCTTCACCTTCAGCAGCTACTGGATGCACTGGGTCCG CCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGTCTGGGTGTCTCGAA TCAACAGCGACGGCAGCAGCACCAGCTACGCCGACAG CGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACAACGCC AAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGG CCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTTGTTTGGGTGTTT TATTATACAACCTGGTTCGACCCCTGGGGCCAGGGAACC CTGGTCACCGTGTCTCA (配列番号 147)
3	QVQLQESGPG VKPSQTLSTCT VSGGSISSGGYY WSWIRQPPGKG LEWIGYIYSGS TYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYY YYMDVWGKGT TVTVSS (配列番号 138)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACAC TACTACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCAC GGTCACCGTGTCTCA (配列番号 148)
2	QITLKESGPTLV KPTQTLTLCTF SGFSLSTSGVGV GWIRQPPGKAL EWLALIYWND KRYSPSLKSRLT ITKDTSKNQVV LTMTNMDPVD ATYYCAHKTT FYFDYWGQGT LTVSS (配列番号 139)	CAGATCACCTGAAAGAGTCCGGCCCCACCCTGGTGAA ACCCACCCAGACCCTGACCCTGACATGCACCTTCAGCG GCTTCAGCCTGAGCACCTCTGGCGTGGGCGTGGGCTGG ATCAGACAGCCTCCCGGCAAGGCCCTGGAATGGCTGGC CCTGATCTACTGGAACGACGACAAGCGGTACAGCCCCA GCCTGAAGTCCCGGCTGACCATCACCAAGGACACCTCG AAGAACCAGGTGGTGTGCTGACCATGACAAACATGGACC CCGTGGACACCGCCACATATTACTGTGCACACAAAACG ACGTCGTTTTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCT GGTCACCGTGTCTCA (配列番号 149)

10

20

30

40

50

【表 8 - 4】

scFv	タンパク質配列	DNA 配列
1	QVQLQESGPGL VKPSQTLSTCT VSGGSISSGGYY WSWIRQPPGKG LEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFS LKLSSVTAADT AVYYCARHYH YYYMDVWGKG TTVTVSS (配列番号 140)	CAGGTGCAGCTGCAGGAAAGCGGCCCTGGCCTGGTGA AACCCAGCCAGACCCTGAGCCTGACCTGCACAGTGTCC GGCGGCTCGATCAGCAGCGGCGGCTACTACTGGTCCTG GATCAGACAGCCCCCTGGCAAGGGCCTGGAATGGATC GGCTACATCTACTACAGCGGCAGCACCTACTACAACCC CAGCCTGAAGTCCAGAGTGACCATCAGCGTGGACACC AGCAAGAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCAGCGTGA CAGCCGCCGACACCGCTGTGTATTACTGTGCGAGACAC TACTACTACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGAC CACGGTCACCGTGTCTCTCA (配列番号 150)
軽鎖配列		
1-9	DIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWY QKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFA TYYCQOSYSTP LTFGGGTKVEIK (配列番号 141)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAA GTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAG AAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGC ATCCAGTTTGCAAAGTGCGGGTCCCATCAAGGTTTCAGTG GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGC AGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCA ACAGAGTTACAGTACCCCTCTCACTTTTCGGCGGCGGAA CAAAGGTGGAGATCAAG (配列番号 151)

【0240】

差次的に発現された抑制因子リガンド

本開示は、がん細胞と正常細胞との間で差次的に発現される抑制因子リガンド（非標的抗原）を提供する。

【0241】

抑制性受容体の活性化は、細胞の表面上の非標的抗原の存在によって媒介される。非標的抗原を発現する細胞は、非標的抗原の発現のレベルに基づいて抑制性受容体を活性化する。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、標的細胞及び非標的細胞の両方によって発現される。しかしながら、これらの実施形態において、非標的抗原は、標的細胞よりも高いレベルで非標的細胞によって発現される。非標的細胞によって発現される、より高いレベルの非標的抗原は、抑制性受容体を活性化し、それによって、免疫細胞の活性化を阻止する。対照的に、標的によって発現される、より低いレベルの非標的抗原は、抑制性受容体を活性化するのに十分ではなく、免疫細胞の活性化をもたらす。

【0242】

代替的な実施形態において、非標的抗原は、非標的細胞によって発現されるが、標的細胞によっては発現されない。非標的抗原の発現がない場合、標的細胞は、標的受容体を活性化し、それによって、免疫細胞を活性化する。

【0243】

差次的発現は、発現を測定するために使用される、当該技術分野で既知の任意の技術によって決定することができる。それらは、とりわけ、細胞における標的遺伝子の mRNA 及び／又はタンパク質レベルを測定するための技術を含む。試料中のタンパク質レベルを

測定する方法には、免疫組織化学、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）、及び液体クロマトグラフィー質量分析法（L C - M S）などの分析方法が含まれる。m R N A レベルを測定する方法には、リアルタイム定量的逆転写 P C R（q R T - P C R）、及びハイスループット配列決定が含まれる。発現の違いは、例えば、正常細胞と、疾患細胞、例えば、がん細胞との間で観察され得る。

【 0 2 4 4 】

非標的抗原による抑制性受容体の活性化は、当該技術分野で既知の様々な様式に従って生じ得る。非標的抗原による抑制性受容体の活性化は、当該技術分野で既知の方法によって決定することができる。例えば、抑制性受容体を発現する細胞における下流細胞内シグナル伝達のレベルは、レポーター遺伝子の使用によって測定することができる。

10

【 0 2 4 5 】

理論に拘束されることを望まないが、非標的抗原の発現が、抑制性受容体の活性化による免疫細胞の活性化を阻害するか否かは、非標的抗原対抑制因子受容体の比に応じて生じ得る。非標的抗原及び抑制性受容体の発現レベル、並びにそれらの比は、とりわけ、免疫組織化学及び蛍光活性化セルソーティング（F A C S）を含む、当該技術分野で既知の方法によって決定することができる。標的細胞及び非標的細胞上の非標的抗原の発現レベルの分析を使用して、抑制性受容体を発現する免疫細胞の選択的標的化を予測することができる。標的又は非標的細胞上の非標的抗原の発現が低い、又は全くないことは、例えば、本開示の免疫細胞において抑制性受容体が活性化されないことを示し得る。

【 0 2 4 6 】

20

代替的に、又は加えて、理論に拘束されることを望まないが、抑制性受容体の活性化を介した非標的抗原による免疫細胞活性化の阻害は、抑制性受容体に対する非標的抗原の親和性に依存し得る。親和性を測定する方法は、当該技術分野で既知であり、とりわけ、酵素結合免疫吸着アッセイ又は放射免疫アッセイ方法を含む。

【 0 2 4 7 】

代替的に、又は加えて、理論に拘束されることを望まないが、抑制性受容体の活性化を介した非標的抗原による免疫細胞活性化の阻害は、抑制性受容体と活性化因子受容体との間のクロストークに応じて生じ得、活性化因子受容体の活性の下方制御をもたらす。例えば、非標的抗原による抑制性受容体の活性化は、免疫細胞の表面上の活性化因子受容体の発現の低下をもたらし得る。

30

【 0 2 4 8 】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、標的細胞内で、正常細胞よりも低いレベルで発現される。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、健常な細胞、すなわち、がん細胞ではない細胞によって発現される。いくつかの実施形態において、非標的抗原発現レベルは、標的細胞において、非標的細胞の、少なくとも約 10 分の 1、少なくとも約 30 分の 1、少なくとも約 50 分の 1、少なくとも約 70 分の 1、少なくとも約 90 分の 1、少なくとも約 100 分の 1、少なくとも約 110 分の 1、少なくとも約 150 分の 1、少なくとも約 200 分の 1、少なくとも約 250 分の 1、少なくとも約 300 分の 1、少なくとも約 350 分の 1、少なくとも約 400 分の 1、少なくとも約 450 分の 1、少なくとも約 500 分の 1、少なくとも約 600 分の 1、少なくとも約 700 分の 1、少なくとも約 800 分の 1、少なくとも約 900 分の 1、又は少なくとも約 1000 分の 1 である。いくつかの実施形態において、非標的抗原発現レベルは、複数の健常な細胞の、約 10 分の 1、約 30 分の 1、約 50 分の 1、約 70 分の 1、約 90 分の 1、約 100 分の 1、又は約 110 分の 1 である。いくつかの実施形態において、非標的抗原発現レベルは、複数のがん細胞において、複数の健常な細胞の少なくとも約 5 分の 1 である。いくつかの実施形態において、非標的抗原発現レベルは、標的細胞において、非標的細胞の少なくとも約 5 分の 1 である。いくつかの実施形態において、標的細胞は、非標的抗原の発現が低い、又は全くない複数のがん細胞である。

40

【 0 2 4 9 】

標的細胞によって発現されない（又は低レベルで発現される）、非標的細胞によって発

50

現される任意の細胞表面分子は、第2の受容体細胞外リガンド結合ドメインに好適な非標的抗原であり得る。例えば、細胞接着分子、細胞間シグナル伝達分子、細胞外ドメイン、走化性に関与する分子、糖タンパク質、Gタンパク質共役受容体、膜貫通タンパク質、神経伝達物質のための受容体、又は電圧依存性イオンチャネルを、非標的抗原として使用することができる。

【0250】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスI（MHC-I）との複合体における、ロイシンリッチリピートニューロナル4（LRRN4）及びウロプラキンB3（UPKB3）、又はそれらのいずれかのペプチド抗原からなる群から選択される。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-Iとの複合体におけるLRRN4又はそのペプチド抗原である。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-Iとの複合体におけるUPKB3又はそのペプチド抗原である。

【0251】

いくつかの実施形態において、標的抗原は、主要組織適合性複合体クラスI（MHC-I）との複合体におけるがん細胞特異的抗原のペプチド抗原である。

【0252】

HLA-A、HLA-B、又はHLA-Cのいずれかを含む非標的MHC-I（pMHC）抗原は、本開示の範囲内であると想定される。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Aを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Bを含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-Cを含む。

【0253】

非標的抗原は、がん細胞、例えば、肺がん細胞において低い発現であるか、又は全く発現しないが、正常な肺組織などの正常な組織において発現されるタンパク質を含む。

【0254】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-Iとの複合体におけるLRRN4又はその抗原ペプチドを含む。ヒトLRRN4は、NCBI記録番号NP_689824.2に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、LRRN4は、

【化8】

```

1 MRQTLPLLLL TVLRPSWADP PQEKVPLFRV TQQGPWGSSG SNATDSPCEG LPAADATALT
61 LANRNLRLRP GCLPRTLRLS DASHNLLRAL STSELGHLEQ LQVLTLRHNR IAALRWGPGG
121 PAGLHTLDLS YNQLAALPPC TGPALSSLRA LALAGNPLRA LQPRAFACFP ALQLNLNSCT
181 ALGRGAQGGI AEAFAFAGEDG APLVTLEVL DSGTFLERVE SGWIRDL PKL TSLYLKMPR
241 LTTLEGDIFK MTPNLQQLDC QDSPALASVA THIFQDTPHL QVLLFQNCNL SSFPPTLDS
301 SQVLSINLFG NPLTSCDLS WLLTDAKRTV LSRAADTMCA PAAGSSGPFS ASLSLSQLPG
361 VCQSDQSTTL GASHPPCFNR STYAQGTVA PSAAPATRPA GDQQSVSKAP NVGSRTIAAW
421 PHSDAREGTA PSTTNSVAGH SNSSVFPRAA STTRTQHRGE HAPELVLEPD ISAASTPLAS
481 KLLGPFPTSW DRSSSPQPG QRTATPQAP NPSLSEGEIP VLLLDYSEE BEGRKEEVGT
541 PHQDVPCDYH PCKHLQTPCA ELQRRWRCRC PGLSGEDTIP DPPRLQGVTE TTDTSALVHW
601 CAPNSVVHGY QIRYSAEGWA GNQSVGVYI ATARQHPLYG LSPGTTYRVC VLAANRAGLS
661 QPRSSGWRSP CAAFTTKPSF ALLLSGLCAA SGLLLASTVV LSACLRRGQ TLGLQRCDTH
721 LVAYKNPAFD DYPLGLQTVS (配列番号75)

```

のアミノ酸配列を含む。

【0255】

いくつかの実施形態において、LRRN4は、配列番号75と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を共有する配列を含む。いくつかの実施形態において、LRRN4は、配列番号75と同一の配列を含む。

【0256】

いくつかの実施形態において、非標的抗原は、MHC-Iとの複合体におけるUPKB3又はその抗原ペプチドを含む。UPKB3の全てのアイソフォームは、本開示の範囲内として想定される。ヒトUPKB3アイソフォームa前駆体は、NCBI記録番号NP_

085047.1に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、UPKBアイソフォームa前駆体は、
【化9】

```

1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLGE WGSWMDASSQ TQAGGPAGV IGPWAPAPLR
61 LGEAAPGTPT PVSVAHLLSP VATELVPTYP QITAWDLEGK VTATTFSLAQ PRCVFDGLAS
121 ASDTVWLVA FSNASRGFQN PETLADIPAS PQLLTDGHYM TLPLSPDQLP CGDPMAGSGG
181 APVLRVGH DH GCHQQPFCNA PLPGPGPYRE DPRHRHLAR AAKWQHHRHY LHPLFSGRPP
241 TLGLLGS LYH ALLQPVVAGG GPGAAADRLL HGQALHDP PH PTQGRHTAG GLQAWPGPPP
301 QPQPLAWPLC MGLGEMGRRE (配列番号76)

```

のアミノ酸配列を含む。

【0257】

ヒトUPKBアイソフォームb前駆体は、NCBI記録番号NP_872625.1に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、UPKBアイソフォームb前駆体は、
【化10】

```

1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLEL VPTYTPQITAW DLEGKVTATT FSLEQPRCVF
61 DGLASASDTV WLVAFAFNAS RGFQNPETLA DIPASPQLLT DGHYMTLPLS PDQLPCGDPM
121 AGSGGAPVLR VGHDHGCHQQ PFCNAPLPGP GPYRVKFLLM DTRGSPRAET KWSDPITLHQ
181 GKTPGSIDTW PGRSGSMIV ITSILSSLAG LLLLAFLAAS TMRFSSLWNP EEAPEQLRIG
241 SFMGKRYMTH HIPPEAATL PVGCKPGLDP LPSLSP (配列番号77)

```

のアミノ酸配列を含む。

【0258】

ヒトUPKBアイソフォームc前駆体は、NCBI記録番号NP_872624.1に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、UPKBアイソフォームc前駆体は、
【化11】

```

1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLEL VPTYTPQITAW DLEGKVTATT FSLEQPRCVF
61 DGLASASDTV WLVAFAFNAS RGFQNPETLA DIPASPQLLT DGHYMTLPLS PDQLPCGDPM
121 AGSGGAPVLR VGHDHGCHQQ PFCNAPLPGP GPYREDPRIH RHLARAANKWQ HDRHYLHPLF
181 SGRPPTLGLL GSLYHALLQP VVAGGGPGAA ADRLHGGAL HDPPHPTQRG RHTAGGLQAW
241 PGPPPQPOPL AWPLCMGLGE MGRRE (配列番号78)

```

のアミノ酸配列を含む。

【0259】

ヒトUPKBアイソフォームd前駆体は、NCBI記録番号NP_001334613.1に記載されており、その内容は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態において、UPKBアイソフォームc前駆体は、
【化12】

```

1 MGLPWGQPHL GLQMLLLALN CLRPSLSLEL VPTYTPQITAW DLEGKVTATT FSLEQPRCVF
61 DGLASASDTV WLVAFAFNAS RGFQNPETLA DIPASPQLLT DGHYMTLPLS PDQLPCGDPM
121 AGSGGAPVLR VGHDHGCHQQ PFCNAPLPGP GPYRVKFLLM DTRGSPRAET KWSDPITLHQ
181 GKTPGSIDTW PGRSGSMIV ITSILSSLAG LLLLAFLAAS TMRFSSLWNP EEAPEQLRIG
241 SFMGKRYMTH HIPPREAATL PVGCKPGLDP LPSLSP (配列番号79)

```

のアミノ酸配列を含む。

【0260】

いくつかの実施形態において、UPKB3は、配列番号76～79のうちのいずれか1つと少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を共有する配列又は部分配列を含む。いくつかの実施形態において、UPKB3は、配列番

号 76～79 と同一の配列又は部分配列を含む。

【0261】

抑制性キメラ抗原受容体

本開示は、抑制性キメラ抗原受容体である第2の受容体を提供する。抑制性受容体は、MHC-I複合体における非標的抗原又はそのペプチド誘導体に結合し、それを認識する細胞外リガンド結合ドメインを含んでもよい。

【0262】

本明細書で使用される場合、「抑制性受容体」という用語は、免疫細胞の免疫活性を阻害又は抑制する抑制シグナルを形質導入することができる細胞内シグナル伝達ドメインに融合されるリガンド結合ドメインを指す。抑制性受容体は、免疫細胞抑制性の潜在能力を有し、免疫細胞活性化の潜在能力を有する受容体であるCARとは異なり、区別可能である。例えば、CARは、細胞内刺激ドメイン及び／又は共刺激ドメインを含むので、受容体を活性化している。抑制性受容体は、細胞内阻害ドメインを含有する抑制性受容体である。

10

【0263】

本明細書で使用される場合、「抑制シグナル」とは、免疫応答の抑制（例えば、サイトカイン産生の減少又は免疫細胞活性化の減少）をもたらす免疫細胞におけるシグナル伝達又はタンパク質発現の変化を指す。免疫細胞の阻害又は抑制は、選択的及び／若しくは可逆的であり得るか、又は選択的及び／若しくは可逆的ではない。

【0264】

本開示の抑制性受容体は、細胞外リガンド結合ドメインを含み得る。リガンド依存的な様式で受容体の活性を調節することができる任意の種類のリガンド結合ドメインは、本開示の範囲内として想定される。抑制性受容体は、非標的抗原に応答する（例えば、HLA-A*02）。例えば、非標的抗原（例えば、HLA-A*02）が、抑制性受容体に結合又は接触する場合、抑制性受容体は応答性であり、抑制性受容体の細胞外リガンド結合ドメインによる非標的抗原の結合時に抑制性受容体を発現する免疫細胞における抑制シグナルを活性化する。

20

【0265】

本開示の抑制性受容体は、細胞外リガンド結合ドメインを含み得る。リガンド依存的な様式で受容体の活性を調節することができる任意の種類のリガンド結合ドメインは、本開示の範囲内として想定される。

30

【0266】

いくつかの実施形態において、リガンド結合ドメインは、抗原結合ドメインである。例示的な抗原結合ドメインには、とりわけ、scFv、SdAb、Vβのみのドメイン、並びにTCR α及びβ鎖可変ドメインに由来するTCR抗原結合ドメインが含まれる。

【0267】

任意の種類の抗原結合ドメインは、本開示の範囲内として想定される。

【0268】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、scFvである。

40

【0269】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、主要組織適合性複合体クラスI（MHC-I）、又はHLA-A*02との複合体における、細胞間接着分子1（ICAM1）、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ（COMT）、C-X-Cモチーフケモカインリガンド16（CXCL16）、ロイシンリッチリピートニューロナル4（LRRN4）及びウロプラキシン3B（UPK3B）の多型バリエーション、又はそれらの抗原ペプチドに結合し、それらを認識する。いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、scFvである。

【0270】

いくつかの実施形態において、第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインは、抑制性

50

受容体の細胞外ドメインに融合される。

【0271】

いくつかの実施形態において、本開示の抑制性受容体は、細胞外ヒンジ領域を含む。例示的なヒンジは、IgD及びCD8ドメイン、例えば、IgG1から単離又は派生され得る。いくつかの実施形態において、ヒンジは、CD8 α 又はCD28から単離されるか、又は派生される。

【0272】

本開示の抑制性受容体は、抑制性受容体の細胞外ドメインに融合される膜貫通ドメインを含むように設計することができる。いくつかの場合において、膜貫通ドメインは、同じ又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへのそのようなドメインの結合を避け、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限に抑えるために、アミノ酸置換によって選択又は修飾され得る。

【0273】

膜貫通ドメインは、天然又は合成源のいずれかに由来し得る。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質に由来し得る。膜貫通領域は、T細胞受容体、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154のアルファ、ベータ、若しくはゼータ鎖、又はIgG4などの免疫グロブリンから単離されてもよい、又は派生されてもよい（すなわち、それらの少なくとも膜貫通領域を含む）。代替的に、膜貫通ドメインは合成であってもよく、その場合、ロイシン及びバリンなどの主に疎水性残基を含む。いくつかの実施形態において、フェニルアラニン、トリプトファン、及びバリンのトリプレットは、合成膜貫通ドメインの各末端に見出される。任意選択で、好ましくは2〜10アミノ酸長の短いオリゴリンカー又はポリペプチドリンカーは、膜貫通ドメインと抑制性受容体の細胞内ドメインとの間の結合を形成してもよい。グリシン-セリンダブレットは、特に好適なリンカーを提供する。

【0274】

本開示は、細胞内ドメインを含む抑制性受容体を提供する。本開示の抑制性受容体の細胞内ドメインは、他の場合に第1の受容体による活性化シグナルに応答して活性化されるであろう、抑制性受容体を含む免疫細胞の活性化を抑制することを担う。いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含む。いくつかの実施形態において、ITIMを含む抑制性細胞内ドメインは、CTLA-4及びPD-1などの免疫チェックポイント阻害剤から単離され得るか、又は派生され得る。CTLA-4及びPD-1は、T細胞の表面上に発現する免疫抑制性受容体であり、T細胞応答の減衰又は終結において重要な役割を果たす。

【0275】

いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、ヒト腫瘍壊死因子関連アポトシス誘導リガンド（TRAIL）受容体及びCD200受容体1から単離される。いくつかの実施形態において、TRAIL受容体は、TR10A、TR10B又はTR10Dを含む。

【0276】

いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、グリコスフィンゴ脂質マイクロドメイン1（PAG1）を有するリンタンパク質膜アンカーから単離される。いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、白血球免疫グロブリン様受容体B1（ILRB1）から単離される。

【0277】

いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、ヒトタンパク質、例えば、ヒトTRAIL受容体、CTLA-4、PD-1、PAG1、又はILRB1タンパク質から単離されるか、又は派生される。

【0278】

いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、細胞内ドメイン、膜貫通、又はそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、細胞内ドメイン、膜貫通ドメイン、ヒンジ領域、又はそれらの組み合わせを含む。

【0279】

いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、キラー細胞免疫グロブリン様受容体、3つのIgドメイン及び長い細胞質尾部2 (KIR3DL2)、キラー細胞免疫グロブリン様受容体、3つのIgドメイン及び長い細胞質尾部3 (KIR3DL3)、白血球免疫グロブリン様受容体B1 (LIR-1及びLILRB1とも呼ばれる、LIR1)、プログラム細胞死1 (PD-1)、Fcガンマ受容体IIb (FcγRIIb)、キラー細胞レクチン様受容体K1 (NKG2D)、CTLA-4、合成コンセンサスITIMを含有するドメイン、ZAP70 SH2ドメイン (例えば、N及びC末端SH2ドメインの1つ又は両方)、又はZAP70 KI_K369A (キナーゼ不活性ZAP70) から単離されるか、又は派生される。

【0280】

いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、ヒトタンパク質から単離されるか、又は派生される。

【0281】

いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体は、阻害ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体は、抑制性細胞内ドメイン及び／又は抑制性膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、抑制性受容体の細胞内ドメインに融合される。いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、抑制性受容体の膜貫通ドメインに融合される。

【0282】

いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体は、同じタンパク質、例えば、ITIM含有タンパク質から単離されるか、又は派生される、単離されるか、又は派生される、細胞質ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞外ドメイン又はそれらの一部分を含む。いくつかの実施形態において、第2の抑制性受容体は、細胞内ドメイン及び／又は膜貫通ドメインと同じタンパク質、例えば、ITIM含有タンパク質から単離されるか、又は派生される、単離されるか、又は派生されるヒンジ領域を含む。

【0283】

いくつかの実施形態において、第2の受容体は、阻害ドメインを含むTCR (抑制性TCR) である。いくつかの実施形態において、抑制性TCRは、抑制性細胞内ドメイン及び／又は抑制性膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、TCRアルファ、TCRベータ、CD3デルタ、CD3ガンマ若しくはCD3イプシロンの細胞内ドメイン、又はそれらの一部分のTCRに融合される。いくつかの実施形態において、抑制性細胞内ドメインは、TCRアルファ、TCRベータ、CD3デルタ、CD3ガンマ又はCD3イプシロンの膜貫通ドメインに融合される。

いくつかの実施形態において、第2の受容体は、阻害ドメインを含むTCR (抑制性TCR) である。いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、LILRB1から単離されるか、又は派生される。

【0284】

LILRB1抑制性受容体

本開示は、LILRB1阻害ドメイン、並びに任意選択で、LILRB1膜貫通ドメイン及び／若しくはヒンジドメイン、又はその機能的バリエーションを含む、第2の抑制性受容体を提供する。LILRB1膜貫通ドメイン及び／又はLILRB1ヒンジドメインを抑制性受容体に含めることにより、別の膜貫通ドメイン又は別のヒンジドメインを有する参照抑制性受容体と比較して、抑制性受容体によって生成される抑制シグナルが増加し得る。LILRB1阻害ドメインを含む第2の抑制性受容体は、本明細書に記載されるようなCAR又はTCRであってもよい。本明細書に記載されるような任意の好適なリガンド結合ドメインは、LILRB1ベースの第2の抑制性受容体に融合され得る。

【0285】

白血球免疫グロブリン様受容体B1としても知られている、白血球免疫グロブリン様受容体サブファミリーBメンバー1 (LILRB1)、並びにILT2、LIR1、MIR7、PIRB、CD85J、ILT-2 LIR-1、MIR-7、及びPIR-Bは、白血球免疫グロブリン様受容体 (LIR) ファミリーのメンバーである。LILRB1タンパク質は、LIR受容体のサブファミリーBクラスに属する。これらの受容体は、2～4個の細胞外免疫グロブリンドメイン、膜貫通ドメイン、及び2～4個の細胞質免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ (ITIM) を含有する。LILRB1受容体は、免疫細胞上で発現され、それは、抗原提示細胞上のMHCクラスI分子に結合し、免疫応答の刺激を阻害する負のシグナルを形質導入する。LILRB1は、炎症反応、及び細胞傷害性を調節し、自己反応性を制限する際に役割を果たすと考えられている。LILRB1の異なるアイソフォームをコードする複数の転写バリエーションが存在し、これらの全ては、本開示の範囲内であると企図される。

10

【0286】

本明細書に記載される抑制性受容体のいくつかの実施形態において、抑制性受容体は、LILRB1から単離されるか、又は派生される1つ以上のドメインを含む。LILRB1から単離されるか、又は派生される1つ以上のドメインを有する受容体のいくつかの実施形態において、LILRB1の1つ以上のドメインは、配列番号54の配列又は部分配列と少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%同一であるか、又はそれと同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、LILRB1の1つ以上のドメインは、配列番号54の配列又は部分配列と同一であるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態において、LILRB1の1つ以上のドメインは、配列番号54の配列又は部分配列と少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%同一であるか、又はそれと同一であるアミノ酸配列からなる。いくつかの実施形態において、LILRB1の1つ以上のドメインは、配列番号54の配列又は部分配列と同一であるアミノ酸配列からなる。

20

【0287】

LILRB1から単離されるか、又は派生される1つ以上のドメインを有する受容体のいくつかの実施形態において、LILRB1の1つ以上のドメインは、配列番号55の配列又は部分配列と少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%同一であるか、又はそれと同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。

30

【0288】

LILRB1の1つ以上のドメインを有する受容体のいくつかの実施形態において、LILRB1の1つ以上のドメインは、配列番号55の配列又は部分配列と同一であるポリヌクレオチド配列によってコードされる。

【0289】

様々な実施形態において、ポリペプチドを含む抑制性受容体が提供され、ポリペプチドは、LILRB1ヒンジドメイン又はその機能的バリエーション、LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーション、及びLILRB1細胞内ドメイン又は少なくとも1つ、若しくは少なくとも2つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ (ITIM) を含む細胞内ドメインのうちの1つ以上を含み、各ITIMは、独立して、NLAAV (配列番号56)、VTYAEV (配列番号57)、VTYAQL (配列番号58)、及びSIYATL (配列番号59) から選択される。

40

【0290】

本明細書で使用される場合、「免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ」又は「ITIM」とは、免疫系の多くの抑制性受容体の細胞質尾部に見出される、S/I/V/LxYxxI/V/L (配列番号547) などのコンセンサス配列を有するアミノ酸の保存配列を指す。ITIM保有抑制性受容体が、それらのリガンドと相互作用した後、ITIMモ

50

チーフがリン酸化され、抑制性受容体が、他の酵素、例えば、ホスホチロシンホスファターゼ S H P - 1 及び S H P - 2、又は S H I P と呼ばれるイノシトール-ホスファターゼを動員することが可能になる。

【0291】

いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、少なくとも1つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ (I T I M)、少なくとも2つの I T I M、少なくとも3つの I T I M、少なくとも4つの I T I M、少なくとも5つの I T I M、又は少なくとも6つの I T I Mを含む、細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、1、2、3、4、5、又は6つの I T I Mを有する。

【0292】

いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、N L Y A A V (配列番号56)、V T Y A E V (配列番号57)、V T Y A Q L (配列番号58)、及び S I Y A T L (配列番号59) からなる I T I M の群から選択される少なくとも1つの I T I Mを含む、細胞内ドメインを含む。

【0293】

更なる特定の実施形態において、ポリペプチドは、少なくとも2つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ (I T I M) を含む、細胞内ドメインを含み、各 I T I M は、独立して、N L Y A A V (配列番号56)、V T Y A E V (配列番号57)、V T Y A Q L (配列番号58)、及び S I Y A T L (配列番号59) から選択される。

【0294】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、I T I M N L Y A A V (配列番号56) 及び V T Y A E V (配列番号57) の両方を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号60と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号60と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0295】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、I T I M V T Y A E V (配列番号57) 及び V T Y A Q L (配列番号58) の両方を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号61と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号61と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0296】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、I T I M V T Y A Q L (配列番号58) 及び S I Y A T L (配列番号59) の両方を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号62と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号62と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0297】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、I T I M N L Y A A V (配列番号56)、V T Y A E V (配列番号57)、及び V T Y A Q L (配列番号58) を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号63と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号63と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0298】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、I T I M V T Y A E V (配列番号57)、V T Y A Q L (配列番号58)、及び S I Y A T L (配列番号59) を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号64と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号64と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0299】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、ITIM NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号65と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、配列番号65と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0300】

いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、LILRB1細胞内ドメイン（配列番号70）と少なくとも95%同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、細胞内ドメインは、LILRB1細胞内ドメイン（配列番号70）と同一の配列を含むか、又はそれから本質的になる。

【0301】

本開示のLILRB1細胞内ドメイン又はその機能的バリエーションは、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも4、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、又は少なくとも8つのITIMを有することができる。いくつかの実施形態において、LILRB1細胞内ドメイン又はその機能的バリエーションは、2、3、4、5、又は6つのITIMを有する。

【0302】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、2、3、4、5、又は6つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）から選択される。

【0303】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、少なくとも3つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）から選択される。

【0304】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、3つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）から選択される。

【0305】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、4つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）から選択される。

【0306】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、5つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）から選択される。

【0307】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、6つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIYATL（配列番号59）から選択される。

【0308】

特定の実施形態において、細胞内ドメインは、少なくとも7つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ITIM）を含み、各ITIMは、独立して、NLYAAV（配列番号56）、VTYAEV（配列番号57）、VTYAQL（配列番号58）、及びSIY

10

20

30

40

50

A T L（配列番号 59）から選択される。

【0309】

L I L R B 1 タンパク質は、D 1、D 2、D 3 及び D 4 と呼ばれる 4 つの免疫グロブリン（I g）様ドメインを有する。いくつかの実施形態において、L I L R B 1 ヒンジドメインは、L I L R B 1 D 3 D 4 ドメイン又はその機能的バリエーションを含む。いくつかの実施形態において、L I L R B 1 D 3 D 4 ドメインは、配列番号 66 と少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % 同一であるか、又はそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、L I L R B 1 D 3 D 4 ドメインは、配列番号 66 を含むか、又はそれから本質的になる。

【0310】

いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、L I L R B 1 ヒンジドメイン又はその機能的バリエーションを含む。実施形態において、L I L R B 1 ヒンジドメイン、又はその機能的バリエーションは、配列番号 73、配列番号 66、又は配列番号 67 と少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 % 同一であるか、又はそれらと同一である配列を含む。実施形態において、L I L R B 1 ヒンジドメイン、又はその機能的バリエーションは、配列番号 73、配列番号 66、又は配列番号 67 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む。

【0311】

いくつかの実施形態において、L I L R B 1 ヒンジドメインは、配列番号 73、配列番号 66、又は配列番号 67 と同一の配列を含む。

【0312】

いくつかの実施形態において、L I L R B 1 ヒンジドメインは、配列番号 73、配列番号 66、又は配列番号 67 と同一の配列から本質的になる。

【0313】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、L I L R B 1 膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションである。いくつかの実施形態において、L I L R B 1 膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションは、配列番号 74 と少なくとも 95 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 97 % 同一、少なくとも 98 % 同一又は少なくとも 99 % の配列を含む。いくつかの実施形態において、L I L R B 1 膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションは、配列番号 74 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、L I L R B 1 膜貫通ドメインは、配列番号 74 と同一の配列を含む。実施形態において、L I L R B 1 膜貫通ドメインは、配列番号 74 と同一の配列から本質的になる。

【0314】

いくつかの実施形態において、膜貫通ドメインは、ヒンジ、例えば、ヒトタンパク質由来のヒンジを介して、第 2 の抑制性受容体、例えば、抗原結合ドメイン又はリガンド結合ドメインの細胞外領域に結合することができる。例えば、いくつかの実施形態において、ヒンジは、ヒト免疫グロブリン（I g）ヒンジ、例えば、I g G 4 ヒンジ、C D 8 a ヒンジ、又は L I L R B 1 ヒンジであり得る。

【0315】

いくつかの実施形態において、第 2 の抑制性受容体は、阻害ドメインを含む。いくつかの実施形態において、第 2 の抑制性受容体は、抑制性細胞内ドメイン及び／又は抑制性膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施形態において、阻害ドメインは、L I L R 1 B から単離されるか、又は派生される。

【0316】

L I L R B 1 ドメインの組み合わせを含む抑制性受容体

いくつかの実施形態において、本開示の L I L R B 1 ベースの抑制性受容体は、1 つを超える L I L R B 1 ドメイン又はその機能的等価物を含む。例えば、いくつかの実施形態において、抑制性受容体は、L I L R B 1 膜貫通ドメイン及び細胞内ドメイン、又は L I L R B 1 ヒンジドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。

【0317】

特定の実施形態において、抑制性受容体は、L I L R B 1 ヒンジドメイン、又はその機能的バリエーション、及び L I L R B 1 膜貫通ドメイン、又はその機能的バリエーションを含む。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 68 と少なくとも 95 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 97 % 同一、少なくとも 98 % 同一、少なくとも 99 % 同一であるか、又はそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 68 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 68 と同一の配列を含む。

【0318】

更なる実施形態において、抑制性受容体は、L I L R B 1 膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーション、並びに L I L R B 1 細胞内ドメイン及び／又は少なくとも 1 つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ (ITIM) を含む細胞内ドメインを含み、ITIM は、N L Y A A V (配列番号 56)、V T Y A E V (配列番号 57)、V T Y A Q L (配列番号 58)、及び S I Y A T L (配列番号 59) から選択される。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、L I L R B 1 膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーション、並びに L I L R B 1 細胞内ドメイン及び／又は少なくとも 2 つの ITIM を含む細胞内ドメインを含み、各 ITIM は、独立して、N L Y A A V (配列番号 56)、V T Y A E V (配列番号 57)、V T Y A Q L (配列番号 58)、及び S I Y A T L (配列番号 59) から選択される。

【0319】

いくつかの実施形態において、抑制性受容体は、L I L R B 1 膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 69 と少なくとも 95 % 同一、少なくとも 96 % 同一、少なくとも 97 % 同一、少なくとも 98 % 同一、少なくとも 99 % 同一であるか、又はそれと同一である配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 69 と少なくとも 95 % 同一の配列を含む。いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 69 と同一の配列を含む。

【0320】

好ましい実施形態において、抑制性受容体は、L I L R B 1 ヒンジドメイン、又はその機能的バリエーション、L I L R B 1 膜貫通ドメイン、又はその機能的バリエーション、並びに L I L R B 1 細胞内ドメイン及び／又は少なくとも 2 つの免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ (ITIM) を含む細胞内ドメインを含み、各 ITIM は、L Y A A V (配列番号 56)、V T Y A E (配列番号 57)、V T Y A Q L (配列番号 58)、及び S I Y A T L (配列番号 59) から独立して選択される。

【0321】

いくつかの実施形態において、抑制性受容体は、配列番号 71 若しくは配列番号 72 と少なくとも 95 % 同一、又は配列番号 71 若しくは配列番号 72 と少なくとも 99 % 同一、又は配列番号 71 若しくは配列番号 72 と同一の配列を含む。

【0322】

いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 68 と少なくとも 99 % 同一、又は配列番号 68 と少なくとも 99 % 同一、又は配列番号 68 と同一の配列を含む。

【0323】

いくつかの実施形態において、ポリペプチドは、配列番号 69 と少なくとも 99 % 同一、又は配列番号 69 と少なくとも 99 % 同一、又は配列番号 69 と同一の配列を含む。

10

20

30

40

50

【表 9 - 1】

表 9：例示的な L I L R B 1 ベースの抑制性受容体のためのポリペプチド配列

名称	配列
LILRB1	MTPILTVLICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPGSVITQ GSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWITRIPQELVKKG QFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGA YIKPTLSAQSPVNVNSGGNVILQCDSQVAFDGFSLCKEGED EHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPSRWWYRCYAYDS NSPYEWSLPSDLLELLVLGVSKKPSLSVQGPVIAPEETLT LQCGSDAGYNRFVLYKDGERDFLQLAGAQPQAGLSQANF TLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQF YDRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGMQTFLLTKEG AADDPWRLRSTYQSQKYQAEFPMGPVTSAHAGTYRCY<u>G</u> <u>SOSSKPYLLTHPSDPLEL</u>VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPE DQPLTPTGSDPQSGLGRLGVVIGILVAVILLILLILLILLFLI LRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWR SSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQA <u>VTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ</u> MDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSP AVP<u>SIYAT</u>LAIHPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 配列番号 54
LILRB1 ヒンジ-膜貫 通細胞内ドメイン	<u>YGSOSSKPYLLTHPSDPLEL</u>VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRLGVVIGILVAVILLILLILLILL FLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQ WRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDP QAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDR QMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPS PAVPSIYATLAIH 配列番号 71

10

20

30

40

50

【表 9 - 2】

LILRB1 ヒンジ-膜貫通細胞内ドメイン (YGSQSSKPYLLTHP SDPLEL なし (配列 番号 66))	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRH LGVVIGILVAVILLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTSTQRK ADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAV KHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMA SPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYA QLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 配列番号 72
LILRB1 ヒンジドメイ ン	<u>YGSQSSKPYLLTHP</u> <u>SDPLEL</u> VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLG 配列番号 73
LILRB1 膜貫通ドメイ ン	VVIGILVAVILLLLLLLLLLFLIL 配列番号 74
LILRB1 細胞内ドメイ ン	RHRRQGKHWSTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAA DAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVK HSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAP QDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 配列番号 70
ITIM1	NLYAAV 配列番号 56
ITIM2	VTYAEV 配列番号 57
ITIM3	VTYAQL 配列番号 58
ITIM4	SIYATL 配列番号 59
ITIM1-2	<u>NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEV</u> 配列番号 60
ITIM2-3	<u>VTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ</u> <u>MDTEAAASEAPQDVTYAQL</u> 配列番号 61
ITIM3-4	<u>VTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATL</u> 配列番号 62

10

20

30

40

50

【表 9 - 3】

ITIM1-3	<u>NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHS</u> RPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEA PQDVTYAQL 配列番号 63
ITIM2-4	<u>VTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQ</u> MDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSP AVPSIYATL 配列番号 64
ITIM1-4	<u>NLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHS</u> RPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEA PQDVTYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATL 配列番号 65
D3D4 ドメイン	<u>YGSOSSKPYLLTHPSDPLEL</u> 配列番号 66
ショートヒンジ	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLG 配列番号 67
ヒンジ(iTIM ヒンジ)	YGSQSSKPYLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQ PLTPTGSDPQSGLGRHLGV (配列番号 81)
ショートヒンジ 2	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV (配列番号 82)
ロングヒンジ 1	AGSGGSGGSGGSPVPSTPPTPSPSTPPTPSPSGGSGNSSGSGGSP VPSTPPTPSPSTPPTPSPSASV (配列番号 83)
ロングヒンジ 2	AGSGGSGGSGGSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSPVPSTPPTNSSSTPP TPSPSPVPSTPPTNSSSTPPTPSPSASV (配列番号 84)
2 倍ショートヒンジ	VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHVVS GPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV 配列番号 91
ヒンジ(切断型)	TTGPTSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV (配列番号 90)
ヒンジ膜貫通	<u>YGSOSSKPYLLTHPSDPLEL</u> VVSGPSGGPSSPTTGPTSTSG PEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLLLLLLLL FLIL 配列番号 68

10

20

30

40

50

【表 9 - 4】

膜貫通細胞内ドメイン。	VVIGILVAVILLLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTSTQRKA DFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVK HTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMAS PPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYA QLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH 配列番号 69

10

【0324】

本開示の例示的な抑制性受容体は、HLA-A、HLA-B又はHLA-C非標的抗原のいずれかに特異的なs c F vを含み、その配列は表5に記載され、LILRB1ヒンジ、膜貫通及び細胞内ドメインにN末端で融合される。いくつかの実施形態において、LILRB1ヒンジは、配列番号73の配列を含み、LILRB1膜貫通ドメインは、配列番号74の配列を含み、LILRB1細胞内ドメインは、配列番号70の配列を含む。例えば、第2の抑制性受容体は、配列番号71のN末端に融合した表5のs c F v配列を含む。

【0325】

更なる例として、非標的抗原は、HLA-A*02を含み、第2の抑制性受容体は、DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVS N R F S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D L G V Y Y C F Q G S H V P R T S G G G T K L E I K G G G G S G G G S G G G G S G G Q V Q L Q Q S G P E L V K P G A S V R I S C K A S G Y T F T S Y H I H W V K Q R P G Q G L E W I G W I Y P G N V N T E Y N E K F K G K A T L T A D K S S S T A Y M H L S S L T S E D S A V Y F C A R E E I T Y A M D Y W G Q G T S V T V S S Y G S Q S S K P Y L L T H P S D P L E L V V S G P S G G P S S P T T G P T S T S G P E D Q P L T P T G S D P Q S G L G R H L G V V I G I L V A V I L L L L L L L L L F L I L R H R R Q G K H W T S T Q R K A D F Q H P A G A V G P E P T D R G L Q W R S S P A A D A Q E E N L Y A A V K H T Q P E D G V E M D T R S P H D E D P Q A V T Y A E V K H S R P R R E M A S P P S P L S G E F L D T K D R Q A E E D R Q M D T E A A A S E A P Q D V T Y A Q L H S L T L R R E A T E P P P S Q E G P S P A V P S I Y A T L A I H (配列番号348)の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*02を含み、第2の抑制性受容体は、配列番号348の配列を含む。

20

30

【0326】

ポリヌクレオチド及びベクター

本開示は、本開示の第1及び第2の受容体の配列をコードするポリヌクレオチドを提供する。本開示は、本明細書に記載のポリヌクレオチド及びベクターを含む、免疫細胞を提供する。

40

【0327】

いくつかの実施形態において、第1及び／又は第2の受容体の配列は、プロモーターに作動可能に連結される。いくつかの実施形態において、第1の受容体をコードする配列は、第1のプロモーターに作動可能に連結され、第2の受容体をコードする配列は、第2のプロモーターに作動可能に連結される。

【0328】

本開示は、本明細書に記載のポリヌクレオチドを含むベクターを提供する。

【0329】

いくつかの実施形態において、第1の受容体は、第1のベクターによってコードされ、

50

第2の受容体は、第2のベクターによってコードされる。いくつかの実施形態において、両方の受容体は、単一のベクターによってコードされる。いくつかの実施形態において、第1及び／又は第2のベクターは、shRNA、例えば、B2M shRNAを含む。

【0330】

いくつかの実施形態において、両方の受容体は、単一のベクターによってコードされる。いくつかの実施形態において、ベクターは、shRNA、例えば、B2M shRNAを含む。

【0331】

いくつかの実施形態において、第1及び第2の受容体は、単一のベクターによってコードされる。単一のベクターを使用して複数のポリペプチドをコードする方法は、当業者に既知であり、とりわけ、異なるプロモーターの制御下で複数のポリペプチドをコードすること、又は、単一のプロモーターを使用して複数のポリペプチドの転写を制御する場合、内部リボソーム侵入部位(IRES)及び／若しくは自己切断ペプチドをコードする配列の使用を含むであろう。例示的な自己切断ペプチドには、T2A、P2A、E2A及びF2A自己切断ペプチドが含まれる。いくつかの実施形態において、T2A自己切断ペプチドは、EGRGSLLTCTGDVEENPGP(配列番号764)の配列を含む。いくつかの実施形態において、P2A自己切断ペプチドは、ATNFSLLKQAGDVEENPGP(配列番号765)の配列を含む。いくつかの実施形態において、E2A自己切断ペプチドは、QCTNYALLKL AGDVE SNPGP(配列番号766)の配列を含む。いくつかの実施形態において、F2A自己切断ペプチドは、VKQTLNFDLLKL AGDVE SNPGP(配列番号767)の配列を含む。いくつかの実施形態において、T2A自己切断ペプチドは、EGRGSLLTCTGDVEENPGP(配列番号764)の配列を含む。前述のうちのいずれも、N末端GSGリンカーも含むこともできる。例えば、T2A自己切断ペプチドは、GGATCCGGAGAGGGCAGAGGCAGCCTGCTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCTGGCCCC(配列番号768)の配列によってコードされ得る、GSGEGRGSLLTCTGDVEENPGP(配列番号351)の配列も含むことができる。

【0332】

いくつかの実施形態において、ベクターは、発現ベクター、すなわち、好適な細胞における第1及び／又は第2の受容体の発現のためのものである。

【0333】

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、導入遺伝子の長期的で安定的な組み込み、及び娘細胞におけるその増殖を可能にするため、長期的な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、肝細胞などの非増殖細胞を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よりも追加の利点を有する。これらはまた、低免疫原性という追加の利点も有する。

【0334】

受容体をコードする天然又は合成核酸の発現は、典型的には、受容体又はその一部をコードする核酸をプロモーターに作動可能に連結し、構築物を発現ベクターに組み込むことによって達成される。ベクターは、真核生物の複製及び組み込みに好適であり得る。典型的なクローニングベクターは、転写及び翻訳ターミネーター、開始配列、並びに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。

【0335】

受容体をコードするポリヌクレオチドは、いくつかの種類のベクターにクローニングすることができる。例えば、ポリヌクレオチドは、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。特に目的のベクターには、発現ベクター、複製ベクター、プロンプ生成ベクター、及び配列決定ベクターが含まれる。

【0336】

更に、発現ベクターは、ウイルスベクターの形態で、免疫細胞などの細胞に提供され得る。ウイルスベクター技術は、当該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)、並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には、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含まれるが、これらに限定されない。一般に、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つ以上の選択可能なマーカー（例えば、WO 01/96584；WO 01/29058；及び米国特許第6,326,193号）を含有する。

10

【0337】

哺乳動物細胞への遺伝子移入のために、多くのウイルスベースのシステムが開発されている。例えば、レトロウイルスは、遺伝子送達システムのための簡便なプラットフォームを提供する。選択された遺伝子は、当該技術分野で既知の技術を使用して、ベクター内に挿入され、レトロウイルス粒子内にパッケージングされ得る。次いで、組換えウイルスを単離し、対象の細胞にインビボ又はエクスピボのいずれかで送達することができる。多くのレトロウイルスシステムが、当該技術分野で既知である。いくつかの実施形態において、アデノウイルスベクターが使用される。多くのアデノウイルスベクターが、当該技術分野で既知である。一実施形態において、レンチウイルスベクターが使用される。

20

【0338】

追加の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。典型的には、これらは、開始部位の上流の領域30～110塩基対(bp)に位置するが、多くのプロモーターが、最近、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示されている。プロモーターエレメント間の間隔はしばしば柔軟性があり、その結果、エレメントが互いに対して反転又は移動するときに、プロモーター機能が保存される。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離して増加させることができる。プロモーターに応じて、個々のエレメントは、協調的又は独立してのいずれかで機能して、転写を活性化することができるように見える。

30

【0339】

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、それに作動可能に連結した任意の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可能な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、伸長増殖因子-1 α (EF-1 α)である。しかしながら、限定されないが、シミアンウイルス40(SV40)初期プロモーター、マウス乳房腫瘍ウイルス(MMTV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)長末端反復(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、Rous肉腫ウイルスプロモーター、U6プロモーター、並びに限定されないが、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のヒト遺伝子プロモーターを含む、他の構成的プロモーター配列も使用され得る。更に、本開示は、構成的プロモーターの使用に限定されるべきではない。誘導性プロモーターもまた、本開示の一部として企図される。誘導性プロモーターの使用は、そのような発現が所望される場合に、作動可能に連結されるポリヌクレオチド配列の発現をオンにすることができるか、又は発現が所望されない場合に発現をオフにすることができる分子スイッチを提供する。誘導性プロモーターの例としては、限定されないが、メタロチオニンプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター、及びテトラサイクリンプロモーターが挙げられる。

40

【0340】

50

受容体の発現を評価するために、細胞内に導入される発現ベクターはまた、ウイルスベクターを介してトランスフェクト又は感染させようとする細胞集団からの発現細胞の同定及び選択を容易にするために、選択可能なマーカー遺伝子若しくはレポーター遺伝子のいずれか又は両方を含有することができる。他の態様において、選択可能なマーカーは、別個のDNA片上に担持されてもよく、同時トランスフェクション手順で使用されてもよい。選択可能なマーカー及びレポーター遺伝子の両方に、適切な調節配列を隣接させて、宿主細胞での発現を可能にすることができる。有用な選択マーカーには、例えば、ネオ（neo）などの抗生物質耐性遺伝子が含まれる。

【0341】

レポーター遺伝子は、潜在的にトランスフェクト又は形質導入された細胞を同定し、調節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、レシピエント生物若しくは組織内に存在しないか、又はそれによって発現されない遺伝子であり、その発現が、いくつかの容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によって現れるポリペプチドをコードする遺伝子である。DNAがレシピエント細胞内に導入された後の好適な時間に、レポーター遺伝子の発現をアッセイする。好適なレポーター遺伝子には、ルシフェラーゼ、ベクターガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌アルカリホスファターゼ、又は緑色蛍光タンパク質遺伝子をコードする遺伝子が含まれ得る（例えば、Uiet al., 2000 F E B S L e t t e r s 479: 79-82）。好適な発現系は周知であり、既知の技術を使用して調製することができるか、又は商業的に入手することができる。一般に、レポーター遺伝子の最高レベルの発現を示す最小5'隣接領域を有する構築物は、プロモーターとして同定される。このようなプロモーター領域は、レポーター遺伝子に連結されてもよく、プロモーターにより駆動される転写を調節する能力について作用物質を評価するために使用されてもよい。

【0342】

遺伝子を細胞内に導入及び発現する方法は、当該技術分野で既知である。発現ベクターの文脈において、ベクターは、当該技術分野における任意の方法によって、宿主細胞、例えば、哺乳動物、細菌、酵母、又は昆虫細胞内に容易に導入され得る。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的、又は生物学的手段によって宿主細胞内に移入することができる。

【0343】

ポリヌクレオチドを宿主細胞内に導入するための物理的方法には、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、粒子衝突、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどが含まれる。ベクター及び／又は外因性核酸を含む細胞を産生するための方法は、当該技術分野において周知である。例えば、Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York) を参照されたい。ポリヌクレオチドを宿主細胞内に導入するための1つの方法は、リン酸カルシウムトランスフェクションである。

【0344】

目的のポリヌクレオチドを宿主細胞内に導入するための生物学的方法には、DNA及びRNAベクターの使用が含まれる。ウイルスベクター、及び特にレトロウイルスベクターは、哺乳動物、例えば、ヒト細胞内に遺伝子を挿入するために最も広範に使用される方法となっている。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ポックスウイルス、単純ヘルペスウイルスI、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスなどに由来し得る。例えば、米国特許第5,350,674号及び同第5,585,362号を参照のこと。

【0345】

ポリヌクレオチドを宿主細胞内に導入するための化学的手段には、巨大分子複合体、ナノカプセル、ミクロスフェア、ビーズなどのコロイド分散系、並びに水中油エマルション、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを含む、脂質ベースの系が含まれる。インビトロ及びインビボで送達ビヒクルとして使用するための例示的なコロイド系は、リポソーム（例えば、人工膜小胞）である。

【0346】

宿主細胞内に外因性核酸を導入するために使用される方法に関わらず、又はそうでなければ本開示の抑制因子に細胞を曝露するために使用される方法に関わらず、宿主細胞内の組換えDNA配列の存在を確認するために、様々なアッセイを実施することができる。このようなアッセイには、例えば、サザン及びノーザンブロッティング、RT-PCR及びPCRなどの当業者に周知の「分子生物学的」アッセイ、例えば、本開示の範囲内に含まれる作用物質を同定するために免疫学的手段（ELISA及びウエスタンブロット）によって、又は本明細書に記載のアッセイによって、特定のペプチドの存在又は不在を検出することなどの「生化学的」アッセイが含まれる。

【0347】

免疫細胞

本開示は、本明細書に記載の受容体、ベクター及びポリヌクレオチドを含む、免疫細胞を提供する。

【0348】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、(a) (i) 主要組織適合性複合体クラスI (MHC-I) との複合体におけるがん細胞特異的抗原、若しくはそのペプチド抗原、又は (ii) 主要組織適合性複合体クラスI (MHC-I) との複合体におけるMSLN、若しくはそのペプチド抗原から選択される標的抗原に特異的な第1の細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体と、(b) 主要組織適合性複合体クラスI (MHC-I)、又はHLA-A*02との複合体における、細胞間接着分子1 (ICAM1)、カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT)、C-X-Cモチーフケモカインリガンド16 (CXCL16)、ロイシンリッチリピートニューロナル4 (LRRN4)、及びウロプラキシン3B UPK3B、又はそれらの抗原ペプチドから選択される非標的抗原に特異的な第2の細胞外リガンド結合を含む、第2の受容体と、を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体は、CAR又はTCRである。いくつかの実施形態において、第2の受容体は、抑制性キメラ抗原受容体又はTCRなどの抑制性受容体である。

【0349】

本開示は、配列番号303の配列を含む第1の受容体と、配列番号348の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む第2の受容体と、を含む、免疫細胞を提供する。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、配列番号349若しくは配列番号350を含む配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも90%、若しくは少なくとも95%の同一性を有する配列によってコードされるshRNAを含む。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、配列番号303の配列を含む第1の受容体、配列番号348の配列を含む第2の受容体、及び配列番号349又は350の配列を含むshRNAをコードする配列を含む。いくつかの実施形態において、第1の受容体及び第2の受容体は、単一のポリヌクレオチドによってコードされ、第1及び第2の受容体をコードする配列は、自己切断ポリペプチドをコードする配列によって分離される。いくつかの実施形態において、自己切断ポリペプチドは、GSGEGRGSLLTCDVEENPGP (配列番号351) の配列を含むT2A自己切断ポリペプチドを含む。

【0350】

本明細書で使用される場合、「免疫細胞」という用語は、先天性又は適応性（後天性）免疫系に関与する細胞を指す。例示的な先天性免疫細胞には、好中球、単球及びマクロファージなどの食細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球好酸球及び好塩基球などの多形核白血球、並びに単球、マクロファージ及び肥満細胞などの単核細胞が含まれる。後天性免疫において役割を有する免疫細胞には、T細胞及びB細胞などのリンパ球が含まれる。

【0351】

本明細書で使用される場合、「T細胞」とは、胸腺において発生する骨髄前駆体由来するリンパ球の種類を指す。ヘルパーCD4+ T細胞、細胞傷害性CD8+ T細胞、記

10

20

30

40

50

憶T細胞、調節CD4⁺T細胞、及び幹記憶T細胞を含む、胸腺への移行時に発生する、いくつかの異なる種類のT細胞が存在する。異なる種類のT細胞は、それらのマーカーの発現に基づいて、当業者によって区別することができる。T細胞の種類を区別する方法は、当業者には容易に明らかになるであろう。

【0352】

いくつかの実施形態において、第1の受容体及び第2の受容体はともに、標的細胞の存在下で免疫細胞を特異的に活性化する。

【0353】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD4⁺、CD8⁺、ガンマデルタT細胞、インバリアントT細胞、iNK細胞、NK細胞、マクロファージ、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、ガンマデルタ(γδ)T細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、インバリアントT細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、インバリアントナチュラルキラーT細胞(iNKT細胞)である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、T細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、B細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、ナチュラルキラー(NK)細胞である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD8⁻である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD8⁺である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD4⁺である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD4⁻である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD8⁻/CD4⁺である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、CD8⁺CD4⁻T細胞である。

【0354】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、非天然である。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、単離される。

【0355】

本開示のベクターを用いて、T細胞などの免疫細胞の集団を形質転換する方法は、当業者には容易に明らかになるであろう。例えば、CD3⁺T細胞は、製造業者の指示に従って、CD3⁺T細胞陰性単離キット(Miltenyi)を使用してPBMCから単離することができる。T細胞は、CD3/28Dynabeads(1:1の細胞対ビーズ比)及び300ユニット/mLのIL-2(Miltenyi)の存在下で、5%のヒトA/B血清及び1%のPen/strepを補充したX-Vivo 15培地中で1×10⁶細胞/mLの密度で培養することができる。2日後、T細胞を、当該技術分野で既知の方法を使用して、レンチウイルスベクターなどのウイルスベクターで形質導入することができる。いくつかの実施形態において、ウイルスベクターは、5の感染多重度(MOI)で形質導入される。次いで、細胞は、濃縮の前に更に5日間、IL-2又はIL-7/15/21の組み合わせなどの他のサイトカイン中で培養することができる。B細胞などの免疫細胞の他の集団、又はT細胞の他の集団を単離及び培養する方法は、当業者には容易に明らかであろう。この方法は、潜在的なアプローチを概説しているが、これらの方法論は、急速に進化していることに留意すべきである。例えば、末梢血単核細胞の優れたウイルス形質導入は、5日間の増殖後に達成して、99%超のCD3⁺が高度に形質導入された細胞集団を生成することができる。

【0356】

TCR、CAR、抑制性受容体、受容体又はそれらをコードするベクターを含むT細胞の集団を活性化及び培養する方法は、当業者には容易に明らかであろう。

【0357】

TCRを発現するためのT細胞の遺伝子修飾の前又は後に関わらず、T細胞は、例えば、米国特許第6,352,694号、同第6,534,055号、同第6,905,680号、同第6,692,964号、同第5,858,358号、同第6,887,466号、同第6,905,681号、同第7,144,575号、同第7,067,318号、同第7,172,869号、同第7,232,566号、同第7,175,843号、同第5,883,223号、同第6,905,874号、同第6,797,514号、同

第6, 867, 041号、同第10040846号、及び米国特許出願公開第2006/0121005号に一般的に記載されている方法を使用して活性化及び増殖することができる。

【0358】

いくつかの実施形態において、本開示のT細胞は、インビトロで増殖及び活性化される。一般に、本開示のT細胞は、CD3/TCR複合体関連シグナルを刺激する作用物質及びT細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドを、それに付着させた表面との接触によってインビトロで増殖される。特に、T細胞集団は、例えば、抗CD3抗体との接触によって本明細書に記載されるように刺激され得る。T細胞の表面上のアクセサリー分子の共刺激には、アクセサリー分子に結合するリガンドが使用される。例えば、T細胞の集団は、T細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、抗CD3抗体及び抗CD28抗体と接触させることができる。CD4+T細胞又はCD8+T細胞のいずれかの増殖を刺激するために、抗CD3抗体及び抗CD28抗体を使用することができる。抗CD28抗体の例としては、9.3、B-T3、XR-CD28 (Diaclone、Besancon、France) が挙げられ、当該技術分野で一般的に知られている他の方法として使用することができる (Berg et al., Transplant Proc. 30 (8) : 3975-3977, 1998、Haanen et al., J. Exp. Med. 190 (9) : 1319-1328, 1999、Garland et al., J. Immunol Meth. 227 (1-2) : 53-63, 1999)。

【0359】

いくつかの実施形態において、T細胞についての一次刺激シグナル及び共刺激シグナルは、異なるプロトコルによって提供され得る。例えば、各シグナルを提供する作用物質は、溶液中にあってよい、又は表面に結合していてもよい。表面に結合されたとき、作用物質は、同じ表面に結合されてもよく (すなわち、「シス」形成において)、又は別々の表面に結合されてもよい (すなわち、「トランス」形成において)。代替的に、一方の作用物質は表面に結合してもよく、他方の作用物質は溶液中にあってよい。いくつかの実施形態において、共刺激シグナルを提供する作用物質は細胞表面に結合し、一次活性化シグナルを提供する作用物質は溶液中にあるか、又は表面に結合している。ある特定の実施形態において、両方の作用物質は、溶液中にあってよい。別の実施形態において、作用物質は、可溶性形態であってもよく、次いで、Fc受容体を発現する細胞、又は作用物質に結合する抗体若しくは他の結合剤などの表面に架橋されてもよい。これに関して、例えば、本開示におけるT細胞の活性化及び増殖に使用するために企図される人工抗原提示細胞 (aAPC) については、米国特許出願公開第2004/0101519号及び同第2006/0034810号を参照されたい。

【0360】

いくつかの実施形態において、2つの作用物質は、同じビーズ上に固定化されるか、すなわち「シス」、又は別個のビーズに固定化される、すなわち「トランス」のいずれかで、ビーズ上に固定化される。例として、一次活性化シグナルを提供する作用物質は、抗CD3抗体又はその抗原結合断片であり、共刺激シグナルを提供する作用物質は、抗CD28抗体又はその抗原結合断片であり、両方の作用物質は、同等の分子量で同じビーズに共固定化される。一実施形態において、CD4+T細胞拡大及びT細胞増殖のためのビーズに結合した各抗体の1:1の比が使用される。いくつかの実施形態において、ビーズに結合したCD3:CD28抗体の比は、100:1~1:100及びその間にある全ての整数値の範囲である。本開示の一態様において、抗CD3抗体よりも多くの抗CD28抗体が粒子に結合し、すなわち、CD3:CD28の比が1未満である。本開示のある特定の実施形態において、ビーズに結合した抗CD28抗体対抗CD3抗体の比は、2:1を超える。

【0361】

T細胞又は他の標的細胞を刺激するために、1:500~500:1及びそれらの間の任意の整数値の粒子対細胞の比が使用され得る。当業者であれば容易に理解することがで

きるように、粒子対細胞の比は、標的細胞に対する粒径に依存し得る。例えば、小さなサイズのビーズは、少しの細胞にのみ結合することができ、一方、より大きなビーズは、多くの細胞に結合することができる。ある特定の実施形態において、細胞対粒子の比は、1：100～100：1及びそれらの間の任意の整数値の範囲であり、更なる実施形態において、その比は、1：9～9：1及びそれらの間の任意の整数値を含み、また、T細胞を刺激するために使用することもできる。いくつかの実施形態において、1：1の細胞対ビーズの比が使用される。当業者は、様々な他の比が、本開示での使用に好適であり得ることを理解するであろう。特に、比は、粒径、並びに細胞のサイズ及び種類に応じて変動することになる。

【0362】

本開示の更なる実施形態において、T細胞などの細胞を、作用物質をコーティングしたビーズと合わせ、続いてビーズ及び細胞を分離し、次いで細胞を培養する。代替的な実施形態において、培養前に、作用物質をコーティングしたビーズ及び細胞を分離しないが、ともに培養する。更なる実施形態において、ビーズ及び細胞を、最初に、磁力などの力を加えることによって濃縮し、その結果、細胞表面マーカーのライゲーションが増加し、それによって細胞刺激が誘導される。

【0363】

例として、細胞表面タンパク質は、抗CD3及び抗CD28が結合してT細胞に接触する、常磁性ビーズを可能にすることによってライゲーションされ得る。一実施形態において、細胞（例えば、CD4＋T細胞）及びビーズ（例えば、1：1の比のDYNABEADS CD3／CD28 常磁性ビーズ）を緩衝液中に合わせる。ここでも、当業者は、任意の細胞濃度が使用され得ることを容易に理解することができる。ある特定の実施形態において、粒子及び細胞がともに混合される体積を著しく減少させる（すなわち、細胞の濃度を増加させる）ことが望ましく、細胞及び粒子の最大限の接触を確保することができる。例えば、一実施形態において、約20億個の細胞／mLの濃度が使用される。別の実施形態において、1億個を超える細胞／mLが使用される。更なる実施形態において、1000万、1500万、2000万、2500万、3000万、3500万、4000万、4500万、又は5000万個の細胞／mLの細胞の濃度が使用される。更に別の実施形態において、7500万、8000万、8500万、9000万、9500万、又は1億個の細胞／mLからの細胞の濃度が使用される。更なる実施形態において、1億2500万個又は1億5000万個の細胞／mLの濃度が使用され得る。いくつかの実施形態において、 1×10^6 個の細胞／mLの密度で培養される細胞が使用される。

【0364】

いくつかの実施形態において、混合物は、数時間（約3時間）～約14日間、又はその間の任意の時間単位の整数値で培養されてもよい。別の実施形態において、ビーズ及びT細胞は、2～3日間ともに培養される。T細胞培養に適切な条件は、血清（例えば、ウシ胎仔又はヒト血清）、インターロイキン-2（IL-2）、インスリン、IFN- γ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGF β 、及びTNF- α 、又は当業者に既知の細胞の増殖のための任意の他の添加剤を含む、増殖及び生存に必要な因子を含有し得る適切な培地（例えば、最小必須培地又はRPMI培地1640又はX-vivo 15（Lonza））を含む。細胞の増殖のための他の添加剤には、界面活性剤、プラスマネート、並びに還元剤、例えば、N-アセチル-L-システイン及び2-メルカプトエタノールが含まれるが、これらに限定されない。培地には、RPMI 1640、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo 15、及びX-Vivo 20、Optimizerが含まれてもよく、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、及びビタミンが添加されており、血清を含まないか、あるいは適切な量の血清（若しくは血漿）若しくは規定のセットのホルモン、並びに／又はT細胞の増殖及び拡大に十分な量のサイトカインが補充されている。いくつかの実施形態において、培地は、5%のヒトA／B血清、1%のペニシリン／ストレプトマイシン（pen／strept）及び300ユニット／mLのIL-2（Milttenyi）を補充したX-VIVO

10

20

30

40

50

ー 15 培地を含む。

【0365】

T細胞は、増殖を支持するために必要な条件下、例えば、適切な温度（例えば、37℃）及び雰囲気（例えば、空気+5%のCO₂）で維持される。

【0366】

いくつかの実施形態において、本開示のTCR、CAR、及び抑制性受容体を含むT細胞は、自己由来である。拡大及び遺伝子修飾の前に、T細胞の供給源が対象から得られる。T細胞などの免疫細胞は、末梢血単核細胞、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含む、多数の供給源から得ることができる。本開示のある特定の実施形態において、当該技術分野で利用可能な任意の数のT細胞株が使用され得る。本開示のある特定の実施形態において、T細胞は、Ficoll（商標）分離などの当業者に既知の任意の数の技術を使用して、対象から収集された血液の単位から得ることができる。

【0367】

いくつかの実施形態において、個体の循環血液からの細胞は、アフエーシスによって得られる。アフエーシス生成物は、典型的には、T細胞、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球、赤血球、及び血小板を含む、リンパ球を含有する。いくつかの実施形態において、アフエーシスによって収集された細胞を洗浄して、血漿画分を除去し、その後の処理ステップのために細胞を適切な緩衝液又は培地中に入れてもよい。いくつかの実施形態において、細胞は、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で洗浄される。代替的な実施形態において、洗浄液はカルシウムを欠き、マグネシウムを欠いてもよい、又は全てではないが多くの二価カチオンを欠いてもよい。当業者であれば容易に理解するであろうが、洗浄ステップは、製造業者の指示に従って、半自動化「フロースルー」遠心分離機（例えば、Cobe 2991細胞プロセッサ、Baxter CytoMate、又はHaemonetics Cell Saver 5）を使用することによってなど、当業者に既知の方法によって達成され得る。洗浄後、細胞は、様々な生体適合性緩衝液、例えば、Ca²⁺非含有PBS、Mg²⁺非含有PBS、PlasmaLyte Aなど、又は緩衝液を伴うか、若しくは伴わない他の生理食塩水中で再懸濁され得る。代替的に、アフエーシス試料の望ましくない成分を除去し、細胞を培養培地中に直接再懸濁させてもよい。

【0368】

いくつかの実施形態において、T細胞などの免疫細胞は、赤血球を溶解し、単球を枯渇させることによって、例えば、PERCOLL（商標）勾配を介した遠心分離によって、又は向流遠心分離によって、末梢血リンパ球から単離される。T細胞、B細胞、又はCD4⁺T細胞などの免疫細胞の特定の亜集団は、陽性又は陰性選択技術によって更に単離され得る。例えば、一実施形態において、T細胞は、所望のT細胞の陽性選択に十分な期間、抗CD4コンジュゲートビーズとのインキュベーションによって単離される。

【0369】

陰性選択によるT細胞集団などの免疫細胞集団の濃縮は、陰性選択された細胞に固有の表面マーカーを対象とする抗体の組み合わせによって達成され得る。1つの方法は、陰性磁気免疫接着又はフローサイトメトリーによる細胞の選別及び／又は選択であり、これは、陰性に選択された細胞上に存在する細胞表面マーカーを対象とするモノクローナル抗体のカクテルを使用する。例えば、陰性選択によってCD4⁺細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、及びCD8に対する抗体を含む。

【0370】

陽性又は陰性選択による免疫細胞の所望の集団の単離のために、細胞及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）の濃度を変化させることができる。ある特定の実施形態において、ビーズ及び細胞がともに混合される体積を著しく減少させる（すなわち、細胞の濃度を増加させる）ことが望ましく、細胞及びビーズの最大限の接触を確保することができる。

【0371】

いくつかの実施形態において、細胞は、2～10℃又は室温のいずれかで様々な速度で、様々な長さの時間、回転子上でインキュベートされてもよい。

【0372】

刺激用T細胞、又はT細胞などの免疫細胞が単離されるPBMCも、洗浄ステップ後に凍結することができる。理論に拘束されることを望まないが、凍結及びその後の解凍ステップは、細胞集団における顆粒球、及びある程度は単球を除去することによって、より均一な生成物を提供する。血漿及び血小板を除去する洗浄ステップの後、細胞を凍結溶液中に懸濁させることができる。多くの凍結溶液及びパラメータが当該技術分野で既知であり、この文脈において有用であるが、1つの方法は、20%のDMSO及び8%のヒト血清アルブミンを含有するPBS、あるいは10%のデキストラン40及び5%のデキストロース、20%のヒト血清アルブミン及び7.5%のDMSO、若しくは31.25%のPlasmalyte-A、31.25%のデキストロース5%、0.45%のNaCl、10%のデキストラン40及び5%のデキストロース、20%のヒト血清アルブミン、及び7.5%のDMSOを含有する培養培地、又は例えば、Hespan及びPlasmalyte-Aを含有する他の好適な細胞凍結培地を使用することを含み、次いで、細胞は、毎分1°の速度で-80℃まで凍結され、液体窒素貯蔵タンクの気相に保存される。制御凍結の他の方法、及び-20℃又は液体窒素中での制御されていない即座の凍結を使用してもよい。

10

【0373】

本開示は、本明細書に記載の活性化因子及び／又は遮断因子受容体を発現する免疫細胞を提供し、免疫細胞は、主要組織適合性(MHC)クラスI複合体の発現及び／又は機能を低下させる。

20

【0374】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、自己由来である。例えば、免疫細胞は、治療レジメンの一部として細胞を受容する同じ対象から単離されるか、又は派生される。遮断因子受容体によるMHCクラスIの発現及び／又は機能を低下させるように自己免疫細胞を修飾することは、MHCクラスI抗原に特異的であることが有利であり得る。理論に拘束されることを望まないが、MHCクラスIの発現及び／又は機能が低下するように自己免疫細胞を修飾することは、シス又はトランスのいずれかにおいて、免疫細胞によって発現されるMHCクラスIによる遮断因子受容体の結合を低下させる。

30

【0375】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、全て同種異系である。同種免疫細胞は、免疫細胞が投与される対象以外のドナーに由来し得る。同種異系細胞は、様々な遺伝子型の対象に使用するために調製及び貯蔵される可能性があるため、同種免疫細胞は、細胞療法において「既製の」又は「普遍的な」と一般的に称されている。

【0376】

MHCクラスI複合体の発現及び／又は機能を低下させる任意の好適な方法は、本開示の範囲内であると想定され、とりわけ、MHCクラスI構成要素をコードする1つ以上のRNAをノックダウンする干渉RNAの発現、又はMHCクラスI構成要素をコードする遺伝子の修飾を含む。

40

【0377】

主要組織適合性複合体(MHC)は、適応免疫系に必要なポリペプチドのセットをコードする脊椎動物ゲノム上の遺伝子座である。これらの中には、HLA-A、HLA-B、及びHLA-C、並びにそれらの対立遺伝子を含む、MHCクラスIポリペプチドがある。MHCクラスI対立遺伝子は、高度に多型であり、全ての有核細胞において発現される。HLA-A、HLA-B、及びHLA-CによってコードされるMHCクラスIポリペプチド及びそれらの対立遺伝子は、β2ミクログロブリン(B2M)とヘテロ二量体を形成し、細胞の表面上の抗原と複合体で存在する。本明細書で言及されるように、MHCクラスI遺伝子又はポリペプチドは、MHC又は該ポリペプチドをコードする対応する遺伝子に見出される任意のポリペプチドを指してもよい。いくつかの実施形態において、本開

50

示の免疫細胞は、MHCクラスIポリペプチド、例えば、HLA-A、HLA-B、及びHLA-C、並びにそれらの対立遺伝子を含む、抑制因子リガンドによって不活性化される。HLA-A対立遺伝子は、例えば、限定されないが、HLA-A*02、HLA-A*02:01、HLA-A*02:01:01、HLA-A*02:01:01:01、及び／又はHLA-A*02タンパク質と同一若しくは類似のタンパク質をコードする任意の遺伝子であり得る。したがって、本明細書に記載の自己分泌シグナル伝達／結合を防止するために、免疫細胞内のHLA-A、HLA-B、及びHLA-Cによってコードされるポリペプチド、並びにそれらの対立遺伝子の発現を除去又は低下させることが望ましい。

【0378】

MHCクラスIポリペプチド発現が低下した免疫細胞

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の免疫細胞は、内因性MHCクラスIポリペプチドの対立遺伝子をコードする内因性遺伝子の発現又は機能を不活性化するか、又は低下若しくは除去するように修飾される。いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子は、HLA-A、HLA-B、及び／又はHLA-Cである。HLA-A、HLA-B及びHLA-Cは、HLA-A、HLA-B及びHLA-C遺伝子座によってコードされる。HLA-A、HLA-B、及びHLA-Cの各々は、多くのバリエーション対立遺伝子を含み、これらの全ては、本開示の範囲内であると想定される。いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子は、HLA-Aである。いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子は、HLA-A*02である。いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子は、HLA-A*02:01である。いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子は、HLA-A*02:01:01:01である。

【0379】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の遺伝子操作された免疫細胞は、B2M遺伝子産物の発現を低下又は除去するように修飾される。ベータ-2ミクログロブリン（B2M）遺伝子は、主要組織適合性複合体（MHC）クラスI、すなわち、MHC-I複合体と会合するタンパク質をコードする。MHC-I複合体は、細胞表面上の抗原の提示に必要とされる。MHC-I複合体は、B2Mが欠失されると破壊され、機能しない（Wang D et al. Stem Cells Transl Med. 4:1234-1245 (2015)）。更に、B2M遺伝子は、当該技術分野で既知の遺伝子編集技術を使用して、高効率で破壊することができる（Ren et al. Clin. Cancer Res. 23:2255-2266 (2017)）。B2Mを低下又は除去することは、免疫細胞の表面上の機能的MHC-Iを低下又は除去することができる。

【0380】

本開示は、免疫細胞における内因性標的遺伝子を編集するための遺伝子編集システムを提供する。本開示は、標的遺伝子の配列に特異的な干渉RNAを提供する。CRISPR／Casシステム、TALEN及び亜鉛フィンガーなどの遺伝子編集システムを使用して、二本鎖切断を生成することができ、これは、相同性指向修復又は非相同末端結合（NHEJ）などの遺伝子修復機構を通じて、変異を導入するために使用され得る。破壊した末端の切除後のNHEJ、又は不適切な末端結合は、欠失を導入するために使用され得る。いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、MHC-I複合体のサブユニットをコードする遺伝子を含む。

【0381】

標的遺伝子配列には、プロモーター、エンハンサー、イントロン、エクソン、イントロン／エクソンジャンクション、転写産物（pre-mRNA、mRNA、及びスプライスバリエーション）、並びに／又は3'及び5'非翻訳領域（UTR）が含まれるが、これらに限定されない。任意の遺伝子エレメント又は遺伝子エレメントの組み合わせは、本明細書に

10

20

30

40

50

記載される免疫細胞における遺伝子編集の目的のために標的化され得る。標的遺伝子に対する修飾は、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して、標的遺伝子又は遺伝子産物の発現又は機能の変化又は破壊をもたらす標的遺伝子を編集することによって達成することができる。

【0382】

いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子を修飾することは、遺伝子の全て又は一部分を欠失させることを含む。いくつかの実施形態において、MHCクラスIポリペプチドをコードする遺伝子を修飾することは、遺伝子に変異を導入することを含む。いくつかの実施形態において、変異は、欠失、挿入、置換、又はフレームシフト変異を含む。いくつかの実施形態において、遺伝子を修飾することは、核酸誘導型エンドヌクレアーゼを使用することを含む。

【0383】

本明細書に記載される標的遺伝子についての遺伝子配列は、当該技術分野で既知である。配列は、NCBI GenBank又はNCBIヌクレオチドデータベースなどの公開データベースに見出すことができる。配列は、遺伝子識別子を使用して見出すことができ、例えば、HLA-A遺伝子が、NCBI遺伝子ID：3105を有し、HLA-B遺伝子が、NCBI遺伝子ID：3106を有し、HLA-C遺伝子が、NCBI遺伝子ID：3107を有し、B2M遺伝子が、NCBI遺伝子ID：567及びNCBI参照配列：NC_000015.10を有する。遺伝子配列は、キーワードを使用して公開データベースを検索することによっても見出すことができる。例えば、HLA-A対立遺伝子は、キーワード「HLA-A*02」、「HLA-A*02：01」、「HLA-A*02：01：01」、又は「HLA-A*02：01：01：01」を検索することによって、NCBIヌクレオチドデータベース中に見出すことができる。これらの配列は、当該技術分野で既知の様々な遺伝子編集技術における標的化に使用することができる。表10は、本明細書に記載の修飾のために標的化されたHLA-A対立遺伝子及びB2M遺伝子配列の非限定的な例示的配列を提供する。

【表10】

表10. 例示的な標的遺伝子配列

B2M mRNA	配列番号 769
B2M 遺伝子 (GenBank:567)	配列番号 770
HLA-A*02:01:01:01 mRNA をコードする配列	配列番号 771
HLA-A*02 (GenBank:LK021978.1)	配列番号 772

【0384】

当業者は、TがUに置換されて、RNA配列をDNA配列に変換することができ、逆もまた同様であることを理解し、両方とも本開示の標的遺伝子配列として想定される。

【0385】

いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、核酸誘導型エンドヌクレアーゼを使用して、本明細書に記載の免疫細胞内で編集される。例示的な核酸誘導型エンドヌクレアーゼには、CRISPR/Cas9などのクラスIIエンドヌクレアーゼが含まれる。

【0386】

本明細書で使用される場合、「CRISPR」又は「CRISPR遺伝子編集」とは、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピートのセット、又はそのようなリピートのセットを含むシステムを指す。「Cas」は、本明細書で使用される場合、CRISPR関連タンパク質を指す。「CRISPR/Cas」系とは、標的遺伝子をサイレンシングするか、ノックアウトするか、又は変異させるために使用することができる、CRISPR及びCasに由来する系を指す。この系は、プラスミド及びファージなどの外来遺伝子エレメントに耐性を付与し、後天性免疫の一形態を提供する原核生物免疫系の一種で

ある。CRISPR/Cas系は、遺伝子編集に使用するために修飾されている。これは、真核生物細胞内に、1つ以上の特異的に設計されたガイド核酸（gNA）、典型的にはガイドRNA（gRNA）、及びgNAとリボヌクレオタンパク質複合体を形成する適切なCasエンドヌクレアーゼを導入することによって達成される。gNAは、gNA-エンドヌクレアーゼタンパク質複合体を標的ゲノム位置に誘導し、エンドヌクレアーゼは標的ゲノム位置に鎖切断を導入する。この鎖切断は、非相同末端結合（欠失につながる）又は相同修復（挿入を生成することができる）などの細胞機構によって修復することができ、それによって宿主細胞ゲノム内に遺伝子修飾を導入することができる。

【0387】

CRISPR/Cas系は、クラス別及び種類別に分類される。クラス2系は、現在、3つの異なる種類（II型、V型、及びVI型）に分類される単一の干渉タンパク質を表す。遺伝子編集に好適な任意のクラス2のCRISPR/Cas系、例えば、II型、V型又はVI型系は、本開示の範囲内として想定される。例示的なクラス2のII型CRISPR系には、Cas9、Csn2、及びCas4が含まれる。例示的なクラス2のV型CRISPR系には、Cas12、Cas12a（Cpf1）、Cas12b（C2c1）、Cas12c（C2c3）、Cas12d（CasY）、Cas12e（CasX）、Cas12f、Cas12g、Cas12h、Cas12i及びCas12k（C2c5）が含まれる。例示的なクラス2のVI型系には、Cas13、Cas13a（C2c2）Cas13b、Cas13c及びCas13dが含まれる。

【0388】

CRISPR遺伝子座と呼ばれることもある、CRISPR配列は、交互にリピート及びスペーサーを含む。天然に存在するCRISPRにおいて、スペーサーは、通常、プラスミド又はファージ配列などの細菌に対して外来の配列を含む。本明細書に記載されるように、スペーサー配列はまた、「標的化配列」と称されてもよい。遺伝子操作のためのCRISPR/Cas系において、スペーサーは、標的遺伝子配列（gNA）に由来する。

【0389】

例示的なクラス2のII型CRISPR系は、タンパク質Cas9に依存し、これは、二重らせんの各鎖に対して1つである、2つの活性切断部位を有するヌクレアーゼである。Cas9及び修飾CRISPR遺伝子座RNAを組み合わせることは、遺伝子編集のための系において使用され得る。Pennisi（2013）Science 341:833-836。いくつかの実施形態において、免疫細胞を修飾するために使用されるCasタンパク質は、Cas9である。

【0390】

したがって、CRISPR/Cas系は、塩基対を付加若しくは欠失することによって、又は早期停止を導入し、それによって標的の発現を低下させることによって、本明細書に記載の免疫細胞における編集のために標的化された遺伝子などの標的遺伝子を編集するために使用され得る。CRISPR/Cas系は、代替的に、可逆的に標的遺伝子をオフにするRNA干渉のように使用され得る。哺乳動物細胞において、例えば、RNAは、Casタンパク質を標的遺伝子プロモーターに誘導し、RNAポリメラーゼを立体的に遮断することができる。

【0391】

Casタンパク質は、任意の細菌又は古細菌Casタンパク質に由来し得る。任意の好適なCRISPR/Cas系は、本開示の範囲内として想定される。他の態様において、Casタンパク質は、Cas1、Cas1B、Cas2、Cas3、Cas4、Cas5、Cas6、Cas7、Cas8、Cas9、Cas10、Cas12a（Cpf1）、Cas13、Csy1、Csy2、Csy3、Cse1、Cse2、Csc1、Csc2、Csa5、Csn2、Csm2、Csm3、Csm4、Csm5、Csm6、Cmr1、Cmr3、Cmr4、Cmr5、Cmr6、Csb1、Csb2、Csb3、Csx17、Csx14、Csx10、Csx16、CsaX、Csx3、Csx1、Csx15、CsF1、CsF2、CsF3、CsF4、CasX、CasY、それらのホモログ、

又はそれらの修飾型のうちの1つ以上を含む。いくつかの実施形態において、Casタンパク質は、Cas9タンパク質、Cpf1タンパク質、C2c1タンパク質、C2c2タンパク質、C2c3タンパク質、Cas3、Cas3-HD、Cas5、Cas7、Cas8、Cas10、又はこれらの組み合わせ若しくは複合体である。いくつかの実施形態において、Casタンパク質は、Cas9タンパク質である。

【0392】

当該技術分野において既知である技術、例えば、米国公開第2014/0068797号及びCong (2013) Science 339: 819-823に記載されているものを使用して、標的遺伝子を阻害する、人工CRISPR/Cas系を生成することができる。例えば、Tsai (2014) Nature Biotechnol., 32: 6569-576、米国特許第8,871,445号、同第8,865,406号、同第8,795,965号、同第8,771,945号、及び同第8,697,359号に記載されているものの、標的遺伝子を阻害する、当該技術分野において既知の他の人工CRISPR/Cas系もまた、生成され得る。特定のCasタンパク質に好適なgNAを設計する方法は、当業者に知られているであろう。

【0393】

本開示は、関連するポリペプチド（例えば、核酸誘導型エンドヌクレアーゼ）の活性を、標的核酸ゲノム内の特定の標的遺伝子配列に導くことができる遺伝子標的化ガイド核酸（gNA）を提供する。ゲノム標的化核酸は、RNAであり得る。ゲノム標的化RNAは、本明細書において「ガイドRNA」又は「gRNA」と称される。ガイドRNAは、目的の標的核酸配列にハイブリダイズする標的化配列、及びCRISPRリピート配列を少なくとも含むことができる。いくつかのII型系において、gRNAはまた、tracrRNA配列と呼ばれる第2のRNAを含み、本明細書において「足場」配列とも称される。II型ガイドRNA（gRNA）において、CRISPRリピート配列及び足場配列は、互いにハイブリダイズして二本鎖を形成する。V型ガイドRNA（gRNA）において、crRNAは、二本鎖を形成する。両方の系において、二本鎖は、ガイドRNA及び部位特異的ポリペプチドが複合体を形成するように、部位特異的ポリペプチドに結合することができる。遺伝子標的化核酸は、部位特異的ポリペプチドとの関連性により、複合体に標的的特異性を提供することができる。したがって、遺伝子標的化核酸は、部位特異的ポリペプチドの活性を導くことができる。

【0394】

いくつかの実施形態において、本開示は、標的化配列及びガイドRNA足場配列を含むガイドRNAを提供し、標的化配列は、標的遺伝子の配列に相補的である。

【0395】

例示的なガイドRNAには、約15～20塩基の標的化配列が含まれる。当業者に理解されるように、各gRNAは、そのゲノム標的配列に相補的な標的化配列を含むように設計することができる。例えば、標的化配列の各々、例えば、表11及び表14に示されるDNA配列のRNA型から、そのPAM部位を表す3つの3'ヌクレオチドを引いたものを、単一のRNAキメラ又はcrRNAに入れることができる。

【0396】

核酸を標的とする遺伝子は、二分子ガイドRNAであってもよい。核酸を標的とする遺伝子は、単一分子ガイドRNAであってもよい。遺伝子標的化核酸は、例えば、対合gRNAを含む、当該技術分野で既知のガイドRNAの任意の既知の構成、又は単一のステップで使用される複数のgRNAであり得る。コード配列及びスプライスジャンクションが存在するゲノム配列から明らかであるが、遺伝子発現に必要な他の特徴は特異的であり、不明確であり得る。

【0397】

二分子ガイドRNAは、RNAの2本鎖を含むことができる。第1の鎖は、5'から3'方向の配列、任意選択のスペーサー伸長配列、標的化配列、及び最小CRISPRリピート配列を含む。第2の鎖は、最小tracrRNA配列（最小CRISPRリピート配列

に相補的)、3' t r a c r R N A配列、及び任意選択の t r a c r R N A伸長配列を含むことができる。

【0398】

II型系における単一分子ガイドRNA (s g R N A)は、5'から3'方向に、任意選択のスペーサー伸長配列、標的化配列、最小C R I S P Rリピート配列、単一分子ガイドリンカー、最小t r a c r R N A配列、3' t r a c r R N A配列、及び任意選択の t r a c r R N A伸長配列を含むことができる。任意選択の t r a c r R N A伸長は、ガイドRNAへの追加の機能性(例えば、安定性)に寄与するエレメントを含むことができる。単一分子ガイドリンカーは、最小C R I S P Rリピート及び最小t r a c r R N A配列を連結して、ヘアピン構造を形成することができる。任意選択の t r a c r R N A伸長は、1

10

【0399】

いくつかの実施形態において、ガイドRNA又は単一分子ガイドRNA (s g R N A)は、標的化配列及び足場配列を含むことができる。いくつかの実施形態において、足場配列は、C a s 9 g R N A配列である。いくつかの実施形態において、足場配列は、G T T T T A G A G C T A G A A A T A G C A A G T T A A A A T A A G G C T A G T C C G T T A T C A A C T T G A A A A A G T G G C A C C G A G T C G G T G C T T T T T T T (配列番号773)と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の同一性を共有する配列を含むDNA配列によってコードされる。いくつかの実施形態において、足場配列は、G T T T T A G A G C T A G A A A T A G C A A G T T A A A A T A A G G C T A G T C C G T T A T C A A C T T G A A A A A G T G G C A C C G A G T C G G T G C T T T T T T T T (配列番号773)を含むDNA配列によってコードされる。

20

【0400】

いくつかの実施形態において、例えば、C R I S P R / C a s系が、C a s 9系であるそれらの実施形態において、s g R N Aは、s g R N A配列の5'末端に20ヌクレオチドの標的化配列を含むことができる。s g R N Aは、s g R N A配列の5'末端に20ヌクレオチド未満の標的化配列を含むことができる。s g R N Aは、s g R N A配列の5'末端に20を超えるヌクレオチド標的化配列を含むことができる。s g R N Aは、s g R N A配列の5'末端に17~30ヌクレオチドを有する可変長標的化配列を含むことができる。

30

【0401】

好適な足場配列、及び足場標的配列の配置は、エンドヌクレアーゼの選択に依存し、当業者に知られているであろう。

【0402】

II型系における単一分子ガイドRNA (s g R N A)、例えば、C a s 9は、5'から3'方向に、最小C R I S P Rリピート配列及び標的化配列を含むことができる。

【0403】

例示として、C R I S P R / C a s 9又はC R I S P R / C p f 1系において使用されるガイドRNA、又は他のより小さなRNAは、以下に例示され、当該技術分野で説明されているように、化学的手段によって容易に合成され得る。化学的合成手順が継続的に拡大している一方で、ポリヌクレオチド長が、100ヌクレオチド程度を超えて著しく増加するにつれて、高速液体クロマトグラフィー(PAGEなどのゲルの使用を回避するHPLC)などの手順によるこのようなRNAの精製は、より困難になる傾向がある。より長いRNAを生成するために使用される1つのアプローチは、ともにライゲーションされる2つ以上の分子を産生することである。C a s 9又はC p f 1エンドヌクレアーゼをコードするものなどの、はるかに長いRNAは、より容易に酵素的に生成される。様々な種類のRNA修飾は、RNAの化学的合成及び／又は酵素的生成の間又は後に導入することができ、例えば、当該技術分野で説明されているように、安定性を向上させ、先天性免疫応答の可能性若しくは程度を低減し、かつ／又は他の属性を向上させる修飾を導入することができる。

40

50

【0404】

gRNAの標的化配列は、目的の標的核酸中の配列にハイブリダイズする。ゲノム標的化核酸の標的化配列は、ハイブリダイゼーション（すなわち、塩基対合）を介して、配列特異的な様式で標的核酸と相互作用することができる。標的化配列のヌクレオチド配列は、目的の標的核酸の配列に応じて変化し得る。

【0405】

本明細書に記載のCas9系において、標的化配列は、系で使用されるCas9酵素のPAMの逆相補体の5'に位置する標的核酸にハイブリダイズするように設計することができる。標的化配列は、標的配列と完全に一致し得るか、又はミスマッチを有し得る。各CRISPR/Cas系タンパク質は、標的DNAにおいて認識される、特定の方向及び位置における特定のPAM配列を有してもよい。例えば、S. pyogenes Cas9は、標的核酸において、配列5'-NRG-3'を含むPAMを認識し、Rは、A又はGのいずれかを含み、Nは、任意のヌクレオチドであり、Nは、標的化配列によって標的とされる標的核酸配列のすぐ3'である。適切なPAM配列の選択は、当業者には明白であろう。

【0406】

標的配列は、gRNAの標的化配列に相補的であり、それとハイブリダイズする。標的核酸配列は、20ヌクレオチドを含むことができる。標的核酸は、20ヌクレオチド未満を含むことができる。標的核酸は、20ヌクレオチド超を含むことができる。標的核酸は、少なくとも、5、10、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30個以上のヌクレオチドを含むことができる。いくつかの実施形態において、例えば、CRISPR/Cas系が、Cas9系であるそれらの実施形態において、標的核酸配列は、PAM配列の逆相補体の第1のヌクレオチドのすぐ5'の20ヌクレオチドを含むことができる。この標的核酸配列は、多くの場合、PAM鎖又は標的鎖と称され、相補的核酸配列は、多くの場合、非PAM鎖又は非標的鎖と称される。当業者は、標的化配列が、標的核酸の非PAM鎖にハイブリダイズすることを認識するであろう。例えば、US2019/0185849A1を参照されたい。

【0407】

いくつかの例において、標的化配列と標的核酸との間の相補性パーセントは、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は100%である。いくつかの例において、標的化配列と標的核酸との間の相補性パーセントは、最大で約30%、最大で約40%、最大で約50%、最大で約60%、最大で約65%、最大で約70%、最大で約75%、最大で約80%、最大で約85%、最大で約90%、最大で約95%、最大で約97%、最大で約98%、最大で約99%、又は100%である。いくつかの例において、標的化配列と標的核酸との間の相補性パーセントは、標的核酸の相補鎖の標的配列の6つの連続した最も5'側のヌクレオチドにわたって100%である。標的化配列と標的核酸との間の相補性パーセントは、約20個の連続したヌクレオチドにわたって少なくとも60%であり得る。標的化配列及び標的核酸の長さは、1つのバルジ又は複数のバルジと考えられ得る、1~6ヌクレオチドによって異なり得る。

【0408】

標的化配列は、当業者に既知のコンピュータプログラムを使用して設計又は選択することができる。コンピュータプログラムは、予測される融解温度、二次構造形成、予測されるアニーリング温度、配列同一性、ゲノムコンテキスト、クロマチンアクセシビリティ、%GC、ゲノム発生頻度（例えば、同一であるか、又は類似しているが、ミスマッチ、挿入、又は欠失の結果として1つ以上のスポットで変化する配列の）、メチル化状態、SNPの存在などの変数を使用することができる。利用可能なコンピュータプログラムは、入力として、NCBI遺伝子ID、公式の遺伝子記号、Ensembl Gene ID、ゲ

ノム座標、又はDNA配列を取得し、入力として指定された適切なゲノム領域を標的とするsgRNAを含む出力ファイルを作成することができる。コンピュータプログラムはまた、標的遺伝子についてのsgRNAのオンターゲット及びオフターゲット結合を示す統計及びスコアの要約を提供することができる(Doench et al. Nat Biotechnol. 34:184-191(2016))。本開示は、標的化配列を含むガイドRNAを提供する。いくつかの実施形態において、ガイドRNAは、ガイドRNA足場配列を更に含む。いくつかの実施形態において、標的化配列は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、B2M、又はそれらの対立遺伝子からなる群から選択される標的遺伝子の配列に相補的である。いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、HLA-A遺伝子である。いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、HLA-B遺伝子である。いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、HLA-C遺伝子である。いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、HLA-A、HLA-B、HLA-C、又はそれらの組み合わせである。いくつかの実施形態において、標的化配列は、表11及び14に開示される配列と約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%の同一性を共有するか、又はそれと同一である配列を含む。

【0409】

いくつかの実施形態において、gNAは、内因性HLA-A遺伝子座の配列を特異的に標的とする。いくつかの実施形態において、HLA-A遺伝子座の配列を特異的に標的とするgNAは、表11に開示される配列から選択される配列と約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、又は約99%の同一性を共有する配列を含む。いくつかの実施形態において、HLA-A遺伝子座の配列を特異的に標的とするgNAは、表11に開示される配列から選択される配列を含む。

【0410】

いくつかの実施形態において、gNAは、HLA-A*02対立遺伝子の配列を特異的に標的とする。例えば、gRNAは、全てのHLA-A*02対立遺伝子によって共有される配列を特異的に標的とし、それとハイブリダイズするが、HLA-A*02及びHLA-A*03対立遺伝子によって共有されない。いくつかの実施形態において、gNAは、HLA-A*02:01対立遺伝子の配列を特異的に標的とする。いくつかの実施形態において、gNAは、HLA-A*02:01:01対立遺伝子の配列を特異的に標的とする。いくつかの実施形態において、gNAは、HLA-A*02:01:01:01対立遺伝子の配列を特異的に標的とする。いくつかの実施形態において、gNAは、HLA-A*02:01:01:01対立遺伝子の配列を特異的に標的とする。

【0411】

いくつかの実施形態において、gNAは、HLA-A*02のコードDNA配列を特異的に標的とする。

【0412】

いくつかの実施形態において、gNAは、1000を超えるHLA-A*02対立遺伝子によって共有されるコードDNA配列を特異的に標的とする。いくつかの実施形態において、1000を超えるHLA-A*02対立遺伝子におけるコードDNA配列を特異的に標的とするgNAは、表11に記載の配列から選択される配列と約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%の同一性を共有するか、又はそれと同一である配列を含む。

【0413】

表11~14の配列をDNA配列として提示する。当業者は、対応するRNA配列に到達するために、表11~14に記載のものを含む任意のDNA配列において、チミン(T)がウラシル(U)に置き換えられ得ることを理解するであろう。

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 1】

表 1 1. HLA-A 及び HLA-A 対立遺伝子を標的とする例示的な配列

配列 番号	ガイド核酸標的化配列	配列 番号	ガイド核酸標的化配列
774	TGGACGACACGCAGTTCGTG	817	TCAGACCACCAAGCACAAAGTGGG
775	CAGATACCTGGAGAACGGGA	818	CACCAAGCACAAAGTGGGAGGCGG
776	TCCCGTTCTCCAGGTATCTG	819	GACCACCAAGCACAAAGTGGGAGG
777	CCGCCGCGGTCCAAGAGCGC	820	GAGCCCCGCTTCATCGCAGTGGG
778	CCTGCGCTCTTGGACCGCGG	821	GTAGCCCACTGCGATGAAGCGGG
779	GGACCTGCGCTCTTGGACCGC	822	TAGCCCACTGCGATGAAGCGGG
780	AAGGAGACGCTGCAGCGCACGGG	823	CGTAGCCCACTGCGATGAAGCGG
781	GAAGGAGACGCTGCAGCGCACGG	824	CTTCATCGCAGTGGGCTACGTGG
782	GCGGGCGCCGTGGATAGAGCAGG	825	GGAGCCCCGCTTCATCGCAGTGG
783	TGCTCTATCCACGGCGCCCGCGG	826	CGGGGAGACACGGAAAGTGAAGG
784	CGATGAAGCGGGGCTCCCCGCGG	827	AGTATTGGGACGGGGAGACACGG
785	CGTGTCGCGGCCGCGCGCGGG	828	AGGGTCCGGAGTATTGGGACGGG
786	CGGCTCCATCCTCTGGCTCGCGG	829	GAGGGTCCGGAGTATTGGGACGG
787	GATGTAATCCTTGCCGTCGTAGG	830	GGACCCTCCTGCTCTATCCACGG
788	ACAGCGACGCCGCGAGCCAGAGG	831	GTGGATAGAGCAGGAGGGTCCGG
789	GGATGGAGCCGCGGGCGCGGTGG	832	AGACTACCGAGTGGACCTGGGG
790	GGCGCCGTGGATAGAGCAGGAGG	833	CACTCGGTGAGTCTGTGAGTGGG
791	GCGCCGTGGATAGAGCAGGAGGG	834	CAGACTACCGAGTGGACCTGGG
792	CGGCTACTACAACCAGAGCGAGG	835	CCACTCACAGACTACCGAGTGG
793	CTGGTTGTAGTAGCCGCGCAGGG	836	CCACTCGGTGAGTCTGTGAGTGG
794	TACTACAACCAGAGCGAGGCCGG	837	TCGGACTGGCGCTTCCTCCGCGG
795	CTACCTGGAGGGCACGTGCGTGG	838	GCAGCCATACATCCTCTGGACGG
796	CACGCACGTGCCCTCCAGGTAGG	839	TCTCAACTGCTCCGCCACATGGG
797	GCAGGGTCCCCAGGTCCACTCGG	840	ACCTCATGCTGCACATGGCAGG
798	GTGGACCTGGGGACCCTGCGCGG	841	ACCTGCCATGTGCAGCATGAGGG
799	TGGAGGGCACGTGCGTGGAGTGG	842	CACCTGCCATGTGCAGCATGAGG
800	GTATGGCTGCGACGTGGGGTCCG	843	GGAGGACCAGACCCAGGACACGG
801	CTGAGCTGCCATGTCCGCCGCGG	844	GGATGGGGAGGACCAGACCCAGG
802	GGATTACATCGCCCTGAAAGAGG	845	GACCTGGCAGCGGGATGGGGAGG
803	CAAGTGGGAGGCGGCCCATGTGG	846	AGATCACACTGACCTGGCAGCGG
804	GTGGGAGGCGGCCCATGTGGCGG	847	GATCACACTGACCTGGCAGCGGG
805	CAGTTGAGAGCCTACCTGGAGGG	848	AGGTCAGTGTGATCTCCGCAGGG
806	GCAGTTGAGAGCCTACCTGGAGG	849	AAGCCCCCTACCCCTGAGATGGGG
807	TACCACCACTACGCTACGACGG	850	CTGCGGAGATCACACTGACCTGG
808	TGCCGTCTGAGGCGTACTGGTGG	851	CAGCAATGATGCCCACGATGGGG
809	CCAGTACGCTACGACGGCAAGG	852	CCAGCAATGATGCCCACGATGGG
810	GGATGTGAAGAAATACCTCATGG	853	GCCAGCAATGATGCCCACGATGG
811	ATTTCTTCACATCCGTGTCCCGG	854	GGATGGAACCTTCCAGAAGTGGG
812	AGGCGTACTGGTGGTACCCGCGG	855	GGGATGGAACCTTCCAGAAGTGG
813	CGTACTGGTGGTACCCGCGGAGG	856	ATGCCACGATGGGGATGGTGGG
814	GAGGATGTATGGCTGCGACGTGG	857	CAGCCCACCATCCCCATCGTGGG
815	GGATGTATGGCTGCGACGTGGGG	858	CCAGCCCACCATCCCCATCGTGG
816	CTCAGACCACCAAGCACAAAGTGG	859	GATGCCACGATGGGGATGGTGG

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 2】

配列 番号	ガイド核酸標的化配列	配列 番号	ガイド核酸標的化配列
860	CAGGGCCCAGCACCTCAGGGTGG	877	CCCCGAGAGTAGCAGGACGAGGG
861	AATGATGCCACGATGGGGATGG	878	CCCTCGTCCTGCTACTCTCGGGG
862	GGCCCTGACCCAGACCTGGGCGG	879	CCTCGTCCTGCTACTCTCGGGG
863	GACCCAGGACACGGAGCTCGTGG	880	CTGTGGTCGCTGCTGTGATGTGG
864	ACACGGAGCTCGTGGAGACCAGG	881	TCGCTGCTGTGATGTGGAGGAGG
865	CGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGG	882	TGGTCGCTGCTGTGATGTGGAGG
866	TCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGG	883	CACAGCCGCCCACTTCTGGAAGG
867	AGCTGTGATCACTGGAGCTGTGG	884	CCAGAAGTGGGCGGCTGTGGTGG
868	AAAAGGAGGGAGCTACTCTCAGG	885	TGGAACCTTCCAGAAGTGGGCGG
869	ATGTGGAGGAGGAAGAGCTCAGG	886	TCACAGCTCCAAAGAGAACCAGG
870	GTGTCTCTCACAGCTTGTAAAGG	887	CTGACCATGAAGCCACCCTGAGG
871	GAGAGACACATCAGAGCCCTGGG	888	GCAAACCCTCATGCTGCACATGG
872	CTCCGCAGGGTAGAAGCTCAGGG	889	TGAAGCCACCCTGAGGTGCTGGG
873	GGCCCTGAGCTTCTACCCTGCGG	890	GGTGAGTCATATGCGTTTTGGGG
874	GCTCAGGGCCCAGCACCTCAGGG	891	GTGAGTCATATGCGTTTTGGGGG
875	TATCTCTGCTCCTGTCCAGAAGG	892	CTTCATGGTCAGAGACAGCGTGG
876	AGTAGCAGGACGAGGGTTCGGGG	893	TCTGGCCCTGACCCAGACCTGGG

10

20

【0 4 1 4】

表 1 1 に開示される配列は、PAM 配列を含む、対応するゲノム配列を含む。当業者は、gRNA の標的化配列が、gRNA についての対応する PAM 部位を表す、表 1 1 の配列の 3 つの 3' 末端ヌクレオチドを含まないことを理解するであろう。

【0 4 1 5】

本開示は、B2M 遺伝子に特異的な標的化配列を含む gNA を提供する。いくつかの実施形態において、gNA は、B2M 遺伝子のコード配列 (CDS) 配列を特異的に標的とする。いくつかの実施形態において、gNA は、B2M 遺伝子プロモーター配列を標的とする配列を含む。

30

【0 4 1 6】

いくつかの実施形態において、gNA は、標的化配列及び gNA 足場配列を含む。いくつかの実施形態において、標的化配列は、表 1 2 に示される配列、又はそれと約 90%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99% の同一性を共有する配列を含む。

【0 4 1 7】

いくつかの実施形態において、標的化配列は、B2M 遺伝子の配列に相補的である。いくつかの実施形態において、B2M 遺伝子は、表 1 0 に示される B2M 配列と約 90%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99% の同一性を共有する配列を含む。

40

【表 1 2 - 1】

表 1 2. B 2 Mを標的とする例示的な配列

配列番号	配列
894	CGCGAGCACAGCTAAGGCCA
895	GAGTAGCGCGAGCACAGCTA
896	AGGGTAGGAGAGACTCACGC
897	CTGAATCTTTGGAGTACCTG
898	TCACGTCATCCAGCAGAGAA
899	TCCTGAATTGCTATGTGTCT
900	AAGTCAACTTCAATGTGCGA
901	GTCTTTTCCCGATATTCCTC
902	TGGAGTACCTGAGGAATATC
903	CAGCCC AAGATAGTTAAGTG
904	ACAAAGTCACATGGTTCACA
905	ACTCTCTCTTTCTGGCCTGG
906	TGGGCTGTGACAAAGTCACA
907	GGCCGAGATGTCTCGCTCCG
908	CAGTAAGTCAACTTCAATGT
909	ACTCACGCTGGATAGCCTCC
910	CATACTCATCTTTTTCAGTG
911	CACAGCCC AAGATAGTTAAG
912	TTCAGACTTGTCTTTCAGCA
913	AGTCACATGGTTCACACGGC
914	ATACTCATCTTTTTCAGTGG
915	GGCATACTCATCTTTTTCAG
916	ACAGCCC AAGATAGTTAAGT
917	GCTACTCTCTCTTTCTGGCC
918	TGGAGAGAGAATTGAAAAAG
919	ACTTGTCTTTTCAGCAAGGAC
920	GAAAGTTGACTTACTGAAGAA
921	GGCCACGGAGCGAGACATCT
922	GCATACTCATCTTTTTCAGT
923	CGTGAGTAAACCTGAATCTT
924	TTACCCCACTTAACTATCTT
925	TTGGAGTACCTGAGGAATAT
926	ACCCAGACACATAGCAATTC
927	TTTGACTTTCCATTCTCTGC
928	TTCTGAATTGCTATGTGTC
929	CTCAGGTAATCCAAAGATTC
930	CTTACCCCACTTAACTATCT
931	CTCGCGCTACTCTCTTTTC
932	TCGATCTATGAAAAAGACAG
933	GAGACATGTAAGCAGCATCA
934	ACATGTAAGCAGCATCATGG
935	GAAAGTCCTAGAATGAGCGCC
936	GAGCGCCCGGTGTCCCAAGC
937	AGCGCCCGGTGTCCCAAGCT
938	GCGCCCGGTGTCCCAAGCTG
939	CTGGGGCGCGCACCCAGAT

配列番号	配列
940	GGGCGCGCACCCAGATCGG
941	GGGCGCGCACCCAGATCGGA
942	CATCACGAGACTCTAAGAAA
943	TAAGAAAAGGAAACTGAAAA
944	AAGAAAAGGAAACTGAAAAAC
945	GAAAGTCCCTCTCTTAACC
946	CTAACCTGGCACTGCGTCCG
947	CTGGCACTGCGTCCGCTGGCT
948	TGCGTCCGCTGGCTTGGAGAC
949	GCTGGCTTGGAGACAGGTGA
950	GAGACAGGTGACGGTCCCTG
951	AGACAGGTGACGGTCCCTGC
952	CCTGCGGGCTTGTCTTGAT
953	CGGGCTTGTCTTGATTGGC
954	GGGCTTGTCTTGATTGGCT
955	GGGCACGCTTTAATATAAG
956	CACGCGTTAATATAAGTGG
957	TATAAGTGGAGGCGTCGCGC
958	AAGTGGAGGCGTCGCGCTGG
959	AGTGGAGGCGTCGCGCTGGC
960	TTCTGAAGCTGACAGCATT
961	TCCTGAAGCTGACAGCATTC
962	GCCCGAATGCTGTCACTTC
963	AAACGCGTGCCAGCCAATC
964	GTGCCAGCCAATCAGGACA
965	CCAATCAGGACAAGGCCCGC
966	CAATCAGGACAAGGCCCGCA
967	CAAGCCAGCGACGCAGTGCC
968	CGCAGTGCCAGGTTAGAGAG
969	GCAGTGCCAGGTTAGAGAGA
970	GAGTCTCGTGATGTTTAAGA
971	TAAGAAGGCATGCACTAGAC
972	AAGAAGGCATGCACTAGACT
973	TGAGTTTGCTGTCTGTACAT
974	TACATCGGCGCCCTCCGATC
975	ACATCGGCGCCCTCCGATCT
976	CATCGGCGCCCTCCGATCTG
977	CTGGGGTGCGCGCCCAAGCT
978	TGGGGTGCGCGCCCAAGCTT
979	CGCGCCCAAGCTTGGGACAC
980	GCGCCCAAGCTTGGGACACC
981	CAAGTCACTTAGCATCTCTG
982	ACAGAAGTTCCTTCTCTGCT
983	ATTCAAAGATCTTAATCTTC
984	TTCAAAGATCTTAATCTTCT
985	TTTTCTCGAATGAAAAATGC

10

20

30

40

50

【表 1 2 - 2】

配列番号	配列
986	TGCAGGTCCGAGCAGTTAAC
987	GGTCCGAGCAGTTAACTGGC
988	GTCCGAGCAGTTAACTGGCT
989	TCCGAGCAGTTAACTGGCTG
990	AGCAAGTCACTTAGCATCTC
991	GCAAGTCACTTAGCATCTCT
992	TGGGGCCAGTCTGCAAAGCG
993	GGGGCCAGTCTGCAAAGCGA
994	GGGCCAGTCTGCAAAGCGAG
995	GGCCAGTCTGCAAAGCGAGG
996	GGACACCGGGCGCTCATTCT
997	GGCGCTCATTCTAGGACTTC
998	CTCATTCTAGGACTTCAGGC
999	ATTCTAGGACTTCAGGCTGG
1000	TTCAGGCTGGAGGCACATTA
1001	TGCCCCCTCGCTTTGCAGAC
1002	GATGCTAAGTGACTTGCTAA
1003	GCCCCAGCCAGTTAACTGCT
1004	GCATTTTTTCATTTCGAGAAA
1005	TTTGAATGCTACCTAGCAGA
1006	TTCTGTTTATAACTACAGCT
1007	TCTGTTTATAACTACAGCTT

10

20

【0 4 1 8】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の免疫細胞は、T A L E N 遺伝子編集を使用して編集される。

【0 4 1 9】

「T A L E N」又は「T A L E N 遺伝子編集」とは、標的遺伝子を編集するために使用される人工ヌクレアーゼである、転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼを指す。

30

【0 4 2 0】

T A L E N は、T A L エフェクターDNA結合ドメインをDNA切断ドメインに融合することによって人工的に産生される。X a n t h o m o n a s 菌に由来する転写活性化因子様エフェクター（T A L E）を操作して、T C R サブユニット、M H C クラス I 複合体成分、又はC D 5 2 などの標的遺伝子的一部分を含む、任意の所望のDNA配列に結合させることができる。操作されたT A L E をDNA切断ドメインと合わせることで、標的遺伝子配列を含む、任意の所望のDNA配列に特異的な制限酵素を産生することができる。次いで、これらを細胞内に導入することができ、それらをゲノム編集に使用することができる。

40

【0 4 2 1】

T A L E N を産生するために、T A L E タンパク質は、野生型又は変異F o l d エンドヌクレアーゼである、ヌクレアーゼ（N）に融合される。F o k I に対するいくつかの変異は、そのT A L E N での使用のために作製されており、これらは、例えば、切断特異性又は活性を改善する。

【0 4 2 2】

F o k I ドメインは二量体として機能し、適切な配向及び間隔を有する標的ゲノム内の部位に対して独自のDNA結合ドメインを有する2つの構築物を必要とする。T A L E DNA結合ドメインと、F o k I 切断ドメインとの間のアミノ酸残基の数、及び2つの個々のT A L E N 結合部位の間の塩基の数の両方は、高レベルの活性を達成するための重要

50

なパラメータであるように見える。

【0423】

標的遺伝子内の配列に特異的なT A L E Nは、モジュール成分を使用する様々なスキームを含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して構築することができる。

【0424】

いくつかの実施形態において、標的遺伝子は、Z F N遺伝子編集を使用して、本明細書に記載の免疫細胞において編集される。

【0425】

「Z F N」又は「亜鉛フィンガーヌクレアーゼ」又は「Z F N遺伝子編集」とは、標的遺伝子を編集するために使用され得る人工ヌクレアーゼである、亜鉛フィンガーヌクレアーゼを指す。

【0426】

T A L E Nと同様に、Z F Nは、DNA結合ドメインに融合したF o l dヌクレアーゼドメイン（又はその誘導体）を含む。Z F Nの場合、DNA結合ドメインは、1つ以上の亜鉛フィンガーを含む。

【0427】

亜鉛フィンガーは、1つ以上の亜鉛イオンによって安定化された小さなタンパク質構造モチーフである。亜鉛フィンガーは、例えば、C y s 2 H i s 2を含むことができ、およそ3 b p配列を認識することができる。既知の特異性の様々な亜鉛フィンガーを組み合わせ、約6、9、12、15、又は18 b p配列を認識するマルチフィンガーポリペプチドを生成することができる。ファージディスプレイ、酵母ワンハイブリッドシステム、細菌ワンハイブリッド及びツーハイブリッドシステム、並びに哺乳動物細胞を含む、特定の配列を認識する亜鉛フィンガー（及びそれらの組み合わせ）を生成するために、様々な選択及びモジュラーアセンブリ技術が利用可能である。

【0428】

T A L E Nと同様に、Z F Nは、DNAを切断するために二量体化しなければならない。したがって、一对のZ F Nは、非回文DNA部位を標的とするために必要である。2つの個々のZ F Nは、それらのヌクレアーゼが適切に離間した状態で、DNAの反対側の鎖に結合しなければならない。

【0429】

また、T A L E Nと同様に、Z F Nは、DNA内に二本鎖切断を作り出すことができ、これは、不適切に修復された場合にフレームシフト変異を作り出すことができ、細胞における標的遺伝子又は遺伝子産物の発現及び量の減少をもたらす。Z F Nは、標的遺伝子内で変異するために相同組換えとともに使用することもできる。

【0430】

標的遺伝子内の配列に特異的なZ F Nは、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して構築することができる。

【0431】

いくつかの実施形態において、1つ以上のM C H - I成分の発現及び機能は、RNA干渉を使用して低減される。「RNA i」又は「RNA干渉」とは、二本鎖RNA（d s RNA）によって媒介される、配列特異的転写後遺伝子サイレンシングのプロセスを指す。s i RNA（低分子干渉RNA）、m i RNA（マイクロRNA）、s h RNA（ショートヘアピンRNA）、d d RNA（DNA指向性RNA）、p i RNA（P i w i相互作用RNA）、又はr a s i RNA（リピート関連s i RNA）などの二本鎖RNA、及びそれらの修飾形態は全て、RNA干渉を媒介することができる。これらのd s RNA分子は、商業的に利用可能であり得るか、又は既知の配列情報に基づいて設計及び調製され得る。これらの分子のアンチセンス鎖は、RNA、DNA、PNA、又はそれらの組み合わせを含むことができる。DNA/RNAキメラポリヌクレオチドには、標的遺伝子の発現を阻害するDNA及びRNAからなる二本鎖ポリヌクレオチドが含まれるが、これらに限定されない。d s RNA分子は、本明細書に記載されるように、1つ以上の修飾ヌクレオ

10

20

30

40

50

チドも含むことができ、これらは、いずれか又は両方の鎖に組み込むことができる。

【0432】

RNAi 遺伝子サイレンシング又はノックダウンにおいて、標的遺伝子の一部分に相補的である第1の（アンチセンス）鎖、及び第1のアンチセンス鎖に完全に又は部分的に相補的である第2の（センス）鎖を含む dsRNA を生物に導入する。生物に導入した後、標的遺伝子特異的 dsRNA は、比較的小さな断片（siRNA）に処理され、その後、生物全体に分布し、標的遺伝子のメッセンジャーRNAを減少させ、標的遺伝子の完全又は部分的な欠失から生じる表現型に非常に似ているようになり得る表現型をもたらすことができる。

【0433】

細胞内のある特定の dsRNA は、リボヌクレアーゼIII酵素である、Dicer 酵素の作用を受けることができる。Dicer は、dsRNA を、dsRNA のより短い部分、すなわち、siRNA に処理することができる。RNAi はまた、RNA 誘導サイレンシング複合体（RISC）として知られているエンドヌクレアーゼ複合体も含む。Dicer による切断後、siRNA は、siRNA 二本鎖のアンチセンス鎖に相補的な配列を有する一本鎖RNA標的のRISC複合体及び直接切断に入る。siRNA の他方の鎖は、パッセンジャー鎖である。標的RNAの切断は、siRNA 二本鎖のアンチセンス鎖に相補的な領域の中央で行われる。したがって、siRNA は、配列特異的な様式でRNA干渉を媒介することによって、遺伝子発現を下方制御又はノックダウンすることができる。

【0434】

RNA干渉に関して本明細書で使用される場合、「標的遺伝子」又は「標的配列」とは、対応するRNAが、本明細書に記載されるように、dsRNA 又は siRNA を使用してRNAi経路を介して分解するために標的化される遺伝子又は遺伝子配列を指す。例示的な標的遺伝子配列を表10に示す。例えば、siRNA を使用して遺伝子を標的化するために、siRNA は、標的遺伝子又は配列の少なくとも一部分に相補的、又は実質的に相補的なアンチセンス領域、及びアンチセンス鎖に相補的なセンス鎖を含む。一旦細胞内に導入されると、siRNA は、RISC 複合体に、標的配列を含むRNAを切断するように指示し、それによってRNAを分解する。本開示は、干渉RNAを提供する。本開示の二本鎖RNA分子は、当該技術分野で既知の任意の種類のRNA干渉分子の形態であってもよい。いくつかの実施形態において、二本鎖RNA分子は、低分子干渉RNA（siRNA）である。他の実施形態において、二本鎖RNA分子は、ショートヘアピンRNA（shRNA）分子である。他の実施形態において、二本鎖RNA分子は、細胞内で処理されて siRNA を産生する Dicer 基質である。他の実施形態において、二本鎖RNA分子は、マイクロRNA前駆体分子の一部である。

【0435】

いくつかの実施形態において、shRNA は、Dicer 基質として好適な長さであり、RISC 活性 siRNA 分子を産生するように処理され得る。例えば、Rossi et al., US 2005/0244858 を参照されたい。

【0436】

Dicer 基質二本鎖RNA（例えば、shRNA）は、活性 siRNA を産生するために Dicer によって処理されるのに十分な長さのものであり得、以下の特性のうちの1つ以上を更に含み得る：（i）Dicer 基質 shRNA は、例えば、アンチセンス鎖上に3'オーバーハングを有する非対称であってもよく、（ii）Dicer 基質 shRNA は、活性 siRNA への Dicer 結合及び dsRNA のプロセシングの配向、例えば、1つ以上のDNAヌクレオチドの組み込みを指示するために、センス鎖上に修飾された3'末端を有してもよく、（iii）Dicer 基質 dsRNA の第1及び第2の鎖は、21～30bpの長さであってもよい。

【0437】

いくつかの実施形態において、干渉RNAは、B2M mRNA の配列に相補的な配列

10

20

30

40

50

を含む。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、B2M mRNAのRNAi媒介性分解を誘導することができる。いくつかの実施形態において、B2M mRNA配列は、コード配列を含む。いくつかの実施形態において、B2M mRNA配列は、非翻訳領域を含む。

【0438】

いくつかの実施形態において、干渉RNAは、HLA-A*02 mRNAの配列に相補的な配列を含む。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、HLA-A*02 mRNAのRNAi媒介性分解を誘導することができる。いくつかの実施形態において、HLA-A*02 mRNA配列は、コード配列を含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*02 mRNA配列は、非翻訳領域を含む。

10

【0439】

いくつかの実施形態において、干渉RNAは、ショートヘアピンRNA (shRNA) である。いくつかの実施形態において、shRNAは、B2M mRNAに相補的な配列を5'から3'末端に有する第1の配列と、第1の配列に相補的な配列を5'から3'末端に有する第2の配列と、を含み、第1の配列及び第2の配列は、shRNAを形成する。

【0440】

いくつかの実施形態において、第1の配列は、18、19、20、21、又は22ヌクレオチドである。いくつかの実施形態において、第1の配列は、表13及び14に示される配列から選択される配列に相補的である。いくつかの実施形態において、第1の配列は、25%以上及び60%未満のGC含量を有する。いくつかの実施形態において、第1の配列は、表13及び14に示される配列から選択される配列に相補的である。いくつかの実施形態において、第1の配列は、同じ塩基の4つのヌクレオチド、又は7つのC若しくはGヌクレオチド塩基のランを含まない。いくつかの実施形態において、第1の配列は、21ヌクレオチドである。

20

【0441】

第1の配列に相補的な例示的な標的B2M配列を表13に示す。

【0442】

ある場合には、第1の配列は、標的核酸配列と100%の同一性、すなわち、完全な同一性、相同性、相補性を有し得る。他の場合には、第1の配列と標的核酸配列との間に1つ以上のミスマッチが存在し得る。例えば、センス領域と標的核酸配列との間に1、2、3、4、5、6、又は7個のミスマッチがあり得る。

30

【0443】

表13に示す配列をDNA配列として提示する。表13に示す全ての配列において、チミン (T) は、標的mRNA配列の配列に到達するためにウラシル (U) によって置き換えられ得る。

【表13-1】

表13. 第1の配列に相補的な例示的な標的B2M配列

配列番号	配列	配列番号	配列
1008	AGAGAATGGAAAGTCAAATTT	1015	GCAGAGAATGGAAAGTCAAAT
1009	ATGGACATGATCTTCTTTATA	1016	CAGAGAATGGAAAGTCAAATT
1010	TGGACATGATCTTCTTTATAA	1017	GAGAATGGAAAGTCAAATTTT
1011	GGACATGATCTTCTTTATAAT	1018	GTCACAGCCCAAGATAGTTAA
1012	TGACAGGATTATTGGAAATTT	1019	TGCTTATACACTTACACTTTA
1013	TTGTGGTTAATCTGGTTTATT	1020	GCTTATACACTTACACTTTAT
1014	TGTGGTTAATCTGGTTTATTT	1021	CTTATACACTTACACTTTATG

40

50

【表 1 3 - 2】

配列番号	配列
1022	ACATGGACATGATCTTCTTTA
1023	CATGGACATGATCTTCTTTAT
1024	ATCAACATCTTGGTCAGATTI
1025	CTTGCACTCAAAGCTTGTAA
1026	AGTTAAGCGTGCATAAGTTAA
1027	GCATAAGTTAACTTCCAATT
1028	TACATACTCTGCTTAGAATTT
1029	ACATACTCTGCTTAGAATTTG
1030	TTGACAGGATTATTGGAAATT
1031	GACAGGATTATTGGAAATTTG
1032	TAAGGCATGGTTGGTTAAT
1033	GTTGTGGTTAATCTGGTTAT
1034	GTTCCACAAGTTAAATAAATC
1035	TCCAGCGTACTCCAAAGATT
1036	TACTCCAAAGATTCAAGTTA
1037	ACTCCAAAGATTCAAGTTTAC
1038	CACGTCATCCAGCAGAGAATG
1039	GGTTTCATCCATCCGACATTG
1040	CCGACATTGAAGTTGACTTAC
1041	TGAAGAATGGAGAGAGAATTG
1042	GAGCATTACAGACTTGTCTTC
1043	TTCAGCAAGGACTGGTCTTTC
1044	GCAAGGACTGGTCTTCTATC
1045	CGTGTGAACCATGTGACTTTG
1046	CTTTGTACAGCCCAAGATAG
1047	TCACAGCCCAAGATAGTTAAG
1048	AGTGGGATCGAGACATGTAAG
1049	AGGTTTGAAGATGCCGCATT
1050	GGTTTGAAGATGCCGCATTG
1051	TTGATATGCTTATACACTTAC
1052	TGAGTGTCTGCTCCATGTTG
1053	TGTCTCCATGTTTGATGTATC
1054	TCAACATCTTGGTCAGATTG
1055	TCAGATTGAACCTTCAATC
1056	TTCAATCTCTGCACTCAAAG
1057	TTGCACTCAAAGCTTGTTAAG
1058	ACTCAAAGCTTGTTAAGATAG
1059	AGATAGTTAAGCGTGCATAAG
1060	TGCATAAGTTAACTTCCAATT
1061	GTTAACTTCCAATTTACATAC
1062	ATTGACAGGATTATTGGAAAT
1063	GTAAGGCATGGTTGTGGTTAA
1064	GGTTGTGGTTAATCTGGTTTA
1065	TTCTGAAGCTGACAGCATTC
1066	GCTATCCAGCGTACTCCAAAG
1067	CATCCAGCAGAGAATGGAAAG
1068	CAAATTTCTGAATTGCTATG
1069	ATTGCTATGTGCTGGGTTTC
1070	GAAGATGCCGCAATTGGATTG
1071	CAATTTACATACTCTGCTTAG
1072	TATCCAGCGTACTCCAAAGAT
1073	ATCCAGCGTACTCCAAAGATT
1074	CTCCAAAGATTCAAGTTTACT
1075	TGCTATGTGCTGGGTTTCAT
1076	TTTATCCATCCGACATTGAA
1077	GAAGTTGACTTACTGAAGAAT

配列番号	配列
1078	GAAGAATGGAGAGAGAATTGA
1079	AGAATGGAGAGAGAATTGAAA
1080	CAGCAAGGACTGGTCTTCTA
1081	AGCAAGGACTGGTCTTCTAT
1082	ACTTTGTACAGCCCAAGATA
1083	TTGTACAGCCCAAGATAGTT
1084	TGTACAGCCCAAGATAGTTA
1085	CACAGCCCAAGATAGTTAAGT
1086	GCAGCATCATGGAGGTTTGAA
1087	CCGCATTTGGATTGGATGAAT
1088	TTGAGTGTCTCTCCATGTTT
1089	AGTGCTGTCTCCATGTTTAT
1090	CTGTCTCCATGTTTGATGTAT
1091	TCTAGGAGGGCTGGCAACTTA
1092	CAACATCTTGGTCAGATTGTA
1093	GTCAGATTGTGAACCTTCAAT
1094	TCTTGCCTCAAAGCTTGTTA
1095	TGCACTCAAAGCTTGTTAAGA
1096	GCACTCAAAGCTTGTTAAGAT
1097	CACTCAAAGCTTGTTAAGATA
1098	TCAAAGCTTGTTAAGATAGTT
1099	CAAAGCTTGTTAAGATAGTTA
1100	GATAGTTAAGCGTGCATAAGT
1101	ATAGTTAAGCGTGCATAAGTT
1102	TAGTTAAGCGTGCATAAGTTA
1103	TTAAGCGTGCATAAGTTAACT
1104	TAAGCGTGCATAAGTTAACTT
1105	ATTACATACTCTGCTTAGAA
1106	TTTACATACTCTGCTTAGAAT
1107	ACAGGATTATTGGAAATTTGT
1108	CAGGATTATTGGAAATTTGTT
1109	AGGCATGGTTGTGGTTAATCT
1110	CAGCAGAGAATGGAAAGTCAA
1111	TCCGACATTGAAGTTGACTTA
1112	CTGGTCTTCTATCTCTTGA
1113	CCGTGTGAACCATGTGACTTT
1114	CCCAAGATAGTTAAGTGGGAT
1115	GGTTGCTCCACAGGTAGCTCT
1116	GCTCCACAGGTAGCTTAGGA
1117	GGGAGCAGAGAATTCTCTTAT
1118	GGAGCAGAGAATTCTCTTATC
1119	GAGCAGAGAATTCTCTTATCC
1120	GAGAATTCTCTTATCCAACAT
1121	GAATTCTCTTATCCAACATCA
1122	AAGTGGAGCATTCAGACTTGT
1123	AAGGACTGGTCTTCTATCTC
1124	AAGCTTGTTAAGATAGTTAAG
1125	AAGCGTGCATAAGTTAACTTC
1126	AAGATGCCGCAATTGGATTGG
1127	AAGAATGGAGAGAGAATTGAA
1128	AACATCAACATCTTGGTCAGA
1129	AAGGCATGGTTGTGGTTAATC
1130	AAGCAGCATCATGGAGGTTTG
1131	AAGATGAGTATGCCTGCCGTG
1132	AAGTTGACTTACTGAAGAATG
1133	AAGATAGTTAAGCGTGCATAA

10

20

30

40

【表 1 3 - 3】

配列番号	配列
1134	AACTTCCAATTTACATACTCT
1135	AACATCTTGGTCAGATTTGAA
1136	AACTCTTCAATCTCTTGCATC
1137	AATTTCTGAATTGCTATGTG
1138	AATGGAAAGTCAAATTTCTCTG
1139	AACCATGTGACTTTGTACAG

配列番号	配列
1140	AATTGACAGGATTATTGGAAA
1141	AATTCTCTTATCCAACATCAA
1142	AAAGTGGAGCATTACAGACTTG
1143	AAAGTCAAATTTCTCTGAATTG
1144	GTTGCTCCACAGGTAGCTCTA
1145	AATTTACATACTCTGCTTAGA

50

【0444】

B2M shRNAをコードする例示的な配列は、GCACTCAAAGCTTGTAAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGC（配列番号349）の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。B2M shRNAをコードする更なる例示的な配列は、GTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAGTTAAC（配列番号350）の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む。

【0445】

いくつかの実施形態において、干渉RNAは、HLA-A*02 mRNAの配列に相補的な配列を含む。いくつかの実施形態において、干渉RNAは、HLA-A*02 mRNAのRNAi媒介性分解を誘導することができる。いくつかの実施形態において、HLA-A*02 mRNA配列は、コード配列を含む。いくつかの実施形態において、HLA-A*02 mRNA配列は、非翻訳領域を含む。

【0446】

いくつかの実施形態において、干渉RNAは、ショートヘアピンRNA（shRNA）である。いくつかの実施形態において、shRNAは、HLA-A*02 mRNAに相補的な配列を5'から3'末端に有する第1の配列と、第1の配列に相補的な配列を5'から3'末端に有する第2の配列と、を含み、第1の配列及び第2の配列は、shRNAを形成する

【0447】

第1の配列に相補的な例示的な標的HLA配列を表14に示す。

【表14-1】

表14. 第1の配列に相補的な例示的な標的HLA配列

配列番号	配列	配列番号	配列
1146	CTTCTTCTTCCCTATTAAAA	1157	CTCACTCCATGAGGTATTCT
1147	TCTCACTCCATGAGGTATTTC	1158	GGAGGAAGAGCTCAGATAGAA
1148	CTCTCACTCCATGAGGTATTT	1159	CACACCGTCCAGAGGATGTAT
1149	GAGGAGGAAGAGCTCAGATAG	1160	CACGCTGTCTCTGACCATGAA
1150	GCTCTCACTCCATGAGGTATT	1161	CTGGACAGGAGCAGAGATACA
1151	AGGATTACATCGCCCTGAAAG	1162	TGGAGGAGGAAGAGCTCAGAT
1152	ACACCGTCCAGAGGATGTATG	1163	GGCTCTCACTCCATGAGGTAT
1153	AGGGTCCTTCTTCTGGATAC	1164	CATCTCTGTCTCAACTTCATG
1154	CCTACGACGGCAAGGATTACA	1165	TACGACGGCAAGGATTACATC
1155	TCACTCCATGAGGTATTTCTT	1166	GGATTACATCGCCCTGAAAGA
1156	CTACGACGGCAAGGATTACAT	1167	GATTACATCGCCCTGAAAGAG

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 2】

配列番号	配列
1168	CTCAGACCACCAAGCACAAAGT
1169	TCACACCGTCCAGAGGATGTA
1170	ACTCCATGAGGTATTTCTTCA
1171	CACTCCATGAGGTATTTCTTC
1172	CCATGAGGTATTTCTTCACAT
1173	ACTTCTTCTTCCCTATTAAA
1174	GTGTCTCTCACAGCTGTAAA
1175	CTGTGTTCTGTAGGCATAAT
1176	TGTGTTCTGTAGGCATAATG
1177	TAACTTCTTCTTCCCTATTAA
1178	TCTGGACAGGAGCAGAGATAC
1179	TTGCTGGCCTGGTCTCTTTG
1180	TGTCTCTCACAGCTGTAAAG
1181	ACTTGAAGAACCCTGACTTTG
1182	GAAGAACCCTGACTTTGTTTC
1183	TCTGTGTTCTGTAGGCATAA
1184	CATGGTGCACTGAGCTGTAAC
1185	GTAACCTCTTCTTCCCTATT
1186	CATGTGCAGCATGAGGGTTTG
1187	TTGTTCTGCTTCCCTTTG
1188	ACCCAGTTCTCACTCCCATG
1189	GGGTTTCCAGAGAAGCCAATC
1190	TTCTCCCTCTCCAACCTATG
1191	GTCTCTCACAGCTGTAAAGT
1192	TGTGTCTCTCACAGCTGTAA
1193	GAGGAAGAGCTCAGATAGAAA
1194	TGAAGAACCCTGACTTTGTTT
1195	TTGAAGAACCCTGACTTTGTT
1196	GTGTTCTGTAGGCATAATGT
1197	TGGTGCACTGAGCTGTAACCT
1198	CTCCCTCTCCAACCTATGTA
1199	AGGAGGAAGAGCTCAGATAGA
1200	ACCTATGTAGGGTCTTCTTC
1201	GGGTCTTCTTCTGGATACT
1202	GGTCTTCTTCTGGATACTC
1203	GTCCTTCTTCTGGATACTCA
1204	AAGCCAATCAGTGTGTCGCG
1205	AAGAGGACCTGCGCTCTTGG
1206	AAGTGTGAGACAGCTGCCTTG
1207	AAGGCACCTGCATGTGTCTGT
1208	AATCATCTTCTGTTCCAGA
1209	AAAGGCACCTGCATGTGTCTG
1210	AAAGAGGACCTGCGCTCTTGG
1211	AAACGCATATGACTCACCACG
1212	GGAAGAGCTCAGATAGAAA
1213	GGGAGACACGGAAAGTGAA
1214	CACCTGCCATGTGACGATGA
1215	GGAGATCACACTGACCTGGCA
1216	GGATTACATCGCCCTGAAAG
1217	GCAGGAGGGTCCGGAGTATT
1218	GGACGGGGAGACACGGAAAG
1219	GAAAGTGAAGGCCACTCA

配列番号	配列
1220	GATACCTGGAGAACGGGAAG
1221	GCTGTGGTGGTGCCTTCTGG
1222	GCTACTACAACCAGAGCGAG
1223	GTGGCTCCGAGATACCTG
1224	GCCAATCAGTGTGTCGCG
1225	GAGGACCTGCGCTCTTGG
1226	GTGTGAGACAGCTGCCTTG
1227	GGCACCTGCATGTGTCTGT
1228	TCATCTTCTGTTCCAGA
1229	AGGCACCTGCATGTGTCTG
1230	AGAGGACCTGCGCTCTTGG
1231	ACGCATATGACTCACCACG

10

20

30

40

【0 4 4 8】

いくつかの実施形態において、第1の配列及び第2の配列は、ループと称されることもある、リンカーによって分離される。いくつかの実施形態において、第1の配列及び第2の配列の両方は、1つの一本鎖RNA又はDNAベクターによってコードされる。いくつかの実施形態において、ループは、第1の配列と第2の配列との間にある。これらの実施形態において、第1の配列及び第2の配列は、ハイブリダイズして二本鎖領域を形成する。第1の配列及び第2の配列は、リンカー配列によって連結され、「ヘアピン」又は「ステムループ」構造を形成する。shRNAは、一本鎖分子の対向する末端に相補的な第1の配列及び第2の配列を有することができ、その結果、分子は、相補的な配列部分と二本

50

鎖領域を形成することができ、鎖は、リンカー（すなわちループ配列）によって二本鎖領域の一端で連結される。リンカー、又はループ配列は、ヌクレオチド又は非ヌクレオチドリリンカーのいずれかであり得る。リンカーは、共有結合又は非共有結合相互作用を介して、第１の配列、及び任意選択で、第２の配列と相互作用することができる。

【０４４９】

任意の好適なヌクレオチドループ配列は、本開示の範囲内として想定される。本開示の s h R N A は、s h R N A の第１の配列を、s h R N A の第２の配列に結合するヌクレオチド、非ヌクレオチド、又は混合ヌクレオチド／非ヌクレオチドリリンカーを含んでもよい。ヌクレオチドループ配列は、長さが、２ヌクレオチド以上、例えば、長さが、約４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、又は１５ヌクレオチドであり得る。例示的なループ配列は、表１６に開示されている。

10

【０４５０】

いくつかの実施形態において、s h R N A は、５' 隣接配列及び３' 隣接配列を更に含む。いくつかの実施形態において、５' 隣接配列は、第１の配列の５' 末端に連結され、３' 隣接配列は、第２の配列の３' 末端に連結される。

【０４５１】

理論に拘束されることを望まないが、マイクロＲＮＡで見出されるものと同様の５' 及び３' 配列を有する s h R N A ステムループ配列を隣接させることで、内因性マイクロＲＮＡプロセッシング機構によるプロセッシングのために s h R N A を標的とすることができ、s h R N A プロセッシングの有効性を高めることができると考えられる。代替的に、又は加えて、隣接配列は、ポリメラーゼⅡ又はポリメラーゼⅡプロモーターとの s h R N A 適合性を増加させ、s h R N A 発現のより効果的な調節をもたらす得る。

20

【０４５２】

いくつかの実施形態において、５' 隣接配列は、表１５に示される配列から選択される。例示的な隣接配列を表１５に示す。

【表１５】

表１５．例示的な隣接配列

配列番号	5'隣接配列
1232	GG
1233	ACACCAUGUUGCCAGUCUCUAGG
1234	UGAUAGCAAUGUCAGCAGUGCCU
1235	UAUUGCUGUUGACAGUGAGCGAC
配列番号	3'隣接配列
1236	UGGCGUCUGGCCCAACCACAC
1237	GUAAGGUUGACCAUACUCUAC

30

【０４５３】

いくつかの実施形態において、第１及び第２の配列は、一本鎖ポリヌクレオチド上に存在し、第１の配列及び第２の配列は、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、又は１５ヌクレオチドによって分離され、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、又は１５ヌクレオチドは、s h R N A 内のループ領域を形成する。いくつかの実施形態において、ループ領域は、表１６に記載の配列から選択される配列を含む。

40

【表 1 6】

表 1 6. 例示的なループ領域配列

配列番号	ループ領域配列
1238	CGAA
1239	UUCAAGA
1240	AUAUUCA
1241	UGUGCUGUC
1242	CUCGAG
1243	CUUCCUGUCAGA
1244	CUUCCCUUUGUCAGA
1245	GUGUUAUUCUUG
1246	GUGUCUAAUUG
1247	GUGUUAGUCUUG
1248	UCAAGAG
1249	GGACAUCCAGGG
1250	GUGAAGCCACAGAUG
1251	GAUUCUAAAA

10

20

【0 4 5 4】

本開示のshRNAは、化学合成によって、インビトロ転写によって、又はDicer若しくは同様の活性を有する別の適切なヌクレアーゼによる、より長い二本鎖RNAの切断によって外因的に生成され得る。従来のDNA/RNAシンセサイザーを使用して保護されたリボヌクレオシドホスホロアミダイトから産生される化学合成されたsiRNAは、Millipore Sigma (Houston, Tex.)、Ambion Inc. (Austin, Tex.)、Invitrogen (Carlsbad, Calif.)、又はDharmacon (Lafayette, Colo.)などの商業的供給源から得ることができる。siRNAは、例えば、溶媒若しくは樹脂による抽出、沈殿、電気泳動、クロマトグラフィー、又はそれらの組み合わせによって精製することができる。代替的に、siRNAは、試料処理による損失を回避するために、ほとんど精製せずに使用してもよい。

30

【0 4 5 5】

いくつかの実施形態において、本開示のshRNAは、二本鎖RNAをコードする核酸が、例えば、好適なプロモーターの制御下でクローニングされている発現ベクターを使用して産生され得る。

【0 4 5 6】

医薬組成物

本開示は、本開示の第1及び第2の受容体、並びに薬学的に許容される希釈剤、担体、又は賦形剤を含む免疫細胞を含む、医薬組成物を提供する。

40

【0 4 5 7】

このような組成物は、中性緩衝食塩水、ホスフェート緩衝食塩水などの緩衝液、グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトールなどの炭水化物、タンパク質、ポリペプチド又はグリシンなどのアミノ酸、抗酸化剤、EDTA又はグルタチオンなどのキレート剤、及び防腐剤を含み得る。

【0 4 5 8】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、第1の受容体及び第2の受容体の両方を発

50

現する。いくつかの実施形態において、免疫細胞の少なくとも約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、又は約95%は、第1の受容体及び第2の受容体の両方を発現する。いくつかの実施形態において、免疫細胞の少なくとも90%は、第1の受容体及び第2の受容体の両方を発現する。

【0459】

がんの治療

対象において複数のがん細胞を死滅させるか、又はがんを治療する方法であって、治療有効量の本開示の第1及び第2の受容体を含む免疫細胞を含む組成物を対象に投与することを含む、方法が、本明細書に提供される。免疫細胞は、同じ細胞内で両方の受容体を発現する。

【0460】

がんは、異常な細胞が制御できずに分裂し、近くの組織に広がる疾患である。いくつかの実施形態において、がんは、液体腫瘍又は固形腫瘍を含む。例示的な液体腫瘍には、白血病及びリンパ腫が含まれる。がんは、上皮組織を含む、事実上体内の臓器で生じ得る。複数のがん細胞が、第1の活性化因子リガンドを発現し、第2の抑制因子リガンドを発現しない、任意のがんは、本開示の範囲内であると想定される。例えば、本明細書に記載の方法を使用して治療することができるMSLN陽性がんには、中皮腫、卵巣がん、子宮頸がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺腺がんなどの肺がん、結腸直腸がん及び胆管がんが含まれる。

【0461】

いくつかの実施形態において、複数のがん細胞は、標的抗原を発現する。いくつかの実施形態において、対象の複数のがん細胞は、MSLNを発現する。MSLN陽性がんには、中皮腫がん、卵巣がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、肺腺がん、結腸直腸がん、又は胆管がん、及び他の固形上皮腫瘍が含まれる。MSLNを発現する更なるがんには、再発性、難治性又は転移性の胃がん、食道がん、頭頸部がん、及び腎臓がんが含まれる。いくつかの実施形態において、MSLN陽性がんは、上皮腫瘍、例えば、がん腫を含む。

【0462】

MSLN+腫瘍を有する対象においてMSLN+がんを治療する方法であって、腫瘍が、MHCクラスI遺伝子座においてヘテロ接合性の喪失を有する、方法が、本明細書に提供される。いくつかの実施形態において、方法は、有効量の本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物を対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、方法は、(a)対象の正常細胞及び複数のがん細胞のHLA-A、HLA-B、又はHLA-C遺伝子型又は発現を決定することと、(b)対象の複数のがん細胞におけるMSLNの発現を決定することと、(c)正常細胞が、HLA-A、HLA-B、又はHLA-C非標的抗原を発現し、複数のがん細胞が、HLA-A、HLA-B、又はHLA-C非標的抗原を発現せず、また、複数のがん細胞がMSLN陽性である場合、有効量の本開示の免疫細胞又は医薬組成物を対象に投与することと、を含む。いくつかの実施形態において、例えば、がんが、MSLN+であることが知られているそれらの実施形態において、方法は、(a)対象の正常細胞及び複数のがん細胞のHLA-A、HLA-B又はHLA-C遺伝子型又は発現を決定することと、(b)正常細胞が、HLA-A、HLA-B、又はHLA-C非標的抗原を発現し、複数のがん細胞が、非標的抗原を発現しない場合、有効量の本開示の免疫細胞又は医薬組成物を対象に投与することと、を含む。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、HLA-A*02、HLA-A*01、HLA-A*03、HLA-A*11、HLA-B*07、又はHLA-C*07を含む。

【0463】

いくつかの実施形態において、複数のがん細胞は、ICAM1、COMT、又はCXCL16の多型対立遺伝子を発現しない。例えば、がん細胞は、その遺伝子座におけるヘテロ接合性の喪失を通じて、CAM1、COMT又はCXCL16の対立遺伝子を喪失している。

【0464】

いくつかの実施形態において、複数のがん細胞は、LRRN4若しくはUPKB3を発現しないか、又は正常細胞よりも低い発現を有する。

【0465】

本開示は、対象においてがんを治療する方法であって、(a) ICAM1の多型遺伝子座、COMTの多型遺伝子座、及びCXCL16の多型遺伝子座からなる群から選択される多型遺伝子座において、対象の正常細胞及び複数のがん細胞の遺伝子型を決定することと、(b) 複数のがん細胞におけるMSLNの発現を決定することと、(c) 正常細胞が多型遺伝子座に対してヘテロ接合性であり、複数のがん細胞が多型遺伝子座に対して半接合性であり、複数のがん細胞がMSLN陽性である場合、複数の免疫細胞を対象に投与することと、を含み、複数の免疫細胞が、(i) 主要組織適合性複合体クラスI(MHC-I)との複合体においてMSLN、又はそのペプチド抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)、並びに(ii) 主要組織適合性複合体クラスI(MHC-I)との複合体においてICAM1、COMT、及びCXCL16から選択される非標的抗原、又はその抗原ペプチドに特異的な細胞外リガンド結合を含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体を含み、非標的抗原が、多型を含む、方法を提供する。

10

【0466】

SNPの存在又は不在のために、対象に由来するがん細胞及び正常細胞の遺伝子型を決定する方法は、当業者には容易に明らかになるであろう。SNP遺伝子型決定方法には、とりわけ、デュアルプローブTaqManアッセイなどのPCRベースの方法、アレイベースのハイブリダイゼーション方法、及び配列決定が含まれる。

20

【0467】

対象に由来するがん又は正常細胞における標的抗原の発現を測定する方法は、当業者には容易に明らかになるであろう。これらには、とりわけ、RNA配列決定及び逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)などのRNA発現を測定する方法、並びに免疫組織化学に基づく方法などのタンパク質発現を測定する方法が含まれる。複数のがん細胞におけるヘテロ接合性の喪失を測定する方法には、とりわけ、当該技術分野で既知の方法を使用してがん細胞から抽出されるゲノムDNAのハイスループット配列決定が含まれる。

【0468】

30

本開示は、対象においてがんを治療する方法であって、複数のがん細胞における非標的抗原の発現レベルを測定することと、複数のがん細胞における非標的抗原の発現レベルが、複数のがん細胞における非標的抗原の発現レベルよりも低く、非標的抗原の複数の健常な細胞の発現レベルよりも低い場合、対象を治療することと、を含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、非標的抗原は、LRRN4若しくはUPKB3、又はLRRN4若しくはUPKB3のペプチド抗原を含む。いくつかの実施形態において、方法は、複数のがん細胞におけるMSLNの発現を決定することと、複数のがん細胞が、非標的抗原の発現が低い、又は全くなく、複数のがん細胞が、MSLN陽性である場合、複数の免疫細胞を対象に投与することと、を含む。

対象に由来するがん又は細胞における標的抗原の発現を測定する方法は、当業者には容易に明らかになるであろう。これらには、とりわけ、RNA配列決定及び逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)などのRNA発現を測定する方法、並びに免疫組織化学に基づく方法などのタンパク質発現を測定する方法が含まれる。

40

【0469】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、T細胞である。

【0470】

いくつかの実施形態において、免疫細胞は、同種異系又は自己由来である。

【0471】

いくつかの実施形態において、第2の受容体は、第1の受容体を発現するが、第2の受容体を発現しない免疫細胞と比較して、MSLN陽性がん細胞に対する免疫細胞の特異性

50

を増加させる。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、第1の受容体を発現するが、第2の受容体を発現しない免疫細胞と比較して、減少した副作用を有する。

【0472】

本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象における腫瘍の増殖を阻止することができる。例えば、免疫細胞又は医薬組成物は、腫瘍細胞を死滅させることができるため、腫瘍は成長を停止するか、又はサイズが縮小される。ある場合には、免疫細胞又は医薬組成物は、対象における更なる腫瘍の形成を防止することができるか、又は腫瘍の総数を減少させることができる。

【0473】

本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象において、野生型細胞ではなく、がん細胞の選択的死滅をもたらすことができる。いくつかの実施形態において、死滅した細胞の約60%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約65%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約70%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約75%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約80%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約85%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約90%は、がん細胞であるか、死滅した細胞の約95%は、がん細胞であるか、又は死滅した細胞の約100%は、がん細胞である。

【0474】

本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象のがん細胞の約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%又は全ての死滅をもたらし得る。

【0475】

本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物の投与は、第1の活性化因子受容体を含むが、第2の抑制性受容体を含まない、他の等価の免疫細胞の投与よりも、対象に対して少ない副作用をもたらすことができる。例えば、本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物を投与することは、第2の抑制性受容体を用いずに投与するMSLN CAR、又はMSLN TCRと比較して、用量制限毒性を低減させることができる。

【0476】

がんの治療は、腫瘍のサイズの縮小をもたらし得る。腫瘍のサイズの縮小は、「腫瘍退縮」と称されることもある。好ましくは、治療後、腫瘍サイズは、治療前のサイズと比較して5%以上減少し、より好ましくは、腫瘍サイズは、10%以上減少し、より好ましくは、20%以上減少し、より好ましくは、30%以上減少し、より好ましくは、40%以上減少し、更により好ましくは、50%以上減少し、最も好ましくは、75%以上減少する。腫瘍のサイズは、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。腫瘍のサイズは、腫瘍の直径として測定され得る。

【0477】

がんの治療は、腫瘍体積の減少をもたらし得る。好ましくは、治療後、腫瘍体積は、治療前のサイズと比較して5%以上減少し、より好ましくは、腫瘍体積は、10%以上減少し、より好ましくは、20%以上減少し、より好ましくは、30%以上減少し、より好ましくは、40%以上減少し、更により好ましくは、50%以上減少し、最も好ましくは、75%以上減少する。腫瘍体積は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。

【0478】

本明細書に記載の免疫細胞又は医薬組成物の投与は、対象における腫瘍のサイズを減少させることができる。いくつかの実施形態において、腫瘍のサイズは、免疫細胞又は医薬組成物の投与前の腫瘍のサイズと比較して、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、又は約100%減少する。いくつかの実施形態において、腫瘍は、除去される。

【0479】

がんの治療は、腫瘍の数の減少をもたらす。好ましくは、治療後、腫瘍数は、治療前の数と比較して5%以上減少し、より好ましくは、腫瘍数は、10%以上減少し、より好ましくは、20%以上減少し、より好ましくは、30%以上減少し、より好ましくは、40

%以上減少し、更により好ましくは、50%以上減少し、最も好ましくは、75%以上減少する。腫瘍の数は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。腫瘍の数は、肉眼で見える腫瘍を数えることによって、又は指定された倍率で測定され得る。好ましくは、指定された倍率は、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、又は50倍である。

【0480】

がんの治療は、原発腫瘍部位から離れた他の組織又は臓器における転移性病変の数の減少をもたらし得る。好ましくは、治療後、転移性病変の数は、治療前の数と比較して5%以上減少し、より好ましくは、転移性病変の数は、10%以上減少し、より好ましくは、20%以上減少し、より好ましくは、30%以上減少し、より好ましくは、40%以上減少し、更により好ましくは、50%以上減少し、最も好ましくは、75%以上減少する。転移性病変の数は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。転移性病変の数は、肉眼で見える転移性病変を数えることによって、又は指定された倍率で測定され得る。好ましくは、指定された倍率は、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、又は50倍である。

10

【0481】

がんの治療は、担体のみを受容する集団と比較して、治療対象の集団の平均生存時間の増加をもたらし得る。好ましくは、平均生存時間は、30日超、より好ましくは60日超、より好ましくは90日超、及び最も好ましくは120日超増加する。集団の平均生存時間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定され得る。集団の平均生存時間の増加は、例えば、集団について、活性化化合物による治療の開始後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。集団の平均生存時間の増加はまた、例えば、集団について、活性化化合物による第1のラウンドの治療の完了後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。

20

【0482】

がんの治療は、治療されていない対象の集団と比較して、治療対象の集団の平均生存時間の増加をもたらし得る。好ましくは、平均生存時間は、30日超、より好ましくは60日超、より好ましくは90日超、及び最も好ましくは120日超増加する。集団の平均生存時間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定され得る。集団の平均生存時間の増加は、例えば、集団について、活性化化合物による治療の開始後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。集団の平均生存時間の増加はまた、例えば、集団について、活性化化合物による第1のラウンドの治療の完了後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。

30

【0483】

がんの治療は、本開示の化合物ではない薬物、又はその薬学的に許容される塩、プロドラッグ、代謝産物、アナログ若しくは誘導体による単剤療法を受ける集団と比較して、治療対象の集団の平均生存時間の増加をもたらし得る。好ましくは、平均生存時間は、30日超、より好ましくは60日超、より好ましくは90日超、及び最も好ましくは120日超増加する。集団の平均生存時間の増加は、任意の再現可能な手段によって測定され得る。集団の平均生存時間の増加は、例えば、集団について、活性化化合物による治療の開始後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。集団の平均生存時間の増加はまた、例えば、集団について、活性化化合物による第1のラウンドの治療の完了後の平均生存期間を計算することによって測定され得る。

40

【0484】

がんの治療は、担体のみを受容する集団と比較して、治療対象の集団の死亡率の低下をもたらし得る。がんの治療は、未治療の集団と比較して、治療対象の集団の死亡率の低下をもたらし得る。がんの治療は、本開示の化合物ではない薬物、又はその薬学的に許容される塩、プロドラッグ、代謝産物、アナログ若しくは誘導体による単剤療法を受ける集団と比較して、治療対象の集団の死亡率の低下をもたらし得る。好ましくは、死亡率は、2%超、より好ましくは5%超、より好ましくは10%超、及び最も好ましくは25%超低下する。治療対象の集団の死亡率の低下は、任意の再現可能な手段によって測定され得る。集団の死亡率の低下は、例えば、集団について、活性化化合物による治療の開始後の単位

50

時間当たりの疾患関連死の平均数を計算することによって測定され得る。集団の死亡率の低下は、例えば、集団について、活性化化合物による第1のラウンドの治療の完了後の単位時間当たりの疾患関連死の平均数を計算することによっても測定され得る。

【0485】

がんの治療は、腫瘍増殖速度の低下をもたらし得る。好ましくは、治療後、腫瘍増殖速度は、治療前の数値と比較して少なくとも5%減少し、より好ましくは、腫瘍増殖速度は、少なくとも10%減少し、より好ましくは、少なくとも20%減少し、より好ましくは、少なくとも30%減少し、より好ましくは、少なくとも40%減少し、より好ましくは、少なくとも50%減少し、更により好ましくは、少なくとも50%減少し、及び最も好ましくは、少なくとも75%減少する。腫瘍増殖速度は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。腫瘍増殖速度は、単位時間当たりの腫瘍直径の変化に応じて測定され得る。

10

【0486】

がんの治療は、腫瘍再増殖の低下をもたらし得る。好ましくは、治療後、腫瘍再増殖は、5%未満であり、より好ましくは、腫瘍再増殖は、10%未満であり、より好ましくは、20%未満であり、より好ましくは、30%未満であり、より好ましくは、40%未満であり、より好ましくは、50%未満であり、更により好ましくは、50%未満であり、及び最も好ましくは、75%未満である。腫瘍再増殖は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。腫瘍再増殖は、例えば、治療後の以前の腫瘍縮小後の腫瘍の直径の増加を測定することによって測定される。腫瘍再増殖の減少は、治療が停止した後に腫瘍が再発しないことによって示される。

20

【0487】

がんの治療又は予防は、細胞増殖速度の減少をもたらし得る。好ましくは、治療後、細胞増殖速度は、少なくとも5%、より好ましくは少なくとも10%、より好ましくは少なくとも20%、より好ましくは少なくとも30%、より好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、更により好ましくは少なくとも50%、及び最も好ましくは少なくとも75%減少する。細胞増殖の速度は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。細胞増殖速度は、例えば、単位時間当たりの組織試料中の分裂細胞の数を測定することによって測定される。

【0488】

がんの治療又は予防は、増殖細胞の割合の減少をもたらし得る。好ましくは、治療後、増殖細胞の割合は、少なくとも5%、より好ましくは少なくとも10%、より好ましくは少なくとも20%、より好ましくは少なくとも30%、より好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、更により好ましくは少なくとも50%、及び最も好ましくは少なくとも75%減少する。増殖細胞の割合は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。好ましくは、増殖細胞の割合は、例えば、組織試料中の非分裂細胞の数に対する分裂細胞の数を定量化することによって測定される。増殖細胞の割合は、分裂指数と同等であり得る。

30

【0489】

がんの治療又は予防は、細胞増殖の領域又はゾーンのサイズの減少をもたらし得る。好ましくは、治療後、細胞増殖の領域又はゾーンのサイズは、治療前のサイズと比較して少なくとも5%減少し、より好ましくは少なくとも10%減少し、より好ましくは少なくとも20%減少し、より好ましくは少なくとも30%減少し、より好ましくは少なくとも40%減少し、より好ましくは少なくとも50%減少し、更により好ましくは少なくとも50%減少し、最も好ましくは少なくとも75%減少する。細胞増殖の領域又はゾーンのサイズは、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。細胞増殖の領域又はゾーンのサイズは、細胞増殖の領域又はゾーンの直径又は幅として測定され得る。

40

【0490】

がんの治療又は予防は、異常な外観又は形態を有する細胞の数又は割合の減少をもたらし得る。好ましくは、治療後、異常な形態を有する細胞の数は、治療前のサイズと比較し

50

て少なくとも5%減少し、より好ましくは少なくとも10%減少し、より好ましくは少なくとも20%減少し、より好ましくは少なくとも30%減少し、より好ましくは少なくとも40%減少し、より好ましくは少なくとも50%減少し、更により好ましくは少なくとも50%減少し、最も好ましくは少なくとも75%減少する。異常な細胞の外観又は形態は、任意の再現可能な測定手段によって測定され得る。異常な細胞の形態は、例えば、倒立組織培養顕微鏡を使用して、顕微鏡法によって測定され得る。異常な細胞の形態は、核多型の形態をとり得る。

【0491】

投与量及び投与

本開示の免疫細胞及びは、局所治療又は全身治療が所望されるかどうかに応じて、いくつかの方式で投与され得る。

【0492】

一般に、投与は非経口であってもよい。

【0493】

養子細胞療法のための細胞の投与方法は既知であり、提供される方法及び組成物に関連して使用することができる。例えば、養子T細胞療法の方法は、例えば、Gruenbergらの米国特許出願公開第2003/0170238号、及びRosenbergの米国特許第4,690,915号に記載されている。

【0494】

本開示の組成物は、非経口投与に好適である。本明細書で使用される場合、医薬組成物の「非経口投与」は、対象の組織の物理的破壊を特徴とする任意の投与経路、及び組織内の破壊を通じた医薬組成物の投与を含み、したがって、一般に、血流内、筋肉内、又は臓内への直接投与をもたらす。したがって、非経口投与には、組成物の注射による医薬組成物の投与、外科的切開による組成物の適用、組織透過性非外科的創傷による組成物の適用などが含まれるが、これらに限定されない。特に、非経口投与には、皮下、腹腔内、筋肉内、胸骨内、静脈内、動脈内、髄腔内、脳室内、尿道内、頭蓋内、腫瘍内、滑液内注射又は注入、及び腎臓透析的注入技術が含まれることが企図されるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本開示の組成物の非経口投与は、静脈内又は動脈内投与を含む。

【0495】

本開示は、本開示の複数の免疫細胞、及び薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を含む、医薬組成物を提供する。

【0496】

非経口投与に好適な医薬組成物の製剤は、典型的には、通常、滅菌水又は滅菌等張食塩水などの薬学的に許容される担体と組み合わせた免疫細胞からなる。このような製剤は、ボラス投与又は連続投与に好適な形態で調製、包装、又は販売されてもよい。注射用製剤は、単位剤形、例えば、アンプル又は防腐剤を含有する複数回用量容器中で調製、包装、又は販売されてもよい。非経口投与用の製剤には、懸濁液、溶液、油性又は水性ビヒクル中のエマルション、ペーストなどが含まれるが、これらに限定されない。このような製剤は、限定されないが、懸濁化剤、安定化剤、又は分散剤を含む、1つ以上の追加の成分を更に含んでもよい。非経口製剤には、塩、炭水化物、及び緩衝剤などの賦形剤を含有し得る水溶液も含まれる。例示的な非経口投与形態には、滅菌水溶液、例えば、プロピレングリコール水溶液又はデキストロース溶液中の溶液又は懸濁液が含まれる。このような剤形は、所望の場合、好適には、緩衝され得る。非経口投与のための製剤は、即時及び／又は放出調節であるように製剤化され得る。放出調節製剤には、遅延放出、持続放出、パルス放出、制御放出、標的化放出及びプログラム放出が含まれる。

【0497】

いくつかの実施形態において、免疫細胞を含む製剤化された組成物は、注射による投与に好適である。いくつかの実施形態において、免疫細胞を含む製剤化された組成物は、注入による投与に好適である。

10

20

30

40

50

【0498】

本開示の医薬組成物は、単位剤形で好都合に提示することができ、製薬業界で周知の従来の技術に従って調製することができる。そのような技術には、免疫細胞を、薬学的担体又は賦形剤、例えば、液体担体と会合させるステップが含まれる。

【0499】

水性懸濁液は、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール及び／又はデキストランを含む、懸濁液の粘度を増加させる物質を更に含有し得る。懸濁液はまた、安定剤を含有してもよい。

【0500】

本開示の組成物は、追加的に、医薬組成物に従来見出される他の補助成分を含有してもよい。したがって、例えば、組成物は、例えば、かゆみ止め剤、収れん剤、局所麻酔剤若しくは抗炎症剤などの追加の、適合性の薬学的に活性な材料を含有してもよい、又は染料、防腐剤、抗酸化剤、乳白剤、増粘剤、及び安定剤などの、本開示の組成物の様々な剤形を物理的に処方するのに有用な追加の材料を含有してもよい。しかしながら、このような材料は、添加されるとき、本開示の組成物の免疫細胞の生物学的活性を不当に妨げるべきではない。

【0501】

製剤又は組成物はまた、免疫細胞で治療されている特定の適応症、疾患、又は状態に有用な2つ以上の活性成分を含有してもよく、それぞれの活性は互いに悪影響を及ぼさない。このような活性成分は、好適には、意図する目的に効果的である量で組み合わせて存在する。したがって、いくつかの実施形態において、医薬組成物は、化学療法剤などの他の薬学的に活性な薬剤又は薬物を更に含む。

【0502】

いくつかの態様における医薬組成物は、組成物の送達、治療される部位の感作の前に、かつ治療される部位の感作を引き起こすのに十分な時間で生じるように、時間放出、遅延放出、及び持続放出送達系を用いることができる。多くの種類の放出送達系が利用可能であり、既知である。このような系は、組成物の反復投与を回避することができ、それによって、対象及び医師への利便性を増大させる。

【0503】

投与は、治療過程を通じて連続的に又は断続的に、1回の用量で行うことができる。単回又は複数回の投与を、治療する医師によって選択される用量レベル及びパターンを用いて実施することができる。

【0504】

いくつかの実施形態における医薬組成物は、がんを治療又は予防するのに有効な量、例えば、治療有効量又は予防有効量で免疫細胞を含有する。いくつかの実施形態において、治療的又は予防的有効性は、治療された対象の定期的評価によって監視される。数日、数週間又は数ヶ月にわたる反復投与については、状態に応じて、がんの徴候又は症状の所望の抑制が生じるまで治療を繰り返すことができる。しかしながら、他の投与レジメンが有用であり得、決定することができる。所望の用量は、組成物の単回ボラス投与若しくは注入によって、又は組成物の複数回ボラス投与若しくは注入によって送達することができる。

【0505】

細胞又は細胞集団は、1回以上の用量で投与することができる。いくつかの実施形態において、有効量の細胞は、単回用量として投与され得る。いくつかの実施形態において、有効量の細胞は、ある期間にわたって1回を超える用量として投与され得る。投与のタイミングは、管理医師の判断の範囲内であり、患者の臨床状態に依存する。

【0506】

細胞又は細胞集団は、血液バンク若しくはドナー、又は患者自身などの任意の供給源から得られてもよい。

【0507】

10

20

30

40

50

有効量とは、治療的又は予防的利益をもたらす量を意味する。投与される用量は、レシピエントの年齢、健康及び体重、同時治療の種類（もしあれば）、治療の頻度及び所望の効果の性質に依存するであろう。いくつかの実施形態において、有効量の細胞又はそれらの細胞を含む組成物は、非経口的に投与される。いくつかの実施形態において、投与は、静脈内投与であり得る。いくつかの実施形態において、投与は、腫瘍内への注射によって直接行うことができる。

【0508】

本開示の目的のために、例えば、所与の用量のこのような免疫細胞を哺乳動物に投与する際に、各々が異なる用量の免疫細胞を与えられる一組の哺乳動物の間で、標的細胞が溶解されるか、又は1つ以上のサイトカインが受容体を発現する免疫細胞によって分泌される程度を比較することを含むアッセイを使用して、哺乳動物に投与される開始用量を決定することができる。

10

【0509】

いくつかの実施形態において、細胞は、抗体又は操作された細胞又は受容体又は薬剤、例えば、細胞傷害性剤若しくは治療剤などの別の治療介入と同時に、又は任意の順序で連続的になどで、併用療法の一部として投与される。本開示の免疫細胞は、いくつかの実施形態において、1つ以上の追加の治療剤とともに、又は別の治療介入に関連して、同時に若しくは任意の順序で連続的にのいずれかで同時投与される。いくつかの文脈では、免疫細胞集団が1つ以上の追加の治療剤の効果を増強するように、又はその逆であるように、免疫細胞が、十分に時間的に近い別の治療法とともに同時投与される。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、1つ以上の追加の治療剤の前に投与される。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、1つ以上の追加の治療剤の後に投与される。

20

【0510】

実施形態において、リンパ枯渇化学療法は、養子免疫細胞の投与（例えば、注入）の前に、同時に、又はその後に、対象に投与される。一例において、リンパ枯渇化学療法は、免疫細胞の投与前に対象に投与される。例えば、リンパ枯渇化学療法は、養子細胞注入の1～4日前（例えば、1、2、3、又は4日）に終了する。実施形態において、複数回用量の養子細胞は、例えば、本明細書に記載されるように投与される。実施形態において、リンパ枯渇化学療法は、本明細書に記載の免疫細胞の投与（例えば、注入）の前に、同時に、又は後に、対象に投与される。リンパ枯渇の例としては、非骨髄性リンパ枯渇化学療法、骨髄性リンパ枯渇化学療法、全身照射などが挙げられるが、これらに限定され得ない。リンパ枯渇剤の例としては、抗胸腺細胞グロブリン、抗CD3抗体、抗CD4抗体、抗CD8抗体、抗CD52抗体、抗CD2抗体、TCR $\alpha\beta$ 遮断因子、抗CD20抗体、抗CD19抗体、ボルテゾミブ、リツキシマブ、抗CD154抗体、ラパマイシン、CD3免疫毒素、フルダラビン、シクロホスファミド、ブスルファン、メルファラン、マブセラ、タクロリムス、アレファセプト、アレムツズマブ、OKT3、OKT4、OKT8、OKT11、フィンゴリモド、抗CD40抗体、抗BR3抗体、Campath-1H、抗CD25抗体、カルシニューリン阻害剤、ミコフェノール酸、及びステロイドが挙げられるが、これらに限定されず、これらは単独で、又は組み合わせて使用され得る。更なる例として、リンパ枯渇レジメンは、アレムツズマブ、シクロホスファミド、ベンドゥアムスチン（bendustatin）、リツキシマブ、ペントスタチン、及び／又はフルダラビンの投与を含むことができる。リンパ枯渇レジメンは、循環免疫細胞の減少の所望の転帰まで、1つ以上のサイクルで投与することができる。いくつかの実施形態において、リンパ枯渇は、対象におけるCD52+細胞を特異的に標的とし、低減又は除去する薬剤を投与することを含み、免疫細胞は、CD52発現を低減又は除去するように改変される。

30

40

【0511】

いくつかの実施形態において、免疫刺激療法は、養子免疫細胞の投与前、投与と同時に、又は投与後（例えば、注入）に対象に投与される。いくつかの実施形態において、免疫刺激療法は、恒常性サイトカインを含む。いくつかの実施形態において、免疫刺激療法は、免疫刺激分子を含む。いくつかの実施形態において、免疫刺激療法は、IL-2、IL

50

ー 7、I L－1 2、I L－1 5、I L－2 1、I L－9、又はそれらの機能的断片を含む。いくつかの実施形態において、免疫刺激療法は、I L－2、I L－7、I L－1 2、I L－1 5、I L－2 1、I L－9、又はそれらの組み合わせを含む。いくつかの実施形態において、免疫刺激療法は、I L－2、又はその機能的断片を含む。

【0 5 1 2】

自己細胞を使用する養子細胞療法のための方法は、免疫細胞を患者の血液から単離することと、細胞を、本明細書に記載の二重受容体系をコードする1つ以上のベクターで形質導入することを含む、単離された細胞に対して一連の修飾を実施することと、細胞を患者に投与することと、を含む。がん若しくは血液悪性腫瘍に罹患しているか、又はがん若しくは血液悪性腫瘍のリスクがある対象からの免疫細胞を提供することは、患者の血液からの免疫細胞の単離を必要とし、当該技術分野で既知の方法、例えば、白血球除去によって達成することができる。白血球除去中、対象からの血液が抽出され、末梢血単核細胞（P B M C）が分離され、血液の残りが対象の循環に戻される。P B M Cは、免疫細胞の試料として凍結、又は凍結保存のいずれかで貯蔵され、例えば、本明細書に記載の修飾などの更なる処理ステップのために提供される。

【0 5 1 3】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の対象を治療する方法は、濃縮及び／又は枯渇、活性化、遺伝子修飾、拡大、製剤化、並びに凍結保存を含む、一連の修飾を含む、対象からの免疫細胞に対する修飾を含む。

【0 5 1 4】

本開示は、例えば、下流の手順、例えば、本明細書に記載の修飾のための対象P B M Cの調製のための当該技術分野で既知の洗浄及び分画方法であり得る濃縮及び／又は枯渇ステップを提供する。例えば、限定されないが、方法は、総赤血球及び血小板汚染物質を除去するためのデバイス、単球の枯渇及びリンパ球の単離のためのサイズベースの細胞分画のためのシステム、並びに／又は例えば、C D 4 +、C D 8 +、C D 2 5 +、若しくはC D 6 2 L + T細胞などの、T細胞の特定のサブセットの濃縮を可能にするシステムを含み得る。濃縮ステップに続いて、更なる処理のために、対象のP M B Cから免疫細胞の標的サブ集団を単離する。当業者は、本明細書で提供される濃縮ステップが、任意の新たに発見される方法、デバイス、試薬、又はそれらの組み合わせも包含し得ることを理解するであろう。

【0 5 1 5】

本開示は、免疫細胞、例えば、それらのエキスピボ拡大に必要なT細胞の活性化を誘導するための当該技術分野で既知の任意の方法であり得る活性化ステップを提供する。免疫細胞活性化は、例えば、対象の免疫細胞を、樹状細胞の存在下で培養すること、対象の免疫細胞を、人工抗原提示細胞（A A P C）の存在下で培養すること、又は照射されたK 5 6 2由来のA A P Cの存在下で免疫細胞を培養することによって達成することができる。対象免疫細胞を活性化するための他の方法は、例えば、単離された活性化要素及び組成物、例えば、ビーズ、表面、又は活性化要素で官能化された粒子の存在下で免疫細胞を培養することであり得る。活性化要素には、例えば、抗体、例えば、抗C D 3抗体及び／又は抗C D 2 8抗体が含まれ得る。活性化要素はまた、例えば、サイトカイン、例えば、インターロイキン（I L）－2又はI L－2 1であってもよい。活性化要素はまた、例えば、C D 4 0、C D 4 0 L、C D 7 0、C D 8 0、C D 8 3、C D 8 6、C D 1 3 7 L、I C O S L、G I T R L、及びC D 1 3 4 Lなどの共刺激分子であってもよい。当業者は、本明細書に提供される活性化要素が、免疫細胞を活性化することができる任意の新たに発見される活性化要素、試薬、組成物、又はそれらの組み合わせも包含し得ることを理解するであろう。

【0 5 1 6】

本開示は、対象の免疫細胞を修飾するための遺伝子修飾ステップを提供する。いくつかの実施形態において、遺伝子修飾は、B 2 M又はH L A－Aに相補的な本明細書に記載されるs h R N Aを含むベクターを用いて免疫細胞を形質導入することを含む。いくつかの

実施形態において、遺伝子修飾は、CRISPR/Cas 媒介ゲノム操作を使用して B2M 又は HLA-A における変異を誘導するように免疫細胞のゲノムを修飾することを含む。いくつかの実施形態において、方法は、免疫細胞を、活性化因子及び抑制性受容体をコードする 1 つ以上のベクターで形質導入することを含み、それによって活性化因子及び抑制性受容体を発現する免疫細胞を産生する。

【0517】

本開示は、遺伝子修飾された対象免疫細胞のための拡大ステップを提供する。遺伝子修飾された対象免疫細胞は、投与のための免疫細胞の治療用量を生成するために、当該技術分野で既知の任意の免疫細胞拡大システムで拡大することができる。例えば、コントローラポンプを含むシステムに使用するためのバイオリアクターバッグ、並びに自動供給及び廃棄物除去を可能にするプローブを、免疫細胞拡大に使用することができる。基部にガス透過性膜を有する細胞培養フラスコが、免疫細胞の拡大のために使用され得る。臨床用途のための免疫細胞の拡大を可能にする当該技術分野で既知の任意のそのようなシステムは、本明細書に提供される拡大ステップに包含される。免疫細胞は、拡大のために特異的に製剤化された培地中の培養系において拡大される。拡大はまた、本明細書に記載の活性化要素の存在下で本開示の免疫細胞を培養することによって促進され得る。当業者は、本明細書で提供される拡大ステップが、免疫細胞を拡大するために使用することができる任意の新たに発見される培養系、培地、又は活性化要素も包含し得ることを理解するであろう。

【0518】

本開示は、拡大した遺伝子修飾された対象免疫細胞のための製剤化及び凍結保存ステップを提供する。提供される製剤化ステップは、例えば、本明細書に記載の治療方法の免疫細胞の調製及び拡大に使用される過剰な成分を洗い流すことを含む。当該技術分野で既知の免疫細胞と適合する任意の薬学的に許容される製剤培地又は洗浄緩衝液を使用して、免疫細胞を洗浄し、希釈／濃縮し、投与用の用量を調製することができる。製剤培地は、例えば、静脈内注入のための晶質液などの免疫細胞の投与のために許容され得る。任意選択で、凍結保存を使用して、免疫細胞を長期間貯蔵することができる。凍結保存は、例えば、細胞を、凍結保存成分を含有する凍結保存培地中に貯蔵することを含む、当該技術分野で既知の方法を使用して達成することができる。凍結保存成分は、例えば、ジメチルスルホキシド又はグリセロールを含むことができる。凍結保存培地中に貯蔵された免疫細胞は、貯蔵温度を -80°C ～ -196°C まで低下させることにより凍結保存することができる。

【0519】

いくつかの実施形態において、治療方法は、対象の HLA 生殖細胞型を決定することを含む。いくつかの実施形態において、HLA 生殖細胞型は、骨髄において決定される。

【0520】

いくつかの実施形態において、治療方法は、MSLN の発現レベルを決定することを含む。いくつかの実施形態において、MSLN の発現レベルは、対象に由来する腫瘍組織試料中で決定される。いくつかの実施形態において、MSLN の発現レベルは、次世代配列決定を使用して決定される。いくつかの実施形態において、MSLN の発現レベルは、RNA 配列決定を使用して決定される。いくつかの実施形態において、MSLN のレベルは、免疫組織化学を使用して決定される。

【0521】

いくつかの実施形態において、治療方法は、治療有効量の HLA-A*02 抑制性受容体を含む免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含み、対象は、HLA 生殖細胞系 HLA-A*02 ヘテロ接合性であり、HLA-A*02 を喪失したがん細胞を有することが決定される。いくつかの実施形態において、治療方法は、治療有効量の HLA-A*01 抑制性受容体を含む免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含み、対象は、HLA 生殖細胞系 HLA-A*01 ヘテロ接合性であり、HLA-A*01 を喪失したがん細胞を有することが決定される。いくつかの実施形態において、治療方法は、治療有効量の HLA-A*03 を含む免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含み、対象は、HLA 生殖細胞系 HLA-A*03 ヘテロ接合性であり、HLA-A

*03を喪失したがん細胞を有することが決定される。いくつかの実施形態において、治療方法は、治療有効量のHLA-A*07抑制性受容体を含む免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含み、対象は、HLA生殖細胞系HLA-A*07ヘテロ接合性であり、HLA-A*07を喪失したがん細胞を有することが決定される。いくつかの実施形態において、治療方法は、治療有効量のHLA-C*07抑制性受容体を含む免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含み、対象は、HLA生殖細胞系HLA-C*07ヘテロ接合性であり、HLA-C*07を喪失したがん細胞を有することが決定される。いくつかの実施形態において、治療方法は、治療有効量のHLA-B*07抑制性受容体を含む免疫細胞を、それを必要とする対象に投与することを含み、対象は、HLA生殖細胞系HLA-B*07ヘテロ接合性であり、HLA-B*07を喪失したがん細胞を有することが決定される。

10

【0522】

様々な実施形態において、本開示は、MSLNを発現し、HLA-A*02発現を喪失した悪性腫瘍を有するヘテロ接合型HLA-A*02患者の治療方法、及び／又はMSLNを発現し、HLA-A*02発現を喪失した再発性切除不能若しくは転移性固形腫瘍を有するヘテロ接合型HLA-A*02成人患者の治療方法を提供する。

【0523】

いくつかの実施形態において、治療有効量の本明細書に記載の免疫細胞が投与される。いくつかの実施形態において、本開示の免疫細胞は、静脈内注射によって投与される。いくつかの実施形態において、本開示の免疫細胞は、腹腔内注射によって投与される。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞、約 1×10^6 個の細胞、約 2×10^6 個の細胞、約 3×10^6 個の細胞、約 4×10^6 個の細胞、約 5×10^6 個の細胞、約 6×10^6 個の細胞、約 7×10^6 個の細胞、約 8×10^6 個の細胞、約 9×10^6 個の細胞、約 1×10^7 個、約 2×10^7 個、約 3×10^7 個、約 4×10^7 個、約 5×10^7 個、約 6×10^7 個、約 7×10^7 個、約 8×10^7 個、約 9×10^7 個、約 1×10^8 個の細胞、約 2×10^8 個の細胞、約 3×10^8 個の細胞、約 4×10^8 個の細胞、約 5×10^8 個の細胞、約 6×10^8 個の細胞、約 7×10^8 個の細胞、約 8×10^8 個の細胞、約 9×10^8 個の細胞、約 1×10^9 個の細胞、約 2×10^9 個の細胞、約 3×10^9 個の細胞、約 4×10^9 個の細胞、約 5×10^9 個の細胞、約 6×10^9 個の細胞、約 7×10^9 個の細胞、約 8×10^9 個の細胞、約 9×10^9 個の細胞、約 1×10^{10} 個の細胞、約 2×10^{10} 個の細胞、約 3×10^{10} 個の細胞、約 4×10^{10} 個の細胞、約 5×10^{10} 個の細胞、約 6×10^{10} 個の細胞、約 7×10^{10} 個の細胞、約 8×10^{10} 個の細胞、又は約 9×10^{10} 個の細胞を含む。

20

30

【0524】

いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞～約 9×10^{10} 個の細胞、約 1×10^6 個の細胞～約 5×10^{10} 個の細胞、約 2×10^6 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞、約 3×10^6 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞、約 4×10^6 個の細胞～約 3×10^9 個の細胞、約 5×10^6 個の細胞～約 2×10^9 個の細胞、約 6×10^6 個の細胞～約 1×10^9 個の細胞、約 0.5×10^6 個の細胞～約 6×10^9 個の細胞、約 1×10^6 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞、約 2×10^6 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞、約 3×10^6 個の細胞～約 4×10^9 個の細胞、約 4×10^6 個の細胞～約 3×10^9 個の細胞、約 5×10^6 個の細胞～約 2×10^9 個の細胞、約 6×10^6 個の細胞～約 1×10^9 個の細胞、約 0.5×10^6 個の細胞～約 6×10^8 個の細胞、約 1×10^6 個の細胞～約 5×10^8 個の細胞、約 2×10^6 個の細胞～約 5×10^8 個の細胞、約 3×10^6 個の細胞～約 4×10^8 個の細胞、約 4×10^6 個の細胞～約 3×10^8 個の細胞、約 5×10^6 個の細胞～約 2×10^8 個の細胞、約 6×10^6 個の細胞～約 1×10^8 個の細胞、約 7×10^6 個の細胞～約 9×10^8 個の細胞、約 8×10^6 個の細胞～約 8×10^8 個の細胞、約 9×10^6 個の細胞～約 7×10^8 個の細胞、約 1×10^7 個の細胞～約 6×10^8 個の細胞、約 2×10^7 個の細胞～約 5×10^8 個の細胞、約 7×10^6 個の細胞～約 $9 \times$

40

50

10^7 個の細胞、約 8×10^6 個の細胞～約 8×10^7 個の細胞、約 9×10^6 個の細胞～約 7×10^7 個の細胞、約 1×10^7 個の細胞～約 6×10^7 個の細胞、又は約 2×10^7 個の細胞～約 5×10^7 個の細胞を含む。

【0525】

いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^5 個の細胞～約 9×10^{10} 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞～約 1×10^{10} 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞～約 1×10^9 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞～約 6×10^8 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^6 個の細胞～約 9×10^{10} 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^7 個の細胞～約 1×10^{10} 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^7 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^7 個の細胞～約 1×10^9 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^7 個の細胞～約 6×10^8 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^8 個の細胞～約 9×10^{10} 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^8 個の細胞～約 5×10^9 個の細胞を含む。いくつかの実施形態において、治療有効量は、約 0.5×10^8 個の細胞～約 1×10^9 個の細胞を含む。治療用量で言及される場合、「約」という用語は、例えば、 $\pm 0.5 \times 10^6$ 個の細胞、 $\pm 0.5 \times 10^7$ 個の細胞、又は $\pm 0.5 \times 10^8$ 個の細胞であり得る。

【0526】

キット及び製品

本開示は、本明細書に記載の受容体をコードするポリヌクレオチド及びベクター、並びに本明細書に記載の受容体を含む免疫細胞を含む、キット及び製品を提供する。いくつかの実施形態において、キットは、バイアル、シリンジ、及び使用説明書などの物品を含む。

【0527】

いくつかの実施形態において、キットは、本開示の1つ以上の受容体をコードする配列を含む、ポリヌクレオチド又はベクターを含む。

【0528】

いくつかの実施形態において、キットは、本明細書に記載の第1及び第2の受容体を含む、複数の免疫細胞を含む。いくつかの実施形態において、複数の免疫細胞は、複数のT細胞を含む。

【0529】

いくつかの実施形態において、キットは、使用説明書を更に含む。

【0530】

実施形態の列挙

本開示は、以下の例示的な列挙された実施形態を参照して理解することができる。

【0531】

1. がん細胞におけるヘテロ接合性の喪失に応答する免疫細胞であって、
 - a. 第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)であって、
 - i. 主要組織適合性複合体クラスI(MHC-I)との複合体におけるがん細胞特異的抗原、若しくはそのペプチド抗原、又は
 - ii. 主要組織適合性複合体クラスI(MHC-I)との複合体におけるメソテリン(MSLN)、若しくはそのペプチド抗原から選択される標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)と、

b. 主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体における、ICAM1、COMT、及びCXCL16から選択される非標的抗原、又はそのペプチド抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体と、を含み、非標的抗原が、多型を含む、免疫細胞。

【0532】

2. 非標的抗原が、ヘテロ接合性（LOH）の喪失によってがん細胞から喪失している、実施形態1に記載の免疫細胞。

【0533】

3. 非標的抗原が、配列番号27と少なくとも95%の同一性を共有するICAM1抗原であり、多型が、配列番号27の469位にK又はEを含む、実施形態1又は2に記載の免疫細胞。

10

【0534】

4. 非標的抗原が、配列番号28と少なくとも95%の同一性を共有するCOMT抗原であり、多型が、配列番号28の158位にV又はMを含む、実施形態1又は2に記載の免疫細胞。

【0535】

5. 非標的抗原が、配列番号29と少なくとも95%の同一性を共有するCXCL16抗原であり、多型が、

a. 配列番号29の142位におけるI又はT、及び

b. 配列番号29の200位におけるA又はVからなる群から選択される、実施形態1又は2に記載の免疫細胞。

20

【0536】

6. 非標的抗原が、非標的細胞において発現される、実施形態1～5のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0537】

7. 非標的細胞が、標的抗原及び非標的抗原の両方を発現する、実施形態1～6のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0538】

8. がん細胞におけるタンパク質の低発現又は無発現に応答する免疫細胞であって、

a. 第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体（CAR）又はT細胞受容体（TCR）であって、

30

i. 主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体におけるがん細胞特異的抗原、若しくはそのペプチド抗原、又は

ii. 主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体におけるMSLN、若しくはそのペプチド抗原から選択される標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体（CAR）又はT細胞受容体（TCR）と、

b. 主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体における、LRRN4及びUPK3Bから選択される非標的抗原、又はそのペプチド抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体と、を含み、非標的抗原が、非標的細胞によるよりも、がん細胞によって低いレベルで発現される、免疫細胞。

40

【0539】

9. 非標的抗原が、がん細胞によって発現されない、実施形態8に記載の免疫細胞。

【0540】

10. 非標的細胞が、標的抗原及び非標的抗原の両方を発現する、実施形態9に記載の免疫細胞。

【0541】

11. 標的抗原が、がん細胞特異的抗原である、実施形態1～10のいずれか1つに記載の免疫細胞。

50

【0542】

12. 標的抗原が、主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体におけるがん細胞特異的抗原のペプチド抗原である、実施形態11に記載の免疫細胞。

【0543】

13. がん細胞が、中皮腫がん細胞、卵巣がん細胞、子宮頸がん細胞、結腸直腸がん細胞、食道がん細胞、頭頸部がん細胞、腎臓がん細胞、子宮がん細胞、胃がん細胞、膵臓がん細胞、肺がん細胞、結腸直腸がん細胞又は胆管がん細胞である、実施形態1～12のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0544】

14. がん細胞が、MSLNを発現する、実施形態1～13のいずれか1つに記載の免疫細胞。

10

【0545】

15. 第1の受容体及び第2の受容体がともに、がん細胞の存在下で免疫細胞を特異的に活性化する、実施形態1～14のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0546】

16. 免疫細胞が、T細胞である、実施形態15に記載の免疫細胞。

【0547】

17. T細胞が、CD8+CD4-T細胞である、実施形態16に記載の免疫細胞。

【0548】

18. MSLNが、配列番号1又は配列番号2と少なくとも95%の同一性を共有する配列を含む、実施形態1～17のいずれか1つに記載の免疫細胞。

20

【0549】

19. 第1の受容体が、T細胞受容体（TCR）である、実施形態1～18のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0550】

20. 第1の受容体が、キメラ抗原受容体（CAR）である、実施形態1～18のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0551】

21. 第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインが、抗体断片、一本鎖Fv抗体断片（scFv）、β鎖可変ドメイン（Vβ）、又はTCR α鎖可変ドメイン及びTCR β鎖可変ドメインを含む、実施形態19又は20に記載の免疫細胞。

30

【0552】

22. 細胞外リガンド結合ドメインが、scFvを含む、実施形態19又は20に記載の免疫細胞。

【0553】

23. scFvが、配列番号3～6からなる群から選択される配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む、実施形態22に記載の免疫細胞。

【0554】

24. scFvが、配列番号3～6からなる群から選択される配列を含むか、又はそれから本質的になる、実施形態22に記載の免疫細胞。

40

【0555】

25. がん細胞におけるヘテロ接合性の喪失に応答する免疫細胞であって、

a. 主要組織適合性複合体クラスⅠ（MHC-Ⅰ）との複合体におけるメソテリン（MSLN）に特異的な細胞外リガンド結合ドメイン、又はそのペプチド抗原を含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体（CAR）又はT細胞受容体（TCR）と、

b. 非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体と、を含み、非標的抗原が、HLA-A*02を含む、免疫細胞。

【0556】

50

26. 第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインが、抗体断片、一本鎖Fv抗体断片(s c F v)、β鎖可変ドメイン(Vβ)、又はTCR α鎖可変ドメイン及びTCR β鎖可変ドメインを含む、実施形態25に記載の免疫細胞。

【0557】

27. 第1の受容体の細胞外リガンド結合ドメインが、s c F vを含む、実施形態25に記載の免疫細胞。

【0558】

28. s c F vが、配列番号3～6からなる群から選択される配列、又はそれと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む、実施形態27に記載の免疫細胞。

【0559】

28. s c F vが、配列番号3～6からなる群から選択される配列を含むか、又はそれから本質的になる、実施形態27に記載の免疫細胞。

【0560】

29. 第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインが、抗体断片、一本鎖Fv抗体断片(s c F v)、β鎖可変ドメイン(Vβ)、又はTCR α鎖可変ドメイン及びTCR β鎖可変ドメインを含む、実施形態25～28のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0561】

30. 第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインが、s c F vを含む、実施形態25～28のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0562】

31. s c F vが、配列番号30～41のいずれか1つと少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%又は少なくとも99%の同一性を有する配列を含む、実施形態30に記載の免疫細胞。

【0563】

32. s c F vが、配列番号30～41のいずれか1つの配列を含むか、又はそれから本質的になる、実施形態30に記載の免疫細胞。

【0564】

33. 第2の受容体の細胞外リガンド結合ドメインが、配列番号42～53からなる群から選択されるCDRを含む、実施形態25～32のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0565】

34. 第2の受容体が、LILRB1細胞内ドメイン又はその機能的バリエントを含む、実施形態25～33のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0566】

35. LILRB1細胞内ドメインが、配列番号65と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態34に記載の免疫細胞。

【0567】

36. 第2の受容体が、LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエントを含む、実施形態25～35のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0568】

37. LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエントが、配列番号74と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態36に記載の免疫細胞。

【0569】

38. 第2の受容体が、LILRB1ヒンジドメイン又はその機能的断片若しくはバリエントを含む、実施形態25～37のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0570】

39. LILRB1ヒンジドメインが、配列番号73、配列番号66、配列番号67、配列番号81～84、又は配列番号90～91と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態38に記載の免疫細胞。

【0571】

10

20

30

40

50

40. 第2の受容体が、LILRB1細胞内ドメイン及びLILRB1膜貫通ドメイン、又はその機能的バリエーションを含む、実施形態25～39のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0572】

41. LILRB1細胞内ドメイン及びLILRB1膜貫通ドメインが、配列番号69、又は配列番号69と少なくとも95%同一の配列を含む、実施形態40に記載の免疫細胞。

【0573】

42. がん細胞が、中皮腫がん細胞、卵巣がん細胞、子宮頸がん細胞、結腸直腸がん細胞、食道がん細胞、頭頸部がん細胞、腎臓がん細胞、子宮がん細胞、胃がん細胞、膵臓がん細胞、肺がん細胞、結腸直腸がん細胞又は胆管がん細胞である、実施形態25～41のいずれか1つに記載の免疫細胞。

10

【0574】

43. がん細胞が、結腸直腸がん細胞である。

【0575】

44. がんが、MSLNを発現する、実施形態25～43のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0576】

45. がん細胞が、HLA-A*02を発現しない、実施形態25～44のいずれか1つに記載の免疫細胞。

20

【0577】

46. 非標的細胞が、MSLN及びHLA-A*02を発現する、実施形態25～45のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0578】

47. 第1の受容体及び第2の受容体がともに、標的細胞の存在下で免疫細胞を特異的に活性化する、実施形態25～46のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0579】

48. 免疫細胞が、T細胞である、実施形態47に記載の免疫細胞。

【0580】

49. T細胞が、CD8+CD4-T細胞である、実施形態48に記載の免疫細胞。

30

【0581】

50. MSLNが、配列番号1と少なくとも95%の同一性を共有する配列を含む、実施形態25～49のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0582】

51. 第1の受容体が、キメラ抗原受容体(CAR)又はTCRである、実施形態25～50のいずれか1つに記載の免疫細胞。

【0583】

52. 治療有効量の実施形態1～51のいずれか1つに記載の免疫細胞を含む、医薬組成物。

【0584】

53. 薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を更に含む、実施形態52に記載の医薬組成物。

40

【0585】

54. がんの治療において医薬として使用するための、実施形態52又は53に記載の医薬組成物。

【0586】

55. ポリヌクレオチド系であって、

a. 第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)であって、

i. 主要組織適合性複合体クラスI(MHC-I)との複合体におけるがん細胞特異

50

的抗原、若しくはそのペプチド抗原、又は

i i . 主要組織適合性複合体クラスⅠ (MHC-Ⅰ) との複合体におけるMSLN、若しくはそのペプチド抗原から選択される標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体 (CAR) 又はT細胞受容体 (TCR)、並びに

b . 主要組織適合性複合体クラスⅠ (MHC-Ⅰ) との複合体における、ICAM1、COMT、及びCXCL16から選択される非標的抗原、又はその抗原ペプチドに特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む、1つ以上のポリヌクレオチドを含み、非標的抗原が、多型を含む、ポリヌクレオチド系。

【0587】

56 . ポリヌクレオチド系であって、

a . 第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体 (CAR) 又はT細胞受容体 (TCR) であって、

i . 主要組織適合性複合体クラスⅠ (MHC-Ⅰ) との複合体におけるがん細胞特異的抗原、若しくはそのペプチド抗原、又は

i i . 主要組織適合性複合体クラスⅠ (MHC-Ⅰ) との複合体におけるMSLN、若しくはそのペプチド抗原から選択される標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体 (CAR) 又はT細胞受容体 (TCR)、並びに

b . 主要組織適合性複合体クラスⅠ (MHC-Ⅰ) との複合体における、LRRN4及びUPK3Bから選択される非標的抗原、又はそのペプチド抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む、1つ以上のポリヌクレオチドを含み、非標的抗原が、非標的細胞によるよりも、がん細胞によって低いレベルで発現される、ポリヌクレオチド系。

【0588】

57 . ポリヌクレオチド系であって、

a . 主要組織適合性複合体クラスⅠ (MHC-Ⅰ) との複合体におけるMSLNに特異的な細胞外リガンド結合ドメイン、又はそのペプチド抗原を含む、第1の受容体、任意選択で、キメラ抗原受容体 (CAR) 又はT細胞受容体 (TCR)、並びに

b . 非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体、任意選択で、抑制性キメラ抗原受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む、1つ以上のポリヌクレオチドを含み、非標的抗原が、HLA-A*02を含む、ポリヌクレオチド系。

【0589】

58 . 実施形態55～57のいずれか1つに記載の1つ以上のポリヌクレオチドを含む、ベクター。

【0590】

59 . 対象において複数のがん細胞を死滅させる、かつ／又はがんを治療する方法であって、有効量の実施形態1～51のいずれか1つに記載の免疫細胞、又は実施形態52～54のいずれか1つに記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法。

【0591】

60 . 複数のがん細胞が、標的抗原を発現する、実施形態59に記載の方法。

【0592】

61 . 複数のがん細胞が、非標的抗原を発現しない、実施形態59又は60に記載の方法。

【0593】

62 . 複数の免疫細胞を作製する方法であって、

a . 複数の免疫細胞を提供することと、

b . 実施形態55～57のいずれか1つに記載のポリヌクレオチド系、又は実施形態58に記載のベクターで複数の免疫細胞を形質転換することと、を含む、方法。

10

20

30

40

50

【0594】

63. 実施形態1～51のいずれか1つに記載の免疫細胞、又は実施形態52～54のいずれか1つに記載の医薬組成物を含む、キット。

【0595】

62. 使用説明書を更に含む、実施形態63に記載のキット。

【実施例】

【0596】

以下の実施例は、例示のみを目的としており、本発明の範囲を限定するものではない。実施例を通して、「遮断因子抗原」という用語は、非標的抗原の実施形態を説明するために使用される。

【0597】

実施例1：差次的に発現した遮断因子の同定

候補遮断因子標的を、バイオインフォマティクスパイプラインを使用して同定した。簡潔に述べると、以下に記載するように、公的に入手可能な発現データベースを、正常な結腸組織と比較して腫瘍において発現の喪失を伴う遺伝子について検索した。これらの遺伝子を、膜タンパク質、及びTCGA-MESOデータセット（中皮腫）における発現についてフィルタリングした。このプロセスの概要を図14に示す。候補遮断因子標的は、健全な組織では中皮で発現されるが、卵巣がん及び膵臓がんを含む、メソテリン（MSLN）陽性がん、並びに肺がん及び結腸直腸がんのおよそ4分の3では発現されない。

【0598】

簡潔に述べると、ヒトタンパク質の全セットをフィルタリングして、予測される細胞表面タンパク質を同定した。これらのタンパク質を、The Cancer Genome Atlas（TCGA）データベースを使用して発現について調べた。候補遺伝子の発現を、中皮腫において調べ、更なる分析のために、発現が、2を超える100万キロベース当たりの転写産物（TPM）、又は試料の50%超で5を超えるTPMの遺伝子を含めた。また、結腸直腸、卵巣、膵臓、及び肺腺がん腫瘍における候補遺伝子の発現も評価し、これらの腫瘍型における発現が、2未満のTPMである遺伝子も更なる分析のために含めた。これらの遺伝子の概要を図1に示す。図2は、正常組織におけるMSLNのRNA発現を示す（Genotype-Tissue Expression、GTExプロジェクト、gtexportal.org/homeからのデータ）。メソテリンは、正常な脂肪、卵管、肺及び唾液腺組織で発現される。したがって、MSLN CAR又はTCR T細胞が、これらの組織を標的にするのを防ぐことができる候補遮断因子も、MSLNを発現する健全な組織で発現されるべきである。

【0599】

腫瘍と正常組織におけるMSLN発現を調べた（図3、TCGAデータベース）。様々な細胞株におけるMSLN発現も調べた（図4、Cancer Cell Line Encyclopedia、又はCCLE）。図4に示す発現の細胞株ランク順序は、図3に見られるMSLN腫瘍ランク発現と概ね相関していた。

【0600】

LRRN4及びUPK3Bを、候補遮断因子標的として同定した。図5は、GTExポータル（www.gtexportal.org/home/）からの正常組織におけるLRRN4発現を示し、一方、図6及び図7は、TCGA試料におけるLRRN4発現を示し、図8は、CCLE細胞株におけるLRRN4発現を示す。図5～図7において見るように、MSLNと同様に、LRRN4は、脂肪及び肺組織において高度に発現される。更に、LRRN4は、複数のロイシンリッチリピート（LRR）及びフィブロネクチンIII型ドメインを含有する大きな細胞外ドメインを有する（図9）。

【0601】

実施例2：ヘテロ接合性の喪失に起因してがん細胞内で喪失した候補遮断因子標的の同定
ヘテロ接合性の喪失に起因してMSLN陽性がんにおいて喪失する候補遮断因子標的を、バイオインフォマティクスパイプラインを使用して同定した。

【0602】

以下のデータベースを使用して、候補遮断因子標的を同定した：公開、集団頻度、分子結果、及びゲノムマッピング情報と併せたdbSNP、ヒト一塩基多様性並びに小規模の挿入及び欠失を含む一塩基多型のデータベース。一般的なバリエーションは、少なくとも1つの主要集団において0.01以上のマイナー対立遺伝子頻度(MAF)を有し、NCBIにおいてマイナー対立遺伝子を有する少なくとも2つの無関係な個体を有すると定義された。0.1以上のMAFを、一般的なバリエーションについての基準として使用した。Uniprot(The Universal Protein Resource)は、EMBL-EBI、SIB、及びPIRによってホストされるタンパク質配列及び注釈データについてのリソースとして使用した。GTEx(The Genotype-Tissue Expression)は、組織特異的な遺伝子発現及び調節についての公的リソースとして使用した。これは、約1000人の個体にわたる54の非疾患組織部位からの試料を含有する。TCGA(The Cancer Genome Atlas)を、20,000を超える原発性がんについてのリソースとして使用し、33種類のがんにわたる正常な試料を一致させた。CCLE(Cancer cell line Encyclopedia)は、57の結腸直腸がん(CRC)細胞株に関する情報を含む。Xena UCSCは、TCGA及びGTEx発現データ(FPKM)を再正規化した。Broad GDAC Firehose Legacyデータを、コピー番号分析に使用した。

10

【0603】

NCBI dbSNPデータベースをダウンロードし、一般的なバリエーションを検索した。ヘテロ接合性の喪失が高い(0.5以上)腫瘍コピー数ポータル内の検索に基づいて同定された染色体のバリエーションのみが含まれ、0.1未満のマイナー対立遺伝子頻度を有するバリエーションが除去された。VEP(バリエーション効果予測因子)を使用して、タンパク質コード領域にあるミスセンスバリエーションをフィルタリングした。中皮腫において高度に発現されない遺伝子であるような、膜貫通ドメインを有しない遺伝子を除去した(TCGA-MESO発現レベル<5TPM)。LOH頻度が、0.5以下の遺伝子を除去した。遺伝子は、ゴルジ、ER、核、細胞質、ミトコンドリア、ヘリックス、リソソームを発現し、そしてプロペプチドを除去した。LOH頻度を、TCGAコピー数ポータルにおいて確認した。

20

【0604】

フィルタを通過した遺伝子を、Ensembl Genome Browser又はVEP分析出力における他のバリエーション、並びに遺伝子内のバリエーションの位置について確認した。11個の遺伝子が、全てのフィルタを通過した。このプロセスの概要を図13に示す。

30

【0605】

ICAM1、COMT及びCXCL16を標的とする候補遮断因子を同定した。ICAM1、COMT及びCXCL16についての様々ながんにおけるLOHの頻度の概要として、以下の表17に示す。

40

50

【表 17】

表 17 : LOH の頻度

			LOH 頻度	
		ICAM1	COMT	CXCL16
卵巣 (全て)		0.33	0.64	0.74
脾臓 (全て)		0.15	0.25	0.48
中皮腫 (全て)		0.09	0.7	0.21
肺 (3/4)		0.46	0.3	0.58
結腸直腸 (3/4)		0.12	0.33	0.58
血液がん				0.1
AML				0.07
バリエーション		K/E	V/M	I/T
MAF		0.36	0.37	0.46

10

【表 18】

表 18 : ICAM1、COMT 及び CXCL16 バリエーションの概要

遺伝子名	バリエーション	タンパク質位置	変更	MAF
CXCL16	rs2277680, rs1050998	1. 200, 2. 142	1. A/V, 2. I/T	1. 0.4615, 2. 0.4633
COMT	rs4680	158	V/M	0.369
ICAM1	rs5498	469	K/E	0.359

20

【0606】

実施例 3 : 遮断因子リガンド結合ドメインの同定

C D R 配列が未知である場合、候補の遮断因子抗原に対する公的に入手可能な抗体が配列決定される。候補の遮断因子標的に対する抗体が入手可能でない場合、これらの抗体は、精製されたタンパク質（例えば、ICAM1、CXCL16、及び COMT1）を用いたマウス、ラット、又はウサギの免疫化によって生成される。免疫化動物からの血清を使用して、mAb が遮断因子標的に結合するかどうかをスクリーニングする。遮断因子標的に対する抗体もまた、huTARG（商標）系を使用して生成される。次いで、所望の特異性を有する抗体を単離し、配列決定して、C D R 配列を決定する。

【0607】

抗体から遮断因子標的までの C D R 配列を使用して、標準的な分子生物学的技術を使用して s c F v を生成する。候補の s c F v は、抑制因子受容体ヒンジ又は膜貫通ドメインに融合され、標準的な分子生物学的技術を使用して抑制性受容体を生成する。候補の s c F v はまた、活性化因子受容体ヒンジ又は膜貫通ドメイン（例えば、CAR）に融合され、標的抗原に結合する s c F v についての陽性対照として使用するための全長活性化因子受容体を生成する。抑制性受容体の状況において作用する候補 s c F v の能力を、NFAT-ルシフェラーゼレポーターアッセイを使用して Jurkat 細胞においてアッセイする。

30

40

【0608】

実施例 4 : HLA-A*02 遮断因子は、MSLN 活性化因子により媒介される Jurkat 細胞の活性化を遮断することができる

50

細胞培養

N F A TルシフェラーゼレポーターをコードするJ u r k a t細胞を、B P S B i o s c i e n c eから入手した。培養において、J u r k a t細胞を、10% F B S、1% P e n / S t r e p、及び0.4mg/mLのG 4 1 8 / ジェネテシンを補充したR P M I培地中に維持した。この研究で使用した全ての他の細胞株は、A T C Cから入手し、A T C Cによって示唆されるように維持した。

【0609】

J u r k a t細胞トランスフェクション

J u r k a t細胞を、以下の設定：3パルス、1500V、10msecを使用して、製造業者のプロトコルに従って、100uLフォーマットのネオンエレクトロポレーションシステム（T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c）により一過性にトランスフェクトした。同時トランスフェクションを、1e6細胞当たり1~3ugの活性化因子C A R又はT C R構築物、及び1~3ugの遮断因子構築物又は空のベクターで実施し、20%の熱不活性化F B S及び0.1%のP e n / S t r e pを補充したR P M I培地中で回収した。

【0610】

J u r k a t-N F A Tルシフェラーゼ活性化研究

J u r k a t細胞を、10%熱不活性化F B S及び0.1%P e n / S t r e pを補充した15uLのR P M I中に再懸濁させ、ペプチド装填ビーズに添加し、6時間共培養した。J u r k a t発光を評価するために、O N E - S t e p L u c i f e r a s e A s s a y S y s t e m（B P S B i o s c i e n c e）を使用した。アッセイは、技術的な複製で行った。

【0611】

初代T細胞形質導入、拡大、及び濃縮

凍結したP B M Cを37℃の水浴中で解凍し、1%のヒト血清を含むL y m p h o O N E（T a k a r a）中の1e6細胞/mLで培養し、I L - 1 5（10ng/mL）及びI L - 2 1（10ng/mL）を補充した1:100のT細胞T r a n s A c t（M i l t e n y i）を使用して活性化した。24時間後、レンチウイルスを、5のM O IでP B M Cに添加した。P B M Cを更に2~3日間培養して、細胞がT r a n s A c t刺激下で増殖することを可能にした。拡大後、活性化因子及び遮断因子形質導入初代T細胞を、製造業者の指示に従って抗P Eマイクロビーズ（M i l t e n y i）を使用して濃縮した。簡潔に述べると、初代T細胞を、M A C S緩衝液（P B S中の0.5%のB S A + 2mMのE D T A）中で4℃で30分間、1:100希釈のC D 1 9 - F c（R & D S y s t e m s）とインキュベートした。細胞を、M A C S緩衝液中で3回洗浄し、M A C S緩衝液中で4℃で30分間、二次抗体（1:200）中でインキュベートした。次いで、細胞を、抗P Eマイクロビーズ中でインキュベートし、L Sカラム（M i l t e n y i）に通した。

【0612】

初代T細胞のインビトロ細胞傷害性研究

p M H C標的を用いた細胞傷害性研究のために、濃縮された初代T細胞を、ウミシイタケルシフェラーゼ（B i o s e t t i a）、及びG F P又はR F Pを発現するS i H a又はH e L a細胞とインキュベートした。生きたルシフェラーゼ発現S i H a又はH e L a細胞を、ウミシイタケルシフェラーゼレポーターアッセイシステム（P r o m e g a）を使用して定量化した。濃縮した初代T細胞を、S i H a若しくはH e L a（「腫瘍」細胞）又はH L A - A * 0 2形質導入S i H a若しくはH e L a細胞（「正常」細胞）とインキュベートした。G F P又はR F P及びウミシイタケルシフェラーゼ（B i o s e t t i a）を安定に発現するW T「腫瘍」S i H a若しくはH e L a細胞、又はR F P及びルシフェラーゼ（B i o s e t t i a）を安定に発現するH L A - A * 0 2「正常」S i H a若しくはH e L a細胞を、I n c u C y t e生細胞イメージャーを使用して、標識されていない初代T細胞とともに画像化した。

【0613】

MSLN CAR活性化因子及びpMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体を発現するJurkatエフェクター細胞の活性化を、NFATルシフェラーゼアッセイを使用してアッセイした。

【0614】

Jurkat細胞を、1:4の比の活性化因子:遮断因子DNAでトランスフェクトし、無細胞ビーズベースのアッセイにおいて活性化をアッセイした(図10A)。ビーズに、活性化因子抗原、又は活性化因子及び遮断因子抗原のいずれかを充填し、ビーズ対Jurkat細胞の比を変化させた。無細胞ビーズベースのアッセイでは、pMHC HLA-A*02 scFv LIR-1ベースの抑制性受容体は、細胞をシスでpMHC HLA-A*02遮断因子及びMSLN活性化因子を担持するビーズと接触させたときに、Jurkat細胞の活性化を遮断することができた。ビーズ上のpMHC HLA-A*02遮断因子の存在は、MSLN CARのEMAXを12倍以上シフトすることができた(図10A)。

10

【0615】

1:4のDNA比で同じ活性化因子及び遮断因子でトランスフェクトした活性化Jurkat細胞を、慢性骨髄性白血病細胞株K562を使用して活性化のためにアッセイした。K562は、活性化因子抗原であるMSLNを発現する。活性化因子及び遮断因子抗原(MSLN+HLA-A*02+)の両方を発現させるためにHLA-A*02で形質導入したK562細胞、並びに活性化因子を発現したが、遮断因子抗原を発現しなかった非形質導入K562(MSLN+HLA-A*02-)に対するJurkatエフェクター細胞の応答をアッセイした。図10Bで見ることができるよう、K562細胞によるHLA-A*02+の発現は、MSLN CAR EMAXを5倍超シフトすることができた。

20

【0616】

MSNL scFv CARを介した活性化を遮断するpMHC HLA-A*02抑制性受容体の能力も、エフェクター初代T細胞及びSiHa又はHeLa標的細胞を使用してアッセイした。SiHa及びHeLa細胞は、内因的にMSLNを発現し、HLA-A*02抑制性受容体標的を発現するように形質導入した。初代エフェクターT細胞の活性化を、IFN γ の倍率誘導を調べることによってアッセイした。図11に示すように、pMHC HLA-A*02 LIR-1抑制性受容体は、HLA-A*02を発現するSiHa又はHeLa標的細胞を初代T細胞に提示したときに、初代T細胞の活性化を遮断することができた(それぞれ、10倍及び5倍超の阻害)。

30

【0617】

pMHC HLA-A*02抑制性受容体はまた、MSLNを発現したが、HLA-A*02を発現しなかったSiHa細胞をT細胞に提示したときに、MSLN scFv CAR及びpMHC HLA-A*02 LIR-1抑制性受容体の両方を発現するT細胞による死滅を阻害することができた(図12)。

【0618】

実施例5:HLA-A*02遮断因子は、K562及びHeLa標的細胞を使用してMSLNに向けられたMSLN CAR活性化因子を阻害する細胞培養

40

MSLN CAR活性化因子及びHLA-A*02 LIR-1抑制性受容体を、Jurkatエフェクター細胞及びK562標的細胞を使用して調べた(図15A)。遮断因子標的であるHLA-A*02を発現するHeLa細胞を死滅させる、MSLN CARを発現するMSLN CAR T細胞(2つの異なるMSLNリガンド結合ドメインを有する)の能力もアッセイした(図15B~図15C)。MSLNリガンドは、100,000個のエピトープ/細胞の領域に拡張することができる表面抗原を表す。一過性トランスフェクションアッセイにおいて異なるDNA濃度を使用して、A対Bのモジュール発現の比を変化させた。活性化因子及び抑制性受容体系は、低及び高標的密度に対応するのに十分な柔軟性を有し、原則として、pMHC標的及び非pMHC表面抗原についての最適化を可

50

能にする。

【0619】

NFATルシフェラーゼレポーターをコードするJurkat細胞を、BPS Bioscienceから入手した。この研究で使用した全ての他の細胞株は、ATCCから入手した。培養において、Jurkat細胞を、10% FBS、1% Pen/Strep、及び0.4 mg/mLのG418/ジェネテシンを補充したRPMI培地中に維持した。K562及びHeLa細胞を、ATCCによって示唆されるように維持した。

【0620】

MSLN抗原結合ドメイン

MSLN活性化CAR scFvは、Beatty, et al. WO2015/090230A1に記載されているヒトM5 (LBD1)、並びにBioLuminate, 2019 (BioLuminate, version 3.6, version 3.6 ed. Schrodinger, LLC, New York, NY) 及びUS6,809,184B1に記載されているヒト化SS1 (LBD2) から派生した。

【0621】

Jurkat細胞のトランスフェクション及び活性化

Jurkat細胞を、以下の設定：3パルス、1500V、10msecを使用して、製造業者のプロトコルに従って、100uLフォーマットのネオンエレクトロポレーションシステム (Thermo Fisher Scientific) により一過性にトランスフェクトした。同時トランスフェクションを、1e6細胞当たり1~3ugの活性化因子構築物、及び1~3ugの遮断因子構築物又は空のベクターで実施し、20%の熱不活性化FBS及び0.1%のPen/Strepを補充したRPMI培地中で回収した。遮断因子表面発現を確認するために、Jurkat細胞を、1% BSAを含むPBS中で4℃で60分間の、10ug/mLのストレプトアビジン-PE-HLA-A*02-pMHC四量体でのトランスフェクションの18~24時間後に染色し、フローサイトメトリー (BD FACS Canto II) によって特徴付けた。Jurkat細胞活性化を、実施例4に記載されるNFATルシフェラーゼアッセイシステムを使用して評価した。

【0622】

初代T細胞形質導入、拡大、及び濃縮

Leukopaksは、AllCells (登録商標) から購入した。収集プロトコル及びドナーのインフォームドコンセントは、厳格な監督の下、施設内審査委員会 (IRB) によって承認された。HIPAAコンプライアンス及び承認されたプロトコルにも従った。実施例4に記載されるように、凍結PBMCを解凍し、培養した。細胞を、各レンチウイルス、すなわち、活性化因子又は遮断因子受容体を含むレンチウイルスベクターについて、MOI=5で同時に同時形質導入した。PBMCを更に2~3日間培養して、細胞がTransAct刺激下で増殖することを可能にした。拡大後、活性化因子及び遮断因子形質導入初代T細胞を、製造業者の指示に従って抗PEマイクロビーズ (Miltenyi) を使用して陽性選択によって遮断因子-陽性T細胞を濃縮した。簡潔に述べると、初代T細胞を、MACS緩衝液 (PBS中0.5% BSA+2mMのEDTA) 中で4℃で60分間、10ug/mLのストレプトアビジン-PE-HLA-A*02-pMHC四量体とインキュベートした。細胞をMACS緩衝液中で3回洗浄し、LSカラム (Miltenyi) を通して、遮断因子-陽性細胞 (遮断因子のみ及び活性化因子+遮断因子細胞の混合物) を、形質導入されていない細胞及び活性化因子のみの細胞から分離した。

【0623】

初代T細胞のインビトロ細胞傷害性研究

pMHC標的を用いた細胞傷害性研究のために、濃縮された初代T細胞を、ウミシイタケルシフェラーゼ (BioSetta) を発現するK562又はHeLa標的細胞とインキュベートした。HLA-A*02陽性であった標的細胞もGFP及びホタルルシフェラーゼ (BioSetta) を発現し、HLA-A*02陰性であった標的細胞は、RFP及びホタルルシフェラーゼを発現した。標的細胞を、Incucyte生細胞イメー

10

20

30

40

50

ジャーを使用して、標識されていない初代T細胞とともに画像化した。経時的な生きた標的細胞の蛍光強度を、Incucyteイメージングソフトウェアを使用して定量化した。

【0624】

実施例6：第2及び第3世代CARアーキテクチャ並びにHLA-A*02遮断因子におけるマウスSS1 MSLN抗原結合ドメイン活性化因子

最初は、MSLNを標的とするヒト化M5及びSS1 scFvを、第3世代CARアーキテクチャ（CD28、4-1BB及びCD3ゼータ）とともに使用した。マウスSS1 scFv抗原結合ドメイン、及び第2世代CARアーキテクチャ（4-1BB及びCD3ゼータ細胞内ドメイン）を使用した効果をアッセイした。

【0625】

HLA-A*02ドナーT細胞を、PA2.1抗原結合ドメインを使用して、MSLN第3世代CAR活性化因子（CD28、4-1BB及びCD3ゼータ細胞内ドメインを有するCAR）及びHLA-A*02 scFv LIR-1遮断因子で形質導入した。ヒト化M5、ヒト化SS1、及びマウスSS1 scFvを有するMSLN CAR活性化因子をアッセイした（表1）。HLA-A*02遮断因子配列は、表5に記載されている。T細胞を、実施例4及び5に記載されるように、活性化因子及び／又は遮断因子構築物で形質導入し、培養し、濃縮した。T細胞を形質導入後14日目に使用し、1：1のエフェクター：標的比でMSLN+HeLa標的細胞と培養した。細胞傷害性を、実施例4及び5に記載されるようにアッセイした。図16は、HeLa細胞もHLA-A*02を発現したときに、抑制因子受容体が、MSLN第3世代CARを発現するT細胞によるHeLa細胞の死滅を効果的に遮断することができたことを示す。更に、図16は、マウスSS1第3世代CAR（右上のプロット、ボックスで囲まれている）が、ヒト化M5及びヒト化SS1 CARよりも良好なウィンドウを提供することを示す。図16において、C-0883は、陽性対照として使用されるHLA-A*02 CARであり、追加の配列は表19に記載されていることに留意されたい。

【0626】

MSLN活性化因子及びHLA-A*02 LIR1遮断因子を発現するT細胞が、MSLN+HLA-A*02-Capan細胞を選択的に死滅させる能力もアッセイした（図17）。T細胞を、実施例4及び5に記載されるように、活性化因子及び／又は遮断因子受容体構築物で形質導入し、培養し、濃縮した。T細胞を形質導入後14日目に使用し、1：1のエフェクター：標的比でCapan標的細胞と培養した。細胞傷害性を、実施例4及び5に記載されるようにアッセイした。図17は、Capan細胞もHLA-A*02を発現したときに、抑制因子受容体が、MSLN第3世代CARを発現するT細胞によるCapan細胞の死滅を効果的に遮断することができたことを示す。

【0627】

マウスSS1 MSLN1 scFvも、第2世代CAR（4-1BB及びCD3ゼータ細胞内ドメインを有するCAR）においてアッセイした。図18は、mSS1第2世代CARを発現するT細胞による、MSLN+HLA-A*02+HeLa細胞、及びHCT116野生型細胞（MSLN及びHLA-A*02の両方を天然に発現する）の死滅が、HLA-A*02 scFv LIR-1抑制性受容体によって効果的に遮断されたことを示す。図18から見るように、第2世代mSS1 CARは、BB7.2 scFv抗原結合ドメインを有する抑制性受容体によるよりも、PA2.1 scFv抗原結合ドメインを有する抑制性受容体によってより効果的に遮断された。抑制性受容体における短い及び長いLIR-1ヒンジ配列の効果、並びにHLA-A*02 scFvにおけるVH及びVLドメインの配置もアッセイした。

【0628】

マウスSS1 scFvを用いた第2世代CARの発現も、FACSにより確認し、その結果を図19に示す。SS1抗原結合ドメインを、組換え可溶性MSLNリガンドを使用して染色した。

10

20

30

40

50

【表 19 - 1】

表 19 : 構築物の配列

名称	アミノ酸配列	ヌクレオチド配列
PA2.1.14 (VL:VH) scFv LIR1 sHTICD	TEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSHVPRTFGQGT KVEVKGGGGSGGGSGGGSGGGQVQLVQSGA EVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYHHWVRQAP GQGLEWIGWIYPGNVNTEYNEKFKGKATITAD ESTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCAREEITYAM DYWGQGTLVTVSSVSGPSGGPSSPTTGPTSTS GPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVIL LLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTQRKADFQHP AGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAA VKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVK HSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQM DTEAAASEAPQDVITYAQLHSLTLRREATEPPPS QEGPSPAVPSIYATLAIH (配列番号 85)	(配列番号 1252)
PA2.1.14 (VL:VH) scFv LIR1 HTICD	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRSSQSIVHSNG NTYLEWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSQV FSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCFQGSHVP RTFGQGTKEVKGGGGSGGGSGGGSGGGQV QLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTSYHH WVRQAPGQGLEWIGWIYPGNVNTEYNEKFKG KATITADESTNTAYMELSSLRSEDVAVYYCARE EITYAMDYWGQGTLVTVSSYGSQSSKPYLLTH PSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQPLT PTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLLLLLL FLILRHRRQGKHWSTQRKADFQHPAGAVGPE PTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPED GVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRREM ASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAAASE APQDVITYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSPAV PSIYATLAIH (配列番号 86)	(配列番号 1253)

10

20

30

40

50

【表 19 - 2】

MSLN_SsI CD8_HT 41BB CD3z	QVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYT MNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGASSYNQKFR GKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCA RGGYDGRGFDYWQGTTVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSDIELTQSPAIMSASPGKVTMTCSASSS VSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPG RFSGSGSGNSYSLTISSEVAEDDATYYCQQWSG YPLTFGAGTKLEITTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAG TCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSAD APAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRG RDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQUALPPR (配列番号 87)	(配列番号 1254)
PA2.1.14 scFv LIR1 sHTICD	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSY HHHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGNVNTHEYNEKF KGKATITADESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYC AREEITYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRS SQSIVHSNGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYKVS NRFSGVPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCFQGSHVPRTFGQGTKVEVKVVSGPSGGPSSP TTGPTSTSGPEDQPLIPTGSDPQSGLGRHLGVVI GILVAVILLLLLLLLLLFLILRHRRQGKHWSTQR KADFQHPAGAVGPEPTDRGLQWRSSPAADAQE ENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSPHDEDPQAVT YAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAE EDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREA TEPPPSQEGPSPAVPSIYATLAIH (配列番号 88)	(配列番号 1255)

10

20

30

40

50

【表 19-3】

PA2.1.14 scFv LIR1 HTICD	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSY HHHWVRQAPGQGLEWIGWIYPGNVNTHEYNEKF KGKATITADESTNTAYMELSSLRSEDTAVYYC AREEITYAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRS SQSIVHSNGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYKVS NRRSGVPPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCFQGSHPRTFGQGTKVEVKYGSQSSKPYLL THPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTSGPEDQ PLTPTGSDPQSGGLGRHLGVVIGILVAVILLLLL LLLFLILRHRRQGHWTSTQRKADFQHPAGAV GPEPTDRGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQ PEDGVEMDTRSPHDEDPQAVTYAEVKHSRPRR EMASPPSPLSGEFLDTKDRQAEEDRQMDTEAA ASEAPQDVITYAQLHSLTLRREATEPPPSQEGPSP AVPSIYATLAIH (配列番号 89)	(配列番号 258)

10

20

【0629】

実施例 7：遮断活性に対する LIR-1 ヒンジの効果のアッセイ

上記の Jurkat NFATシフェラーゼアッセイを使用して、KRAS TCR 活性化因子を発現する Jurkat 細胞による死滅を遮断する HLA-A*02 scFv LIR-1 抑制性受容体の能力に対する異なる LIR-1 ヒンジの効果のアッセイした。ヒト化 PA2.1 scFv LIR-1 受容体及びより短い LIR-1 ヒンジを有するヒト化 BB7.2 scFv LIR-1 を、前述のように Jurkat 細胞においてアッセイし、その結果を図 20A～図 20B に示す。Jurkat 細胞を、様々な LIR-1 由来のヒンジ、上記の方法を用いて、KRAS TCR 活性化因子受容体及び／又は HLA-A*02 scFv LIR-1 抑制性受容体（ヒト化 PA2.1 又はヒト化 BB7.2）でトランスフェクトし、HLA-A11 陽性、又は HA-A11 及び HLA-A*02 陽性のいずれかであった T2 標的細胞と共培養した。より短い及びより長いヒンジの両方を有する抑制性受容体は同様に挙動した（図 20A～図 20B）。マウス PA2.1 scFv 及びわずかに長いヒンジを有する抑制性受容体もまた、T2-Jurkat アッセイにおいて、より短い LIR-1 ヒンジと同様に機能するアッセイを行った（図 21A～図 21B）。ヒンジ配列は、図 20B 及び図 21B に黒で示され、灰色の SS は、抗原結合ドメインとヒンジとの間のリンカーを表し、灰色の VIGIL は、LIR-1 膜貫通ドメインの開始を表す。抑制性受容体のヒンジ、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインは、全て LIR-1 から派生した。図 20A～図 20B 及び図 21A～図 21B は、LIR-1 抑制性受容体に悪影響を及ぼすことなく、LIR-1 ヒンジの長さを変化させることができることを示す。より短いヒンジは、LIR-1 抑制性受容体をコードする核酸配列を、送達のためにレンチウイルスベクター内にパッケージングするときに利点を提供することができる。

30

40

【0630】

実施例 8：新しい抗 MSLN 抗体の同定

メソテリン (MSLN) は、肺がん及び他の多くの固形腫瘍において発現される古典的な腫瘍関連抗原である。しかしながら、MSLN はまた、重要な内臓の表面を取り囲み、

50

潤滑する正常な中皮においても発現される。この正常発現は、MSLN指向治療についての重篤な炎症の重大なリスクを引き起こす。この実施例は、がん細胞におけるHLA遺伝子座における共通のLOHを利用して、T細胞が腫瘍と正常組織との違いを認識することを可能にする二重受容体(Tmod)系を説明する。この実施例に記載されるMSLN CAR Tmod構築物を用いて操作したT細胞は、以下を含有する。(i) MSLN活性化CAR、及び(ii) HLA-A*02によってゲーティングされた抑制性受容体。理論に拘束されることを望まないが、Tmod系は、インビトロ及び異種移植モデルにおける混合細胞集団においてさえ、「正常」細胞を堅牢に保護する。MSLN CARは、他のHLAクラスI遮断因子と対合することもでき、HLA-A*02ヘテロ接合体を超えた患者へのアプローチの拡張を支持する。MSLN CAR Tmod構築物によって例示されるTmod機構は、以前に可能な場合よりも安全で、より効果的な方式でMSLNなどの固形腫瘍抗原を活用するための代替経路を提供することができる。メソテリン(MSLN)は1992年にがん標的として提案されたが[1]、MSLNを利用した有効な治療法はまだ存在していない。それは、ほとんどの中皮腫で発現されるだけでなく、卵巣、子宮頸部、子宮、胃、膵臓、及び肺腺がんの多くのサブセットでも発現される[2]。正常な成人では、MSLNは中皮にのみ存在し、この組織自体は必須ではない可能性がある[2、3]。しかしながら、MSLNを標的とする免疫療法は、重要な内臓を取り囲むMSLN(+)中皮細胞に対する炎症発作のリスクを有する[4]。MSLNを対象とするいくつかの研究用治療薬、例えば、免疫毒素コンジュゲート[5、6]、抗体-薬物コンジュゲート[7]、二重特異性抗体[8]、CAR-T[9]、及びハイブリッドTCR-scFv[10]が試験されている。これまでに全身投与された有効な治療薬は全て毒性があった。最近、胸膜内注入を介してMSLN CAR-Tを送達するアプローチが報告されている[11]。

【0631】

この実施例は、治療薬の局所投与に依存するのではなく、代わりにLOHを利用する、MSLN(+)がんを治療するための例示的な方法を説明する。このアプローチは、MSLN標的化CARを、HLA-A*02対立遺伝子を発現する正常細胞に対するエフェクター機能を遮断するLIR-1ベースの抑制性受容体と対にすることによって、正常組織に対する全身毒性を回避することを目的とする(図22A~22B)。この二重受容体構築物は、MSLN(+)腫瘍中にHLA-A*02対立遺伝子のLOHを有する遺伝的に定義されたがん患者を治療することを意図する。LOHによって引き起こされる腫瘍対正常組織におけるHLA-A*02発現の差異は、腫瘍死滅のための高い選択性を付与すると考えられるエフェクター細胞へのオール・オア・ナッシング入力を生じさせる。

【0632】

結果

強力な選択的MSLN CARの単離及び特徴付け

CARにおいて機能する強力な選択的MSLN指向性リガンド結合ドメイン(LBD)を同定するために、IgG抗体(mAb)又はscFvのいずれかをコードする哺乳動物表面ディスプレイライブラリーをスクリーニングした(図23A~図23B)。蛍光色素で標識した可溶性ビオチン化MSLNをプローブとして使用して、FACSを介してMSLNのために染色したライブラリー中の細胞を濃縮した。陰性プローブとして、可溶性CEA及びEGFRの混合物を使用して、非特異的結合特性を有するmAb又はscFvをコードする細胞を枯渇させた。MSLN結合のための2ラウンドの濃縮の後、62個の個々のLBDを選択し、scFv CARに変換し、Jurkat細胞における表面発現について確認し、固体状態Jurkat細胞アッセイにおける機能活性について評価した(図23C~図23D)。このステップにより、更なる機能的特徴付けのために、最も感受性の高い選択的結合剤のサブセットの選択が可能になった。

【0633】

62個の結合剤のほとんどが、細胞表面に提示されるMSLNに対する機能的応答をもたらしたが、6個を更なる特徴付けのために選択し、配列結合剤CDR(重鎖(HC))C

DR及び軽鎖（LC）CDR）を、表2、表3（重鎖；VH）及び表4（軽鎖；VL）に提供する。各場合において、HC-CDR又はVHは、重鎖及び軽鎖が類似性を共有するため、所望の発現及び結合活性を確認するために日常的な試験を用いて、LC-CDR又はVLのいずれかと対合され得る。

【0634】

一本鎖可変断片（scFv）は、VHセグメントとVLセグメントとの間にリンカー（例えば、GGGSGGGSGGGSGGGSGGG（配列番号152）又は別の好適なリンカー）を挿入することによって生成されて、VH-VL scFvを形成することができるか、又はVL-VH scFvが代替的に構築され得る。軽鎖は高い配列類似性を有し、完全な抗体を生成するためのVL及びVHの対合は、過度の実験なしに決定されている。例示的なscFvを表1に提供し、例示的な重鎖及び軽鎖を表3及び4に提供し、例示的なCDR配列を表2に提供する。MSLN scFvを使用する例示的なキメラ抗原受容体の配列を、以下の表20として提供する。

【表20-1】

表20：一本鎖可変断片（scFv）を含む受容体の配列

#	配列番号	受容体配列
1	286	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDLPLKLRNFHIWGQGTILVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
2	287	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEYSVAISSNGGSTYYANSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMGSRLRAEDMAVYYCASLEYHGFQRQYGLRYWHWGQGTILVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 2】

#	配列 番号	受容体配列
3	288	QLQLQESGSGLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQPPGKGLEWIG YIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDRSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIKF WFAGINYFFPWGQGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
4	289	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYWMHWVRQAPGKGLVWV SRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAS GFLGMGNSFIWGQGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
5	290	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHHPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSLVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASG DRARYFDLWGRGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20-3】

#	配列 番号	受容体配列
6	291	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWV SRINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YPRGYHQMVDAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLV VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQP YAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
7	292	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYWGWRQPPGKGLEWIG SIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRF LAARTTIPEANFLWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVG VLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAP PRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR
8	293	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVS YISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV LSRARFDYWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 4】

#	配列 番号	受容体配列
9	294	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVS SISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLR GRVFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYS LLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA YRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
10	295	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWRQPPGKGLEWIG SIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARIKF TSFLYVHGFLWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
11	296	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYAMHWVRQAPGQRLEW MGWINAGNGNTKYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYC ARGQRWLYLGGIRRHWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMT QSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQ GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLV VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYP YAPPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 5】

#	配列 番号	受容体配列
12	297	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLICTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYI YYSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREWIPS RPYYFDYWGGQTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSAS VGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
13	298	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARES TGTGAFDIWGGQTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC Y SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
14	299	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMSWVRQAPGKGLEWV SGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCA RERYRRVLHWYFDLWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVITTCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGKVEIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPY APPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 6】

#	配列 番号	受容体配列
15	300	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWM GWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYC AREPDADFIDWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
16	301	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARE HMGITIPYYFDYWGGTILTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPR DFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL R VKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR
17	302	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREE FGYGDVLYWGQGTILTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 7】

#	配列 番号	受容体配列
18	303	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRTVISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARE DVVKGAFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
19	304	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVS YISSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARE DFSHKLGTFQHWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGVL ACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPR DFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELR VKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR
20	305	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD YDYVWVGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSLSASVG DRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGS GTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKEIKTTTPAPRPPTPA PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGVLACYSL LVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAY RSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFSRS ADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA LHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 8】

#	配列 番号	受容体配列
21	306	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSISSGDYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD RRDWDWFDPWGQGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIHFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
22	307	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSNWSWVRQPPGKGLEWIG EIHSGSTNYNPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDQ QALKYRVDWGQGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIHFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
23	308	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWM GWISAYNGNTNYAQLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYC ARDLTLGCFDYWGQGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGDIQMTQSPSS LSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAP RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVL ACYSLLVTVAFIHFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPR DFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELR VKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKP RRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 9】

#	配列 番号	受容体配列
24	309	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWV SVIYSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR DGSNSWYFDLWGRGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
25	310	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV AVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARAFLFLFSVWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGDIQMTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
26	311	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTIFDDYTMHWVRQAPGKGLEWV SLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAK GIFYSSKEDFDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGDIQMTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 10】

#	配列 番号	受容体配列
27	312	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAPGKGLEWV SLISWDGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLR TEDTALYYCAK DIWIFYSSNP KPTVYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGG TKVEIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPY APPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
28	313	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYAMNWVRQAPQG LEW MGWINTNTGNPTYAQGFTGRFVFSFDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCA RKDQTLTYGNWFD PWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQ SPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGG TKVEIKTT TPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVV GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPY APPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
29	314	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIRQPPGKGLEWI GYIYYSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD HYERGLYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGDIQMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGG TKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 11】

#	配列 番号	受容体配列
30	315	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY MYNWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVS ASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
31	316	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD RRPAFDIWQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGDIQMTQSPSSVSAS VGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGGTKEIKTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
32	317	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAVH LKRRPYFDYWQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 12】

#	配列 番号	受容体配列
33	318	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASV HKKPIFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLSAS VGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGLVACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
34	319	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASTS RRCTFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLSAS VGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGLVACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
35	320	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASTS PRPLFQHWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLSASV GDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGLVACYS LLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA YRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 13】

#	配列 番号	受容体配列
36	321	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASP YQVRGVYFDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
37	322	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASP YKKRRTVFWDYWGGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
38	323	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASL QRGLALFQHWGGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSL ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 14】

#	配列 番号	受容体配列
39	324	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASIL SVPYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYS LLVTVAFIHFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA YRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR
40	325	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASG WIRVPLRLPLFQHWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR
41	326	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV TIFAIFDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYS LLVTVAFIHFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAA YRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVKFS RSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKN PQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 15】

#	配列 番号	受容体配列
42	327	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARV GRGFVHFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
43	328	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCART SRGLCVLFDYWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
44	329	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDIYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARS GPSSYWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCELRV KFSSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 16】

#	配列 番号	受容体配列
45	330	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNI YMGGIWFDPWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPSEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
46	331	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARL TVRTGAFDIWGQGTMTVTSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPSEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
47	332	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARL RTAHLDFDLWGRGTLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPSEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 17】

#	配列 番号	受容体配列
48	333	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD LIFPVVFDYWGQGLVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLSA SVGDRVTTTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPP TPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR
49	334	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD GYRKYGYVFFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTTTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR
50	335	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD GRYRRFWHAFDIWGQGTMTVTVSSGGGSGGGGSGGGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTTTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNISYPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 18】

#	配列 番号	受容体配列
51	336	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSYYMSWIRQAPGKGLEWVS YISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARA HIRGYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLSAS VGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPT PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGLVACY SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKF SRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRK NPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT YDALHMQALPPR
52	337	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAT WMGGGGRWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQS PSSLSASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYA PPRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR
53	338	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCART SRTTWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVITTCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNYSYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVGGLVAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 19】

#	配列 番号	受容体配列
54	339	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK WMGGGGRLYFDLWGRGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGGTKVEIKTTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGG VLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAP PRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR
55	340	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK WGGRLYWYFDLWGRGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGGTKVEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR
56	341	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VIRQLWYFDLWGRGTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSLS ASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLAC YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDF AAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVK FSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD TYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 20】

#	配列 番号	受容体配列
57	342	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VFANSWYFDLWGRGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGG TKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
58	343	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK VDRRTWYFDLWGRGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGG TKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR
59	344	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK RWGKDGPYWYFDLWGRGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQS PSSLSASVGDRVTTICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGV PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGG TKVEIKTTT PAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYA PPRDFAAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMG GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

50

【表 20 - 21】

#	配列 番号	受容体配列
60	345	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK RRDSYGPYWFYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSP SSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGG TKVEIKTTTP APRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGG VLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAP PRDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCE LRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLST ATKDTYDALHMQALPPR
61	346	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK NRPPPGYWFYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPS SLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGG TKVEIKTTTPA PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGV LACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP RDFAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGK PRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTA TKDTYDALHMQALPPR
62	347	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS AISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK GRRFSWYFDLWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGAIQLTQSPSSL SASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRF SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFN NYPLTFGGG TKVEIKTTTPAPR PPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLA CYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD FAAYRSKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRV KFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATK DTYDALHMQALPPR

10

20

30

40

【0635】

6つの結合剤を、第3世代（Gen3）キメラ抗原受容体（CAR1～CAR6）として発現させ【表1～4及び20のそれぞれ、#16、17、18、29、55、及び59に対応する】、Jurkat機能アッセイの文献（SS1、M5、及びm912）からの抗MSLN scFvと比較した。CARは、様々な感受性（EC₅₀）及び最大応答（E_{max}）を示した（図24A）。全ての構築物は、SS1（Gen2）を除いてGen3であった。6時間の共培養アッセイにおける感受性を評価するために、Jurkat細胞の用量応答（RLU）を測定した：（1）滴定したMSLNコードmRNAを使用して、HEK293細胞をトランスフェクトし、（2）QIFIKIT（定量分析キット、Ag i

50

lent（登録手票））を使用して、フローサイトメトリーベースの表面発現をMSLN分子／細胞に変換し、（3）6つの新規及び3つのベンチマークCARの分子／細胞感受性（EC50）を、用量応答曲線に適合させることにより計算した。アッセイの検出限界を下回る感受性を有するこれらのCARについて、EC50は、3000未満のMSLN分子／細胞として報告した。各構築物についての最大シグナル（E_{max}）も示した。実験を1～4回繰り返した。

【0636】

表21は、形質導入された初代T細胞によるHeLa細胞の選択性ウィンドウ及び死滅効率を示す。活性化因子及び遮断因子+初代T細胞でのMSLN+A2-の死滅とMSLN+A2+HeLa細胞の死滅との間の選択性ウィンドウの定量化。死滅効率は、活性化因子+（のみ）T細胞と比較した、活性化因子及び遮断因子+T細胞によるMSLN+A2-HeLa細胞の死滅の差を記載している。両方の測定は、最大80%の観察された死滅に対応する時間まで計算する。

【表21】

表21

活性化因子	E:T (HeLa 標的)	最大 80%死滅までの時間(時間)	選択性ウィンドウ	死滅効率
hM5 CAR	4:1	28	6.9	1.2
mSS1 CAR	4:1	44	6.2	1.1
CAR 18	4:1	24	21.4	1.1
CAR 29	4:1	20	7.0	1.0
hM5 CAR	2:1	64	5.5	0.8
mSS1 CAR	2:1	72+	n/d	0.7
CAR 18	2:1	56	20.3	0.8
CAR 29	2:1	44	7.6	0.9

n/d=不十分な全体的な死滅のために決定されていない

【0637】

6つの結合剤（CAR1～6）を、Jurkat機能アッセイ[12～14]における文献（SS1、M5及びm912）からのベンチマークMSLN scFvと比較した。全てが、Gen2 SS1を除いてGen3 CARとして発現された。MSLN（+）標的細胞については、合成MSLN mRNAでトランスフェクトしたHEK293細胞を使用した。CARは、様々な感受性（EC50）及び最大応答（E_{max}）を示した（図24A）。6つの結合剤のうち、CAR16を除く全ては、hM5及びsSS1よりも高い感受性を示す。

【0638】

要するに、抗MSLN結合剤を同定するための広範なキャンペーンは、NGSスクリーニングにおいて同定された数百の配列をもたらし、62個の候補構築物が産生され、それらの全てがMSLNに結合する。これらのうち6つは、優れた活性を示した。CAR18及びCAR29は、比較用CAR構築物に対して優れた感受性を示した。

【0639】

以前の研究では、 E_{max} は、受容体の表面発現に関連しており、 EC_{50} は、その結合及びシグナル伝達特性、特に、LBDに関連していることが示唆されている[15、16]。 EC_{50} は、必要な標準曲線及びQIFIKIT方法論を使用して、Jurkat細胞における発光によって測定された相対応答から、絶対分子／細胞に変換された[27]。ベンチマークCARのうちの1つ(m912)は、低い機能的感受性を示し、 EC_{50} は、約80K分子／細胞と推定された。他のベンチマーク及び新規のCARについての EC_{50} は、約6K分子／細胞の下方に及んだ。Jurkat細胞においてCARとしてアッセイされたいくつかの新規LBDは、検出限界を下回る EC_{50} を有した(3K未満の分子／細胞)。選択性の指標として、CAR3及びベンチマークM5を、MSLN(+)及び(-)細胞株のパネルに対する応答性について試験した。両方のCARは、MSLN特異的活性化を示し、MSLN(-)株に対して不活性であった(図24B及び図25A)。

10

【0640】

MSLN Tmod構築物は、Jurkat及び初代T細胞におけるHLA-A*02抗原によって効率的に遮断される

CAR1~6及びベンチマークCARを、Tmod構築物の成分として試験し、CARを、Jurkat及び初代T細胞において機能的応答を阻害することが以前に示されているA*02指向性抑制性受容体又は「遮断因子」と対にした[18]。この遮断因子は、ITIM含有LIR-1タンパク質のヒンジ、膜貫通及び細胞内ドメインに融合したA*02結合scFvを含んだ(図22B)。標的細胞として、本発明者らは、MSLN表面発現を特徴とする細胞株を使用した(図25A及び図25B、図26A及び図26B)。全てのCARを、リガンド依存的な様式で、A*02指向性LIR-1遮断因子によって遮断した(図27A)。高い感受性、選択性、及びA*02遮断因子との効果的な機能的対合の組み合わせのために、CAR3を、MSLN Tmodリード活性化因子構築物として更なる研究のために選択した。

20

【0641】

MSLN CAR3 Tmod構築物を、Jurkat細胞における活性化及び遮断感受性のための一連の定量的mRNA滴定実験において詳細に検査した(図27B及び図27C)。標的細胞については、他のほとんどのがん株と同様に、内因性MSLNを発現する子宮頸がんHeLa細胞株を使用した。この株は、HLA-A*02(-)である。MSLNレベルを制御するために、CRISPRによって不活性化されたMSLNを有するバリエーションを生成した。mRNA滴定実験は、MSLN CAR3 Tmod構築物についての EC_{50} 及び IC_{50} の推定を可能にし、これらのパラメータを、高品質の公的データベースから導出された正常及び腫瘍組織上の抗原の発現レベルとの関連で見た(図28A)。

30

【0642】

これらの比較を行うために、第1のステップとして、MSLN mRNAと表面タンパク質レベルとの間の相関を確立した(図25B)。同じことが、HLA-A、並びにMSLN Tmod構築物の EC_{50} 及び IC_{50} と比較して異なる組織のHLA-A及びMSLNレベルをプロットするために使用される情報についても行われた。正常組織の大部分は、MSLN Tmodの EC_{50} をはるかに下回るMSLNレベルを発現した。対照的に、肺を含む特定の組織は、Tmod構築物の EC_{50} をはるかに上回るレベルでMSLNを発現し、したがって、有効な遮断因子がない場合、高リスクとみなされた。しかしながら、これらのリスクのある組織はまた、Tmod IC_{50} を上回るHLA-Aレベルを発現し、それらが、TmodのA*02標的化LIR-1遮断因子成分によって細胞傷害性から保護されることを示唆する。機能的アッセイにおいて正常及び腫瘍組織をモデル化するために使用される細胞株(トランスジェニックHLA-A*02 HeLa及びMS751を含む)もまた、グラフに示される。

40

【0643】

次いで、MSLN CAR3 Tmod構築物の挙動を、初代T細胞において試験した。

50

細胞傷害性が主な読み取りであり、二次測定としてIFN- γ 分泌を用いた。標的細胞は、HeLa細胞及びバリエーションであった：(i)天然MSLN(+)A*02(-)HeLa細胞は、遮断因子抗原を含まない腫瘍細胞をモデル化し、(ii)トランスジェニックA*02(+)バリエーションHeLa細胞は、正常な中皮細胞をモデル化した。異なる構築物及び標的細胞の組み合わせは、全てのMSLN CAR Tmod構築物が、腫瘍細胞を強力に死滅させ、A*02-リガンド依存性様式で死滅を遮断することを実証した(図28B)。文献からの他の2つのMSLN CAR(SS1及びM5)を比較のために使用した(図29A)。細胞傷害性は、IFN- γ 放出によって反映された(図29B)。したがって、HLA-A*02指向性遮断因子及び異なるMSLN CAR活性化因子からなるTmod構築物は、Jurkat及び初代T細胞アッセイの両方において、MSLN(+)A*02(-)標的細胞に対して高い効力及び特異性を示した。

10

【0644】

MSLN CAR3 Tmod構築物は、混合細胞及び連続培養物における選択的な可逆的細胞傷害性を媒介する

がん細胞療法の文脈において重要なMSLN CAR3 Tmod構築物の様々な他の特性を試験した。この構築物は、腫瘍及び正常な標的細胞の混合培養物における抗原選択的細胞傷害性を媒介した：RFPで標識された天然MSLN(+)HLA-A*02(-)HeLa細胞を、GFPで標識されたMSLN(+)A*02(+)細胞と異なる比で混合した。これらの共培養物を、異なる受容体構築物で操作されたT細胞に曝露し、画像化した。CARのみの構築物が無差別に死滅したのに対して、Tmod構築物は、A*02(+)細胞を無傷のままにして、天然のHeLa腫瘍細胞のみを死滅させた(図30A)。

20

。選択性は、9：1の正常：腫瘍細胞比でも検出可能であった(図30B、図31A及び図31B)。

【0645】

Tmod細胞が、オン(能動的に死滅させる)状態とオフ(遮断)状態とを切り替える能力を、細胞傷害性アッセイを読み取りとして使用して調べた。これらの実験では、形質導入したT細胞を、標的細胞のあるバッチから別のバッチに移した(図32A、図33A、)。Tmod細胞は、それらが静止している正常な細胞に2日間曝露された後に活性化し、死滅させる能力を示した。その逆も当てはまった。腫瘍細胞の死滅に関与したTmod細胞は、迅速にオフ状態に切り替わり、移動後及び休止期間なしで正常細胞を死滅させることを控えることができた。状態を切り替える能力は、全部で4日間にわたって2サイクルを通じて維持された。

30

【0646】

高レベル(中央値約200ng/ml;範囲20~2,000ng/ml[19])で一部のがん患者の血液中に存在する、可溶性MSLN(sMSLN)が、MSLN CAR3 Tmod細胞を阻害したかどうかを調査した。500ng/mlで培養物に添加されたsMSLNは、CAR又はTmod T細胞のいずれかの機能に影響を及ぼさなかった(図33B及び図33C)。まとめると、これらの結果は、MSLN CAR3 Tmodが、腫瘍及び正常細胞の混合培養物において選択的で可逆的な細胞傷害性を媒介し、一部のがん患者の血液中で観察されるレベルでsMSLNによる影響を受けないことが示唆された。

40

これらの特徴の全ては、選択されたがん患者において安全かつ有効である可能性を有する細胞療法と一致している。

【0647】

MSLN CAR3 Tmod細胞は、検出可能なオフターゲット活性を示さない

MSLN CAR3 Tmod細胞のオフターゲット反応性を系統的に探索するために、Jurkat細胞活性化を、成人遺伝子発現の大部分を包含するように選択された標的細胞株のパネルによって試験した(Wang et al., in preparation; Methodsを参照されたい)。陽性対照を使用して、エフェクター細胞が、MSLN(+)細胞株によって活性化され得ることを確認し、陰性対照を使用して応答についてのベースラインを設定した(図26B;図32B)。約1,000分子/細胞と推定され

50

るアッセイの高い感受性にも関わらず、CAR3 Tmod Jurkat細胞において検出可能な応答は誘発されなかった。

【0648】

MSLN CAR3 Tmod構築物は、異種移植片モデルにおける腫瘍細胞の選択的死滅を媒介する

インビボでのMSLN CAR3 Tmod細胞の挙動を調べるために、マウス異種移植片モデルを使用した。HeLa細胞は、免疫不全（NSG）マウスにおいて良好に増殖しなかったため、別の子宮頸がん細胞株であるMS751を移植標的細胞として開発した。天然MSLNを活性化因子抗原として使用し、遮断因子抗原HLA-A*02を遺伝子導入によって操作して、正常な組織レベルにより良く近似させた。これらのインビボ実験において、MSLN（+）A*02（+）トランスジェニックバリエーションが正常細胞をモデル化した一方で、HLA-A*02のCRISPRノックアウトによって生成されたMSLN（+）A*02（-）MS751細胞は、腫瘍をモデル化した。

【0649】

細胞株をルシフェラーゼで操作して、腫瘍生存及び増殖の独立した読み取りとして生物発光を可能にした。各コホートの半数のマウスにおいて、マウス（10／コホート）の左脇腹に腫瘍細胞を移植し、右脇腹に正常細胞を移植し、残りの半数にはその逆を移植して、脇腹の増殖変動を制御した（図34A）。異種移植片の体積が約100～150mm³に達した後、尾静脈を介してマウスに2E7総T細胞／マウスを注入した。短時間の遅延の後、CAR及びTmod構築物の両方が、キャリアー及び生物発光強度によって等しく良好に測定されたMSLN（+）A*02（-）腫瘍細胞を死滅させた（図34B及び図34C、図35B及び図35C）。CARのみのT細胞は、同等の有効性で腫瘍及び正常の両方を死滅させたが、Tmod細胞は、インビトロ細胞傷害性を反映して、腫瘍移植片のみを死滅させた（図14A）。Tmod細胞の存在下で、正常な細胞移植片は、非形質導入T細胞又は生理食塩水で処置された対照群のものと同等に増殖した。これらの結果は、哺乳動物体内のMSLN Tmod系の選択性を劇的に実証し、観察されている他の活性化因子-遮断因子対と一致した（Sandberg et al., submitted; [18]）。

【0650】

MSLN CAR Tmodプラットフォームの拡張

HLA-A*02標的化遮断因子の使用は、遮断因子が、自己T細胞において産生される内因性HLA-A*02分子によってシスで結合され得る可能性を高める。実際に、遮断因子結合の減少は、天然のJurkat A*02（-）細胞と比較して、トランスフェクトされたトランスジェニックA*02（+）Jurkat細胞においてHLA-A*02四量体で観察された（図36）。A*02（-）ドナーT細胞と比較して、MSLN CAR3 Tmod又はSS1 Tmod構築物で形質導入したHLA-A*02（+）ドナー由来の初代T細胞において同様の減少が観察された（図36、図37A）。より重要なことに、この減少した結合は、それらのA*02（-）対応物と比較して、A*02（+）Jurkat及び初代T細胞の両方において不十分な遮断因子の機能に変換された（図36、図37B及び図37C）。これらの観察は、A*02指向性遮断因子を利用する自己MSLN CAR3 Tmod生成物に対して、シス結合がどのように問題を引き起こし得るかを例示した。

【0651】

この問題に対処するために、本発明者らは、内因性β2ミクログロブリン（B2M）のCRISPR不活性化に基づいた解決策を開発した。B2Mは、全てのHLAクラスI発現に必要であるため、このアプローチは、HLA-A*02のシス結合効果を軽減することが予想された。予測されたように、初代T細胞におけるB2Mのノックアウトは、遮断因子の結合及び機能を、A*02（-）ドナーT細胞に匹敵するレベルまで回復させた（図37A～図37C）。したがって、HLA-A*02（+）ドナーにおける機能特性を有するシス結合産生MSLN Tmod細胞のCRISPR媒介による抑止は、HLA-

A*02 (－) ドナーにおける機能と区別できなかった。これらの結果は、MSLN CAR3 Tmod構築物が、患者のT細胞におけるA*02の発現を低下させるための方法を用いるならば、同種異系細胞療法及び自己生成物に好適であり得ることを示唆する。

【0652】

MSLN CAR3は、HLA-A*11指向性遮断因子と対合され得る

A*02指向性遮断因子を利用するMSLN CAR3 Tmod構築物の優れた性能は、CAR3が、他のHLAクラスI対立遺伝子によってゲーティングされる遮断因子と対合され得る可能性を示唆した。これが真実であれば、Tmodプラットフォームを使用して、HLA-A*02に対してヘテロ接合型ではない患者を治療することが可能になる可能性があり、その数は、集団の60%を超えると推定される[20]。MSLN Tmod系のモジュール性の概念実証のために、アジア人の集団で最も一般的なクラスI対立遺伝子であるHLA-A*11を研究した[20]。A*11選択的scFvのスクリーニングを、MSLN scFvの単離について記載したものと同一方法を使用して実施した（以下の方法を参照されたい）。哺乳動物scFvディスプレイライブラリーを使用する一連の濃縮ステップは、いくつかのA*11特異的scFvを生成した（図38A）。

【0653】

1つの高性能scFv（A*11-LBD4）をLIR-1に融合させ、Jurkat細胞においてMSLN CAR3活性化因子と対合させた。このA*11遮断因子は、mRNA滴定実験から約37,000個の分子／細胞と推定されるIC₅₀で良好な機能を示した（図38B）。最後に、A*11遮断因子と対合したMSLN CAR3は、HLA-A*02を遮断因子抗原として利用するMSLN CAR3 Tmod構築物と同等の効力及び遮断を伴うJurkat細胞及び初代T細胞において良好に機能することが確認された（図39A～図39C）。これらの結果に促されて、本発明者らは、A*03及びB*07を標的とする他の2つの抗HLA-Eモノクローナル抗体をscFvに変換し、それらをMSLN Tmod遮断因子として試験した（図39A）。これらの知見は、Tmod系が、1つの活性化因子と複数の遮断因子との対合に対応するのに十分にモジュール化され、それによって、細胞療法プラットフォームの利用可能性をより多くの患者に拡張することを示唆する。

【0654】

考察

成体内のMSLNの分布を考慮すると[1、2、4]、遮断因子がMSLN標的化活性化因子で十分に機能することが重要である。ここで説明するA*02遮断因子の特性は、それが、広範囲のMSLN抗原レベルにわたってCARから生じる活性化シグナルを阻害することを示唆している。また、遮断因子は、オフターゲットを含む、CARによって誘発されるT細胞活性化の他の供給源を阻害する可能性が高い。HLA遮断因子抗原は、有核細胞内で普遍的に発現されるため、LOHのために選択された腫瘍のように遮断因子抗原が存在しない場合を除く、全ての状況下で抑制シグナルを提供するはずである。遮断因子はまた、刺激が正常な細胞又は細胞断片に関与する場合、T細胞療法について観察される毒性の継続的な供給源である、サイトカイン放出症候群を予防することができる[14、33]。

【0655】

本明細書に記載のMSLN治療候補は、遮断因子抗原対立遺伝子に対して生殖細胞系ヘテロ接合型であり、その腫瘍がLOHを介してこの対立遺伝子を喪失した患者の選択を必要とする。幸いなことに、DNA配列決定技術の強大な力を利用するこのような診断試験が最近開発されている[27～29]。DNA配列に基づくLOH検出は、腫瘍内のクローン性LOHとサブクローン性LOHのほとんどの症例を区別するのに十分な感受性を有し、それによって、治療の恩恵を受ける可能性が最も高い患者を豊かにする。この診断法は、腫瘍からのゲノム配列を利用するため、対立遺伝子変異を検出し、HLA-A*02に限定されない。本明細書に記載のリードMSLN Tmod構築物は、HLA-A*02(+)患者のサブセットに適用可能である。Tmodプラットフォームを他の患者に拡

張することを目的として、本発明者らは、MSLN CAR3 活性化因子が、HLA-A*11を含む他の3つのHLA-I対立遺伝子産物を対象とする遮断因子と対合することができることを示した。A*11は、ほとんどのアジア人の集団において最も頻繁に発生するHLA-I対立遺伝子であり、米国以外の世界の一部で利益を得るための重要な機会を表している。実際に、世界で最も一般的なHLA-I対立遺伝子の6~8を対象とした遮断因子のコレクションでは、HLA遺伝子座にLOHを有する固形腫瘍の大部分をカバーすることが可能であるはずであり、現在のところ固形腫瘍死亡率の15%を超えると推定される[22、30]。加えて、本発明者らは、HLA-A*02遮断因子が、別の周知の腫瘍関連抗原であるCEAを対象とするCARを含む他の活性化因子と効果的に対合することができるという研究を並行して示した(Sandberg et al., in preparation; 31)。

10

【0656】

モジュラーTmod系は、治療法の中で特有である、細胞の能力を利用して、複数のシグナルを調整された応答に統合し、したがって固形腫瘍療法の基本的な障害に対処する手段を提供する[18、21、22]。治療法は、腫瘍にアクセスし、細胞療法が有効であることが証明されている血液がんのために存在しない障壁を克服しなければならない[23]。T細胞は、抗体を含む他のほとんどの治療法よりも、能動的な血管外漏出及び生体内分布のための自然な機構を有するという点で利点がある(概説について、Mastrogiovanni et al., [24]を参照されたい)。更に、LOHを利用する本明細書に記載のTmodアプローチは、ほとんどの標的の正常な組織発現によってもたらされる固形腫瘍治療に対する重要な制約を緩和する。悪名高い非均質性にも関わらず、遺伝子変化の大部分は新生物の創始細胞において生じ、その全ての子孫に存在する[25]。このような均質な変異には、LOHが含まれ、そのようなクローン性LOHが、腫瘍内に存在する後の変化からの診断試験によって区別することができる場合、HLA遺伝子座におけるLOHの不均一性は、耐性源を構成するはずはない[26]。ほとんどのネオ抗原を生成する単一ヌクレオチド置換とは異なり、LOHは不可逆的な事象であり、治療によって強い選択圧が加えられた後でも安定であるはずである。最後に、チェックポイント阻害剤の使用がより一般的になるにつれて、HLA-I喪失率は上昇し、MSLN Tmod治療の恩恵を受け得る患者のプールが更に拡大する可能性が高くなるであろう[34]。

20

【0657】

材料及び方法

細胞株培養

細胞株は、ATCC(アメリカンタイプカルチャーコレクション(American Type Culture Collection))から購入し、製造業者の指示に従って取り扱った:T2、Shp77、Raji、MS751、A-375、A-498、SW982、SW480、HeLa、NIH-OVCAR-3、HepG2、NCI-H508、LNCaPクローンFGC、K562、U2OS、BB7.1、及びGAP A3ハイブリドーマ。NFATルシフェラーゼレポーター遺伝子をコードするJurkat細胞を、BPS Bioscienceから入手し、10%の熱失活(HIA)FBS(56℃で1時間失活)、1%のペニシリン及びストレプトマイシン(pen/strep)、並びに0.4mg/mLのジェネテシンを補充したRPMI中に維持した。ヒト末梢血単核細胞(PBMC)を、Stem Cell Technologiesから入手し、5%のHIAヒトAB血清を補充したX-VIVO 15(Lonza)中で解凍し、製造業者によって推奨されるように、T細胞TransAct(Miltenyi Biotec)で活性化した。CAR又はCAR Tmod単一ベクター構築物のレンチウイルス形質導入(別段の記載がない限り、図1bを参照されたい)を、活性化後24時間に行って、培養物を、1%のHIAヒトAB血清及び300IU/mLのIL-2を補充したLymphoONE T細胞拡大培地(TakaraBio)中に維持した。

40

【0658】

分子クローニング及びmRNAのインビトロ転写

50

活性化及び遮断CAR構築物を、前述のように設計及び構築した⁹。簡潔に述べると、活性化CARは、抗MSLN scFv LBDを、CD8αヒンジ、CD28膜貫通(TM)、並びにCD28、4-1BB、及びCD3ζ細胞内ドメイン(ICD)に融合させることによって作られた。遮断CARは、モノクローナル抗体PA2.1[32]、GAP A3[36]、又はBB7.1[37]にそれぞれ由来する抗HLA-A*02、A*03、又はB*07 scFv LBDを、LIR-1のヒンジ、TM、及びICDドメインに融合させることによって生成した。Golden Gateクローニングを使用して遺伝子セグメントを合わせ、レンチウイルス発現ベクターにおいてヒトEF1αプロモーターの下流に挿入した。

【0659】

メッセンジャーRNA(mRNA)調製のために、PCRを使用して、インビトロ合成mRNAに使用されるDNA鋳型を生成した。簡潔に述べると、T7プロモーターを、N末端プライマーを介して導入し、一般的なオーバーハング領域を、N末端プライマー及びC末端プライマーの両方に使用した。PCR生成物を、T7 ARCA mRNAキット(New England Biolabs、E2060S)を使用して、インビトロ転写(IVT)のための鋳型として使用した。IVT反応は、1×ARCA/NTP混合物、1.25mMのΨ-UTP(Trilink)、25ugのPCR生成物鋳型、及び1×T7 RNAポリメラーゼを含んだ。IVT反応物を37℃で2時間インキュベートし、次いで2uLのDNase I(New England Biolabs、M0303S)を各反応物に添加し、37℃で15分間インキュベートした。IVT反応物に、65uLの水、10uLの10×ポリアデニル化反応緩衝液(NEB M0276S)及び5uLのポリアデニル化酵素(NEB M0276S)を、約100uLの総体積に添加した。反応物を37℃で30分間インキュベートした。製造業者のプロトコルに従って、Monarch RNAクリーンアップキット(T2040L)を使用して、得られた生成物を洗浄した。

【0660】

哺乳動物ディスプレイを使用したMSLN及びHLA-A*11結合剤の生成

HuTARG哺乳動物ディスプレイ技術を使用した結合剤生成は、以前に記載されている(特許第US 8,012,714B2号、Wang et al.、近刊)。MSLN結合剤生成のために、可溶性MSLN(カタログ番号MSN-H82E9)並びに無関係のオフターゲットタンパク質、EGFR及びCEAを、Acro Biosystemsから購入した。HuTARGライブラリーを、蛍光活性化セルソーティング(FACS)を使用して、オンターゲット濃縮及びオフターゲット枯渇の連続ラウンドに供した。HLA-A*11結合剤生成キャンペーンを同様に実施した。HuTARGライブラリーを、HLA-A*11:01四量体を使用してオンターゲット濃縮に供し、4つの無関係のHLAクラスI四量体のプールを使用してオフターゲット枯渇に供した。両方のキャンペーンの最終ラウンドにおいて、オンターゲット及びオフターゲット結合細胞を収集し、RNAをcDNAに逆転写した。相補性決定領域(CDR)を含有する断片を、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を使用して増幅させ、次世代配列決定(NGS)によって配列決定した。目的の結合剤を、入力及び出力NGSカウントを比較することによって選択した。

【0661】

MSLN表面定量化

表面メソテリン分子を定量化するために、接着細胞を最初にDPBSで一度洗浄し、次にVerseneで一度洗浄した。細胞をVerseneでコーティングし、約15分間37℃でインキュベートした。インキュベーション後、フラスコを激しくタップして完全な解離を促進した。次いで、細胞を、1:2の比(Versene:DPBS)でDPBSで希釈し、カウントした。300,000個の細胞を、500×gで5分間遠心分離した。細胞を、300uLの1×FACS緩衝液(DPBS+1%のBSA)中に再懸濁した。100uLのアリコートをし、2つのv底ウェルに分けた。細胞を、100uLのFACS緩衝液で更に1回洗浄した、次いで、10ug/mLで100uLの抗MSLN抗体

(R & D Systems、クローン618923)で30分間氷上で染色した。一次染色の後、洗浄のためにQIFIKIT (Agilent)からの50 uLの校正ビーズを添加した。混合物を、100 uLのFACS緩衝液で2回洗浄し、次いで、氷上でFACS緩衝液中で2000倍希釈した100 uLの抗マウスF(ab')₂-ヤギAlexa Fluor 647 (Invitrogen)抗体で45分間染色した。染色した細胞及びビーズを、100 uLのFACS緩衝液で2回洗浄し、次いで、100 uLのFACS緩衝液中に再懸濁して蛍光を測定した。各ビーズ集団の蛍光強度中央値対分子数をプロットする校正曲線を、QIFIKIT (Agilent)によって提供される製造業者のプロトコルに従ってプロットした。内因性MSLN分子の数を、細胞の蛍光強度中央値を、QIFIKITビーズで生成された校正曲線に適合させることによって決定した。

10

【0662】

MSLN活性化因子及び様々な遮断因子感受性の決定

活性化因子又は遮断因子感受性を決定するために、抗原を様々な濃度で抗原(−)細胞株に滴定した。次いで、標準曲線を使用したフローサイトメトリー及びQIFIKIT方法論[17]を使用して、絶対分子/細胞を計算することができた。次いで、Jurkat細胞内で発現された活性化因子又は遮断因子のEC₅₀又はIC₅₀値を、それぞれ、蛍光によって測定した。具体的には、抗原mRNAを用いたHEK293T又はHeLa細胞トランスフェクションを、4Dヌクレオフェクションキット(Lonza)を使用して行った。単一抗原滴定(すなわち、MSLN、HLA-A*02、HLA-A*11、HLA-A*03、HLA-B*07)について、mRNAを、それぞれ、HEK293T又はHeLa細胞について補足溶液(完全緩衝液)を補充したSE又はSF緩衝液中で1000 ng/uLに希釈した。希釈したmRNAを、ストックmRNAを等体積の完全緩衝液に13回添加することによって連続的に2倍希釈し、15番目のウェルは追加されたmRNAを全て欠いていた。TrypLE Express (Gibco)を使用して、標的細胞をフラスコから解離した。適切な数の細胞を採取し、次いで、11.1e6の生存細胞/mLで完全緩衝液中に再懸濁した。22.5 uLの再懸濁した細胞を、2.5 uLの連続希釈したmRNAに、25 uLの細胞及びmRNA混合物の最終体積で添加した。この試料の20 uLを、HEK293T細胞についてCM-130プログラム又はHeLa細胞についてCN-114プログラムを使用した、4Dヌクレオフェクター(nucleofector)を使用してザップした(zapped)。細胞を、280 uLのMEM+10%のFBS+0.1%のpen/strep中に移した。15 uLの希釈細胞を384ウェルプレートに移し、37℃、5%CO₂で18~24時間インキュベートした。残りの希釈細胞を、96ウェルプレートに移し、上記のようにQIFIKITを使用して表面抗原発現の翌日分析のために保持した。並行して、Jurkat-NFATルシフェラーゼエフェクター細胞を、以下のパラメータ:1500 V、10 ms、3パルスを使用して、ネオンエレクトロポレーションシステムを使用して、1e6細胞当たり1 ugの適切なCAR DNA、又は1e6細胞当たり4 ugのCAR Tmod DNA(別段の記載がない限り、単一ベクター構築物)でトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を、20%熱不活性化(HIA)FBS及び0.1%のpen/strepを補充した事前に加温したRPMIに直ちに移し、37℃、5%CO₂で18~24時間インキュベートした。次いで、Jurkat細胞をカウントし、1 mL当たり0.67e6細胞で、RPMI+10%のHIA FBS及び0.1%のpen/strep中に再懸濁した。次いで、15 uL中の1e4の再懸濁したJurkat細胞を、384ウェルプレート中のトランスフェクト細胞と6時間共培養した。ルシフェラーゼ活性は、ワンステップルシフェラーゼアッセイシステム(BPS Bioscience)を使用して測定した。

20

30

40

【0663】

MSLN及びHLA-A*02を含む標的細胞同時トランスフェクションについては、mRNA希釈ステップの軽微な調整を除いて上記のプロトコルを使用した。HLA-A*02及びMSLNをコードするmRNAを、それぞれ、Aldevron及びTrillinkによって調製した。簡潔に述べると、EC₅₀曲線を生成するために、MSLN mRNA

50

NAを用いて14点の2倍連続希釈を行った。この連続希釈を、様々な一定量のA*02 mRNAの4つの希釈液の各々と組み合わせて、MSLN mRNAの最上位濃度が500 ng/uLであり、A*02 mRNA濃度が以下の通りになるようにした：500 ng/uL、25 ng/uL、1.25 ng/uL、及び0 ng/uL。IC50曲線を生成するために、A*02 mRNAを用いて14点の2倍連続希釈を行った。この連続希釈を、様々な一定量のMSLN mRNAの4つの希釈液の各々と組み合わせて、A*02 mRNAの最上位濃度が500 ng/uLであり、MSLN mRNA濃度が以下の通りになるようにした：125 ng/uL、25 ng/uL、5 ng/uL、及び1 ng/uL。

【0664】

初代T細胞のインビトロ細胞傷害性アッセイ

Gen2 M5 CAR、MSLN CAR3又はCAR3 Tmod単一ベクター構築物で形質導入した初代T細胞による、MSLN (+) A*02 (-) RFP (+) 腫瘍又はMSLN (+) A*02 (+) GFP (+) 正常標的細胞の死滅を、前述のように評価した[9]。簡潔に述べると、2,000個の標的細胞を、黒色の透明底384ウェルプレート中のウェル当たり25 uLの完全なLymphoOne培地(1%のHIAヒトAB血清を含有する)の中に入れ、5%CO₂で37℃で一晩接着させた。混合培養アッセイについて、標的細胞を、播種前に所望の比で予混合した。標的細胞プレATINGの約16~18時間後、T細胞をカウントし、300×gで10分間沈降させ、有効なエフェクター：標的(E:T)=1:1(又は所望のE:Tに応じて多かれ少なかれ濃縮した)のために、25 uLの完全なLymphoOne培地中(追加のサイトカインの不在下)の2,000個のCAR(+)又はTmod(+)T細胞で再懸濁し、標的細胞の上に穏やかにプレATINGした。sMSLNを含む実験のために、標的細胞でプレATINGした際に、T細胞を、500 ng/mLの最終濃度のために、1000 ng/mL(2×)の可溶性の単量体MSLN(Acro Biosystems)を含有するLymphoOne培地中に再懸濁した。各試料を3連のウェルで試験した。共培養の30分以内に、プレートを、Incucyteイメージャーを使用してGFP(+)又はRFP(+)標的細胞発現のために画像化し、その後、最大で48時間、2~4時間ごとに連続画像を得た。標的細胞面積(すなわち、画像当たりのGFP(+)又はRFP(+)総面積)の定量化を、Incucyteイメージングソフトウェアを使用して行った。ウェル当たり、時間=0の面積に正規化することにより、プレATINGの変動性を考慮した。次いで、死滅を、CAR又はTmod T細胞ウェルと、対応する非形質導入T細胞ウェルとの間の面積の差として定量化し、非形質導入T細胞ウェルに正規化した(死滅%=(A非形質導入-A CAR又はTmod)/A非形質導入)。

【0665】

初代T細胞におけるHLA-A*11遮断因子評価のために、MSLN及びトランスジェニックHLA-A*11抗原の天然レベルを発現するHeLa標的細胞を使用して、上記のように細胞傷害性アッセイを行った。

【0666】

48時間共培養後のサイトカイン分泌及び相対T細胞活性化を更に評価するために、各ウェルのT細胞を含有する培地を混合し、v底プレートに移し、400×gで5分間沈降させた。上清を回収し、製造業者の指示に従って、BDヒトIFN-γフレックスキットを使用して、分泌されたIFN-γを更に分析するまで凍結させた。次いで、残りのT細胞を、ヒトCD3のために染色し、洗浄し、フローサイトメトリーによって前方及び側方の散乱を特徴付けた[35]。

【0667】

反復抗原チャレンジアッセイ(RACA)及び可逆性アッセイ

RACA及び可逆性アッセイを、いくつかの修正を加えて、以前に記載されているように行った(Wang et al., 近刊[18])。簡潔に述べると、CAR又はTmod形質導入初代T細胞を、有効なE:T=1.2:1で上述したものと同様に、MSLN

10

20

30

40

50

(+) A*02 (-) RFP (+) 腫瘍又はMSLN (+) A*02 (+) GFP (+) 正常標的細胞と共培養した。ラウンド1の画像を、384ウェルプレートフォーマットで48時間にわたって撮影した。250,000個の標的細胞及び300,000個のCAR3 (+) 又はCAR3 Tmod (+) T細胞を含む並行な6ウェルプレートもまた、バルクT細胞単離及びラウンド間の移動を可能にするように設定した。48時間後、T細胞を含有する培地を穏やかに混合し、円錐管に移した。生きた標的細胞と関与した残りのT細胞を、PBS中の10mMのEDTA+0.5%のBSAで単回の1分間のすすぎによって更に解離し、バルクT細胞画分と合わせた。次いで、これらの細胞(標的細胞残屑及び上昇した標的細胞とともに)を沈降させ、洗浄し、抗MSLN、抗EGFR、及び抗N-カドヘリンPEコンジュゲート抗体のカクテルで染色して、望ましくない標的細胞を染色した。次いで、これらの標的細胞を、抗PE MACSビーズにコンジュゲートさせ、続いてLSカラムを通して枯渇させ、清浄なT細胞画分を得た。次いで、T細胞をカウントし、ラウンド2の間(ラウンド1と同様に)、新鮮な腫瘍又は正常な標的細胞上に再播種した。次いで、ラウンド1で行ったように、イメージング及び定量化を正確に進めた。

【0668】

MSLNノックアウト細胞株生成

内因性MSLN (+) 細胞株についてのMSLN (-) 細胞株対照を開発するために、全長MSLNを標的とするCRISPR戦略を利用した。メソテリンの異なるエクソンを標的とする2つのAlt-R CRISPR-Cas9 sgRNAを、sgRNA__1標的化エクソン2、及びsgRNA__2標的化エクソン16で、Integrated DNA Technologies (IDT) から得た。sgRNAを、ヌクレアーゼを含まない水中で再水和し、Alt-R (登録商標) S.p. HiFi Cas9ヌクレアーゼV3 (IDT) と合わせて、9:1のsgRNA:Cas9のモル比を得た。両方のRNP溶液を、室温で10~20分間別々にインキュベートして、ガイドの各々を、独立してCas9と複合体化させた。続いて、両方のガイドのRNP複合体を合わせ、製造業者の指示に従って所望の細胞に添加し、エレクトロポレーションした。CRISPR後、細胞をスケールアップし、MSLN (-) 集団(R&D、抗MSLN pAb又はクローン#618923) 上で選別した。次いで、バルク選別されたMSLN (-) 細胞を、Jurkat細胞ベースのアッセイにおいて、MSLN結合剤に対してスクリーニングした。

【0669】

Jurkat細胞を使用した選択性スクリーニング

MSLN CAR3 Tmod細胞のオフターゲット反応性を探索するために、Jurkat細胞活性化を、他の場所に記載されているものと同様に成人遺伝子発現の大部分を包含するように選択された標的細胞株の多様なパネルに対して試験した(Wang et al., in preparation)。陽性対照を使用して、エフェクター細胞が、MSLN (+) 細胞株によって活性化され得ることを確認し、陰性対照を応答のベースラインに設定した(細胞株の特徴付けについては図26B及び図28Aを参照されたい)。簡潔に述べると、Jurkat-NFAT-ルシフェラーゼ細胞を、一過性にトランスフェクトして、上記のように正確にCAR又はCAR3 Tmodのいずれかを発現させた。並行して、内因性MSLN (+) 標的細胞を、上記のCRISPRを使用して生成されたそれぞれのMSLN (-) 対照標的細胞とともに、ウェル当たり15uLの完全なRPMI (10%のFBS及び1%のP/Sを含有する) 中の1e4標的細胞に384ウェルプレートフォーマットでプレATINGした。トランスフェクションのおよそ18時間後、1e4のJurkat細胞を各標的細胞と共培養し、6時間後に発光によりGen2 M5 CARと比較した活性を評価した。ルシフェラーゼ活性を、ワンステップルシフェラーゼアッセイシステム(BPS Bioscience)を使用して測定した。

【0670】

マウス異種移植片研究

盲検インビボ実験は、Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) によって承認されたプロトコルの下でExp

10

20

30

40

50

l o r a B i o L a b sによって実施された。5～6週齢の雌のNOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (HLA-A/H2-D/B2M) 1Dvs /SzJ (NSG-HLA-A2/HHD) マウスを、The Jackson Labsから購入した。研究開始前に、動物を住居環境に順応させた。各コホートのマウスの半数において、100 uL中でマトリゲルと1:1で混合した、5e6のMS751ホタルルシフェラーゼ(+) HLA-A KO腫瘍又はウミシイタケルシフェラーゼ(+) A*02トランスジェニック正常細胞を、それぞれ、動物(10/コホート)の右脇腹及び左脇腹に皮下移植し、残りの半数において逆にして、脇腹の増殖の変動を制御した。腫瘍が、各々100～150 mm³の平均($V = L \times W \times W / 2$)に達したとき、動物を5つの群(n=10)にランダム化し、2e7のT細胞、又は生理食塩水対照を、尾静脈を介して投与した。注射前、T細胞は、約60%のCAR(+)又はTmod(+)であった。T細胞注射後、研究期間中、キャリパーによる移植片測定を週に3回、BLIを週に1回実施した。各BLI期間において、RediJect Coelenterazine h基質(PerkinElmer)を最初に注射して、ウミシイタケルシフェラーゼ(+)正常細胞を可視化し、その後、6時間後にXenolight Dールシフェリンカリウム塩(PerkinElmer)を注射して、逆脇腹上のホタルルシフェラーゼ(+)腫瘍細胞を可視化した。

【0671】

初代T細胞におけるB2MのCRISPRノックアウト

凍結PBMCを解凍し、上記のように活性化した。形質導入を、MOI 10でレンチウイルス(Alstem)を使用して、活性化の24時間後に行った。形質導入の24時間後に、初代T細胞を、CRISPR-Cas9:sgRNA複合体でトランスフェクトした。簡潔に述べると、細胞を採取し、PBSで洗浄した後、補充されたP3ヌクレオフェクション緩衝液(Lonza)中に再懸濁した。20 pmolのCas9(Synthego)を、130 pmolのB2M標的化sgRNA(Synthego)と合わせ、P3ヌクレオフェクション緩衝液中でインキュベートした後、細胞に添加した。20 uLの細胞及びリボ核タンパク質(RNP)混合物を、16ウェルのNucleocuvette Stripに移し、刺激T細胞プログラム(E0-115)を使用して4Dヌクレオフェクターでエレクトロポレーションした。細胞を、5%のHIAヒトAB血清及び300 IU/mLのIL-2を補充した100 uLの事前に加温した培地である、X-VIVO 15(Lonza)中で回収した。PBMCを、1%のHIAヒトAB血清及び300 IU/mLのIL-2を補充したLymphoONE T細胞拡大培地(Takara Bio)中で6日間培養及び拡大した。拡大後、陽性形質導入初代T細胞を、LSカラムを使用して、プロテインレービオチン:ストレプトアビジン-PEに対して、製造業者の指示に従って、抗PEマイクロビーズ(Miltenyi)を使用して濃縮した。次いで、B2M KO初代T細胞の細胞傷害性を、上記のように正確に評価した。

【0672】

統計分析

GraphPad Prismソフトウェアを使用して統計分析を行った。全てのJurkat細胞ベースのインビトロ研究(mRNA滴定実験を含む)は、技術的複製の平均±標準偏差(SD)として示され、一方、初代T細胞ベースのインビトロ研究は、技術的三重複製の平均±SDとして示される。該当する場合、技術的複製は、個々のデータ点として示され、バーは平均を示す。全てのデータは、別段の記載がない限り、n=2の実験反復の最小値を表す。インビボ研究についてのデータは、平均±標準誤差(SEM)として示される。mRNA滴定研究では、4パラメータの非線形回帰分析を使用して曲線を適合させた。EC₅₀及びIC₅₀値は、曲線から直接計算した。直接比較は、別段の記載がない限り、対応のないパラメトリックt検定を使用して分析した。

参考文献

1 Chang, K., Pai, L. H., Batra, J. K., Pastan, I. & Willingham, M. C. Characterization of the an

10

20

30

40

50

tigen (CAK1) recognized by monoclonal antibody K1 present on ovarian cancers and normal mesothelium. *Cancer Res* 52, 181–186 (1992).

2 Hassan, R. et al. Mesothelin Immunotherapy for Cancer: Ready for Prime Time? *J Clin Oncol* 34, 4171–4179, doi:10.1200/JCO.2016.68.3672 (2016).

3 Bera, T. K. & Pastan, I. Mesothelin is not required for normal mouse development or reproduction. *Mol Cell Biol* 20, 2902–2906, doi:10.1128/MCB.20.8.2902–2906.2000 (2000).

4 O'Hara, M. H., Stashwick, C., Plesa, G. & Tanyi, J. L. Overcoming barriers of CAR T-cell therapy in patients with mesothelin-expressing cancers. *Immunotherapy* 9, 767–780, doi:10.2217/imt-2017-0026 (2017).

5 Chowdhury, P. S., Viner, J. L., Beers, R. & Pastan, I. Isolation of a high-affinity stable single-chain Fv specific for mesothelin from DNA-immunized mice by phage display and construction of a recombinant immunotoxin with anti-tumor activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 669–674, doi:10.1073/pnas.95.2.669 (1998).

6 Hassan, R. et al. Phase I study of SS1P, a recombinant anti-mesothelin immunotoxin given as a bolus I.V. infusion to patients with mesothelin-expressing mesothelioma, ovarian, and pancreatic cancers. *Clin Cancer Res* 13, 5144–5149, doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-0869 (2007).

7 Golfier, S. et al. Anetumab ravtansine: a novel mesothelin-targeting antibody-drug conjugate cures tumors with heterogeneous target expression favored by bystander effect. *Mol Cancer Ther* 13, 1537–1548, doi:10.1158/1535-7163.MCT-13-0926 (2014).

8 Luke, J. J. et al. Phase I study of ABBV-428, a mesothelin-CD40 bispecific, in patients with advanced solid tumors. *J Immunother Cancer* 9, doi:10.1136/jitc-2020-002015 (2021).

9 Beatty, G. L. et al. Activity of Mesothelin-Specific Chimeric Antigen Receptor T Cells Against Pancreatic Carcinoma Metastases in a Phase 1 Trial. *Gastroenterology* 155, 29–32, doi:10.1053/j.gastro.2018.03.029 (2018).

10 Ding, J. et al. Abstract 2307: Preclinical

10

20

30

40

50

evaluation of TC-210, a mesothelin-specific T cell receptor (TCR) fusion construct (TRuC (商標)) T cells for the treatment of solid tumors. *Cancer Research* 79, 2307-2307, doi:10.1158/1538-7445.Am2019-2307 (2019).

11 Adusumilli, P. S. et al. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cells for pleural cancers: Safety and preliminary efficacy in combination with anti-PD-1 agent. *Journal of Clinical Oncology* 37, 2511-2511, doi:10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.2511 (2019).

10

12 Feng, Y. et al. A novel human monoclonal antibody that binds with high affinity to mesothelin-expressing cells and kills them by antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *Mol Cancer Ther* 8, 1113-1118, doi:10.1158/1535-7163.MCT-08-0945 (2009).

13 Klampatsa, A., Dimou, V. & Albelda, S. M. Mesothelin-targeted CAR-T cell therapy for solid tumors. *Expert Opin Biol Ther* 21, 473-486, doi:10.1080/14712598.2021.1843628 (2021).

20

14 Tanyi, J. L. et al. Possible Compartmental Cytokine Release Syndrome in a Patient With Recurrent Ovarian Cancer After Treatment With Mesothelin-targeted CAR-T Cells. *J Immunother* 40, 104-107, doi:10.1097/CJI.000000000000160 (2017).

15 James, S. E. et al. Mathematical modeling of chimeric TCR triggering predicts the magnitude of target lysis and its impairment by TCR downmodulation. *J Immunol* 184, 4284-4294, doi:10.4049/jimmunol.0903701 (2010).

30

16 Xu, H. et al. Structure-function relationships of chimeric antigen receptors in acute T cell responses to antigen. *Mol Immunol* 126, 56-64, doi:10.1016/j.molimm.2020.07.020 (2020).

17 Smith, K. B. & Ellis, S. A. Standardisation of a procedure for quantifying surface antigens by indirect immunofluorescence. *J Immunol Methods* 228, 29-36, doi:10.1016/S0022-1759(99)00087-3 (1999).

40

18 Hamburger, A. E. et al. Engineered T cells directed at tumors with defined allelic loss. *Mol Immunol* 128, 298-310, doi:10.1016/j.molimm.2020.09.012 (2020).

19 Hassan, R. et al. Phase 1 study of the anti-mesothelin immunotoxin SS1P in combinati

50

on with pemetrexed and cisplatin for front-line therapy of pleural mesothelioma and correlation of tumor response with serum mesothelin, megakaryocyte potentiating factor, and cancer antigen 125. *Cancer* 120, 3311–3319, doi:10.1002/cnccr.28875 (2014).

20 Gragert, L., Madbouly, A., Freeman, J. & Maers, M. Six-locus high resolution HLA haplotype frequencies derived from mixed-resolution DNA typing for the entire US donor registry. *Hum Immunol* 74, 1313–1320, doi:10.1016/j.humimm.2013.06.025 (2013).

10

21 Fedorov, V. D., Themeli, M. & Sadelain, M. PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors divert off-target immunotherapy responses. *Sci Transl Med* 5, 215ra172, doi:10.1126/scitranslmed.3006597 (2013).

22 Hwang, M. S. et al. Targeting loss of heterozygosity for cancer-specific immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 118, doi:10.1073/pnas.2022410118 (2021).

20

23 Roex, G. et al. Chimeric Antigen Receptor-T-Cell Therapy for B-Cell Hematological Malignancies: An Update of the Pivotal Clinical Trial Data. *Pharmaceutics* 12, doi:10.3390/pharmaceutics12020194 (2020).

24 Mastrogiovanni, M., Juzans, M., Alcover, A. & Di Bartolo, V. Coordinating Cytoskeleton and Molecular Traffic in T Cell Migration, Activation, and Effector Functions. *Front Cell Dev Biol* 8, 591348, doi:10.3389/fcell.2020.591348 (2020).

30

25 Lopez, S. et al. Interplay between whole-genome doubling and the accumulation of deleterious alterations in cancer evolution. *Nat Genet* 52, 283–293, doi:10.1038/s41588-020-0584-7 (2020).

26 Foo, J. & Michor, F. Evolution of acquired resistance to anti-cancer therapy. *J Theor Biol* 355, 10–20, doi:10.1016/j.jtbi.2014.02.025 (2014).

40

27 Beaubier, N. et al. Clinical validation of the tempus xT next-generation targeted oncology sequencing assay. *Oncotarget* 10, 2384–2396, doi:10.18632/oncotarget.26797 (2019).

28 Consortium, I. T. P. - C. A. o. W. G. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature* 578, 82–93, doi:10.1038/s41586-020-1969-6 (2020).

50

- 29 Ford, L., Wolford, J. E., Brown, S. M. & Randall, L. M. A profile on the FoundationFocus C DxBRCA tests. Expert Rev Mol Diagn 20, 285–292, doi:10.1080/14737159.2020.1701438 (2020).
- 30 Beroukhi, R. et al. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. Nature 463, 899–905, doi:10.1038/nature08822 (2010).
- 31 Gold, P. & Freedman, S. O. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. J Exp Med 122, 467–481, doi:10.1084/jem.122.3.467 (1965).
- 32 Parham, P. & Bodmer, W. F. Monoclonal antibody to a human histocompatibility alloantigen, HLA-A2. Nature 276, 397–399, doi:10.1038/276397a0 (1978).
33. Tanyi, J. L. et al. Possible Compartmental Cytokine Release Syndrome in a Patient With Recurrent Ovarian Cancer After Treatment With Mesothelin-targeted CAR-T Cells. J Immunother 40, 104–107 (2017).
34. Montesin, M. et al. Somatic HLA Class I Loss Is a Widespread Mechanism of Immune Evasion Which Refines the Use of Tumor Mutational Burden as a Biomarker of Checkpoint Inhibitor Response. Cancer Discov 11, 282–292 (2021).
35. Bohmer et al., Forward light scatter is a simple measure of T-cell activation and proliferation but is not universally suited for doublet discrimination. Cytometry 79A (8):646–652 (2011).
36. Berger et al. Monoclonal antibody to HLA-A3. Hybridoma 1 (2):87–90 (1982).
37. Brodsky et al., Monoclonal antibodies for analysis of the HLA system. Immunol Rev. 47:3–61 (1979).

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

免疫細胞であって、

a. メソテリン (MSLN) に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第1の受容体と、

b. MSLN+がん細胞において喪失した非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第2の受容体と、を含み、

前記第1の受容体が、MSLNに応答する活性化因子受容体であり、前記第2の受容体が、前記非標的抗原に応答する抑制性受容体である、免疫細胞。

(項目2)

前記非標的抗原が、ヘテロ接合性の喪失によって前記MSLN+がん細胞において喪失している、項目1に記載の免疫細胞。

(項目 3)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、主要組織適合性複合体 (MHC) タンパク質の対立遺伝子バリエーションに特異的に結合する、項目 1 又は 2 に記載の免疫細胞。

(項目 4)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、HLA-A、HLA-B、又は HLA-C タンパク質の対立遺伝子バリエーションに特異的に結合する、項目 1～3 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 5)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、HLA-A*01、HLA-A*02、HLA-A*03、HLA-A*11、HLA-B*07、又は HLA-C*07 に特異的に結合する、項目 1～4 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 6)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、HLA-A*02 に特異的に結合する、項目 5 に記載の免疫細胞。

(項目 7)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、表 6 に開示されるような相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表 6 若しくは表 7 の前記 CDR と比較して、最大で 1、2、若しくは 3 個の置換、欠失、若しくは挿入を有する CDR 配列を含む、項目 1～6 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 8)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、配列番号 42～47 若しくは配列番号 48～53 の相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は配列番号 42～47 若しくは配列番号 48～53 の前記 CDR と比較して、最大で 1、2、若しくは 3 個の置換、欠失、若しくは挿入を有する CDR 配列を含む、項目 1～6 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 9)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、表 5 に開示されるポリペプチド配列、又はそれと少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 97% 若しくは少なくとも 99% の同一性を有する配列から選択されるポリペプチド配列を含む、項目 1～6 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 10)

前記第 2 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、配列番号 30～41 のうちのいずれか 1 つ、又はそれと少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 97% 若しくは少なくとも 99% の同一性を有する配列を含む、項目 1～6 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 11)

前記第 1 の受容体が、キメラ抗原受容体 (CAR) である、項目 1～10 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 12)

前記第 1 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、表 2 に開示されるような相補性決定領域 (CDR) CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、又は表 2 の前記 CDR と比較して、最大で 1、2、若しくは 3 個の置換、欠失、若しくは挿入を有する CDR 配列を含む、項目 1～11 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 13)

前記第 1 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、表 3 に記載の配列を含む重鎖可変 (VH) 部分、及び表 4 に記載の配列を含む軽鎖可変 (VL) 部分、又はそれと少なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 97% 若しくは少なく

10

20

30

40

50

とも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の免疫細胞。
(項目 14)

前記第 1 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、配列番号 233 を含む重鎖可変 (VH) 部分、又はそれと少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列、及び配列番号 279 を含む軽鎖可変 (VL) 部分、又はそれと 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 15)

前記第 1 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、配列番号 3 ～ 6、80 及び 154 ～ 215 からなる群から選択される配列、又はそれと少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 16)

前記第 1 の受容体の前記細胞外リガンド結合ドメインが、配列番号 171 の scFv 配列、又はそれと少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 % 若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 17)

前記第 1 の受容体が、ヒンジドメイン、膜貫通ドメイン及び細胞内ドメインを含む、項目 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 18)

前記ヒンジドメインが、CD8 α ヒンジドメインを含む、項目 17 に記載の免疫細胞。

(項目 19)

前記 CD8 α ヒンジドメインが、配列番号 7 の配列、又はそれと少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 % 若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 18 に記載の免疫細胞。

(項目 20)

前記膜貫通ドメインが、CD28 膜貫通ドメインを含む、項目 11 ～ 19 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 21)

前記 CD28 膜貫通ドメインが、配列番号 11 の配列、又はそれと少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 % 若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 20 に記載の免疫細胞。

(項目 22)

前記細胞内ドメインが、CD28 共刺激ドメイン、4-1BB 共刺激ドメイン、及び CD3 ζ 活性化ドメインを含む、項目 11 ～ 21 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 23)

前記細胞内ドメインが、配列番号 285 の配列、又はそれと少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 % 若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 22 に記載の免疫細胞。

(項目 24)

前記第 1 の受容体が、配列番号 303 の配列、又はそれと少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、若しくは少なくとも 99 % の同一性を有する配列を含む、項目 1 ～ 23 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 25)

前記第 2 の受容体が、LILRB1 細胞内ドメイン又はその機能的バリエントを含む、項目 1 ～ 24 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 26)

前記 LILRB1 細胞内ドメインが、配列番号 70 と少なくとも 90 %、少なくとも 9

10

20

30

40

50

5 %、少なくとも97 %、少なくとも99 %同一であるか、又はそれと同一である配列を含む、項目25に記載の免疫細胞。

(項目27)

前記第2の受容体が、LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションを含む、項目1～26のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目28)

前記LILRB1膜貫通ドメイン又はその機能的バリエーションが、配列番号74と少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも97 %、少なくとも99 %同一であるか、又はそれと同一である配列を含む、項目27に記載の免疫細胞。

(項目29)

前記第2の受容体が、LILRB1ヒンジドメイン又はその機能的バリエーションを含む、項目1～28のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目30)

前記LILRB1ヒンジドメインが、配列番号73と少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも97 %、少なくとも99 %同一であるか、又はそれと同一である配列を含む、項目29に記載の免疫細胞。

(項目31)

前記第2の受容体が、LILRB1細胞内ドメイン、LILRB1膜貫通ドメイン、LILRB1ヒンジドメイン、それらのうちのいずれかの機能的バリエーション、又はそれらの組み合わせを含む、項目1～30のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目32)

前記LILRB1ヒンジドメイン、LILRB1細胞内ドメイン及びLILRB1膜貫通ドメインが、配列番号71、又は配列番号71と少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも97 %、少なくとも99 %同一であるか、若しくはそれと同一である配列を含む、項目31に記載の免疫細胞。

(項目33)

前記第2の受容体が、配列番号348の配列、又はそれと少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも97 %、若しくは少なくとも99 %の同一性を有する配列を含む、項目1～32のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目34)

前記MSLN+がん細胞が、中皮腫がん細胞、卵巣がん細胞、子宮頸がん細胞、結腸直腸がん細胞、食道がん細胞、頭頸部がん細胞、腎臓がん細胞、子宮がん細胞、胃がん細胞、膵臓がん細胞、肺がん細胞、結腸直腸がん細胞又は胆管がん細胞である、項目1～33のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目35)

前記MSLN+がん細胞が、中皮腫がん細胞、卵巣がん細胞、子宮頸部細胞、子宮がん細胞、胃がん細胞、膵臓がん細胞又は肺腺がん細胞である、項目34に記載の免疫細胞。

(項目36)

前記MSLN+がん細胞が、HLA-A*02を発現しないMSLN+/HLA-A*02-がん細胞である、項目1～35のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目37)

前記MSLN+/HLA-A*02-がん細胞が、HLA-A*02の喪失をもたらす、HLA-Aにおけるヘテロ接合性の喪失によってMSLN+/HLA-A*02+細胞から派生する、項目36に記載の免疫細胞。

(項目38)

前記第1の受容体及び前記第2の受容体がともに、ヘテロ接合性の喪失を有する前記MSLN+/HLA-A*02-がん細胞の存在下で前記免疫細胞を特異的に活性化する、項目1～37のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目39)

前記第1の受容体及び前記第2の受容体がともに、ヘテロ接合性の喪失によってHLA

10

20

30

40

50

— A * 0 2 を喪失していない M S L N + 細胞の存在下では前記免疫細胞を特異的に活性化しない、項目 1 ～ 3 8 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 4 0)

前記免疫細胞が、T 細胞である、項目 1 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 4 1)

前記 T 細胞が、C D 8 + C D 4 - T 細胞である、項目 4 0 に記載の免疫細胞。

(項目 4 2)

M H C クラス I 遺伝子の発現及び／又は機能が、低下又は除去されている、項目 1 ～ 4 1 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

(項目 4 3)

前記 M H C クラス I 遺伝子が、ベーター 2 - マイクログロブリン (B 2 M) である、項目 4 2 に記載の免疫細胞。

(項目 4 4)

干渉 R N A を含むポリヌクレオチドを更に含み、前記干渉 R N A が、B 2 M m R N A の配列に相補的な配列を含む、項目 4 3 に記載の免疫細胞。

(項目 4 5)

前記干渉 R N A が、表 1 3 に記載の配列の群から選択される配列、又はそれと比較して最大で 1、2、3、若しくは 4 個の置換、挿入若しくは欠失を有する配列を含む、項目 4 4 に記載の免疫細胞。

(項目 4 6)

前記干渉 R N A が、前記 B 2 M m R N A の R N A i 媒介性分解を誘導することができる、項目 4 4 又は 4 5 に記載の免疫細胞。

(項目 4 7)

前記干渉 R N A が、ショートヘアピン R N A (s h R N A) である、項目 4 6 に記載の免疫細胞。

(項目 4 8)

前記 s h R N A が、

a. 前記 B 2 M m R N A の配列に相補的な配列を 5' 末端から 3' 末端に有する、第 1 の配列と、

b. 前記第 1 の配列に相補的な配列を 5' 末端から 3' 末端に有する、第 2 の配列と、を含み、

前記第 1 の配列及び前記第 2 の配列が、前記 s h R N A を形成する、項目 4 7 に記載の免疫細胞。

(項目 4 9)

前記 s h R N A が、G C A C T C A A A G C T T G T T A A G A T C G A A A T C T T A A C A A G C T T T G A G T G C (配列番号 3 4 9) 若しくは G T T A A C T T C C A A T T T A C A T A C C G A A G T A T G T A A A T T G G A A G T T A A C (配列番号 3 5 0) の配列、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、若しくは少なくとも 9 5 % の同一性を有する配列を含む、配列によってコードされる、項目 4 7 又は 4 8 に記載の免疫細胞。

(項目 5 0)

B 2 M をコードする配列に対する 1 つ以上の修飾を含み、前記 1 つ以上の修飾が、B 2 M の発現を低下させ、かつ／又は機能を除去する、項目 4 3 に記載の免疫細胞。

(項目 5 1)

前記 1 つ以上の修飾が、B 2 M をコードする内因性遺伝子の 1 つ以上の不活性化変異を含む、項目 5 0 に記載の免疫細胞。

(項目 5 2)

前記 1 つ以上の不活性化変異が、欠失、挿入、置換、又はフレームシフト変異を含む、項目 5 1 に記載の免疫細胞。

(項目 5 3)

10

20

30

40

50

前記1つ以上の不活性化変異が、B2Mをコードする前記内因性遺伝子の配列を特異的に標的とする少なくとも1つのガイド核酸（gNA）との複合体において、核酸誘導型エンドヌクレアーゼとともに導入される、項目51又は52に記載の免疫細胞。

（項目54）

前記gNAが、表12に記載の配列の群から選択される配列、又はそれと比較して最大で1、2、3、若しくは4個の置換、挿入若しくは欠失を有する配列を含む、項目53に記載の免疫細胞。

（項目55）

前記MHCクラスI遺伝子が、HLA-A*02である、項目42に記載の免疫細胞。

（項目56）

HLA-A*02 mRNAの配列に相補的な配列を含む、干渉RNAを含むポリヌクレオチドを更に含む、項目55に記載の免疫細胞。

（項目57）

前記干渉RNAが、前記HLA-A*02 mRNAのRNA干渉（RNAi）媒介性分解を誘導することができる、項目56に記載の免疫細胞。

（項目58）

前記干渉RNAが、

a. 前記HLA-A*02 mRNAの配列に相補的な配列を5'末端から3'末端に有する、第1の配列と、

b. 前記第1の配列に相補的な配列を5'末端から3'末端に有する、第2の配列と、を含む、ショートヘアピンRNA（shRNA）であり、

前記第1の配列及び前記第2の配列が、前記shRNAを形成する、項目57に記載の免疫細胞。

（項目59）

HLA-A*02をコードする内因性遺伝子の配列に対する1つ以上の修飾を含み、前記1つ又は修飾が、HLA-A*02の発現を低下させ、かつ／又は機能を除去する、項目55に記載の免疫細胞。

（項目60）

前記1つ以上の修飾が、HLA-A*02をコードする前記内因性遺伝子の1つ以上の不活性化変異を含む、項目59に記載の免疫細胞。

（項目61）

前記1つ以上の不活性化変異が、HLA-A*02をコードする前記内因性遺伝子の配列を特異的に標的とする少なくとも1つのガイド核酸（gNA）との複合体において、核酸誘導型エンドヌクレアーゼとともに導入される、項目59又は60に記載の免疫細胞。

（項目62）

前記第1の受容体が、配列番号164の配列を含み、前記第2の受容体が、配列番号52の配列、又はそれと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、若しくは少なくとも99%の同一性を有する配列を含む、項目1～61のいずれか一項に記載の免疫細胞。

（項目63）

GCACTCAAAGCTTGTTAAGATCGAAATCTTAACAAGCTTTGAGTGTC（配列番号349）若しくはGTTAACTTCCAATTTACATACCGAAGTATGTAAATTGGAAAGTTAAC（配列番号350）を含む配列、又はそれと少なくとも80%、少なくとも90%、若しくは少なくとも95%の同一性を有する配列によってコードされるshRNAを含む、項目62に記載の免疫細胞。

（項目64）

前記第1の受容体及び第2の受容体が、単一のポリヌクレオチドによってコードされ、前記第1及び第2の受容体をコードする配列が、自己切断ポリペプチドをコードする配列によって分離される、項目62又は63に記載の免疫細胞。

（項目65）

10

20

30

40

50

前記自己切断ポリペプチドが、G S G E G R G S L L T C G D V E E N P G P（配列番号 3 5 1）の配列を含む T 2 A 自己切断ポリペプチドを含む、項目 6 3 に記載の免疫細胞。

（項目 6 6）

前記免疫細胞が、自己由来である、項目 1 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

（項目 6 7）

前記免疫細胞が、同種異系である、項目 1 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の免疫細胞。

（項目 6 8）

治療有効量の項目 1 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の免疫細胞を含む、医薬組成物。

（項目 6 9）

薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を更に含む、項目 6 8 に記載の医薬組成物。

（項目 7 0）

M S L N + がんの治療において医薬として使用するための、項目 6 8 又は 6 9 に記載の医薬組成物。

（項目 7 1）

ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系であって、

a. メソテリン（M S L N）に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第 1 の受容体、及び

b. M S L N + がん細胞において喪失している非標的抗原に特異的な細胞外リガンド結合ドメインを含む、第 2 の受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む、1 つ以上のポリヌクレオチドを含み、

前記第 1 の受容体が、前記 M S L N + がん細胞上の M S L N に応答する活性化因子受容体であり、前記第 2 の受容体が、前記非標的抗原に応答する抑制性受容体である、ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系。

（項目 7 2）

ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系であって、項目 1 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の免疫細胞の生成に使用するための、前記第 1 の受容体及び前記第 2 の受容体をコードするポリヌクレオチド配列を含む、1 つ以上のポリヌクレオチドを含む、ポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系。

（項目 7 3）

B 2 M に特異的な s h R N A をコードする配列を含む、項目 7 1 又は 7 2 に記載のポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系。

（項目 7 4）

前記第 1 の受容体、前記第 2 の受容体、及び B 2 M に特異的な前記 s h R N A をコードする配列が、同じポリヌクレオチドによってコードされる、項目 7 3 に記載のポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系。

（項目 7 5）

a. B 2 M に特異的な前記 s h R N A をコードする配列が、G C A C T C A A A G C T T G T T A A G A T C G A A A T C T T A A C A A G C T T T G A G T G C（配列番号 3 4 9）若しくは G T T A A C T T C C A A T T T A C A T A C C G A A G T A T G T A A A T T G G A A G T T A A C（配列番号 3 5 0）、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、若しくは少なくとも 9 5 % の同一性を有する配列を含み、

b. 前記第 1 の受容体をコードする配列が、配列番号 3 0 3 の a を含むポリペプチドをコードする配列、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、若しくは少なくとも 9 5 % の同一性を有する配列を含み、

c. 前記第 2 の受容体をコードする配列が、配列番号 3 4 8 の配列を含むポリペプチドをコードする配列、又はそれと少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、若しくは少なくとも 9 5 % の同一性を有する配列を含む、項目 7 3 又は 7 4 に記載のポリヌクレオチド又はポリヌクレオチド系。

（項目 7 6）

項目 7 1 ～ 7 5 のいずれか一項に記載の 1 つ以上のポリヌクレオチドを含む、ベクター。
(項目 7 7)

M H C クラス I 遺伝子座におけるヘテロ接合性の喪失を有する M S L N + がん細胞を死滅させる方法であって、有効量の項目 1 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の免疫細胞又は項目 6 6 ～ 6 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物を対象に投与することを含む、方法。

(項目 7 8)

M H C クラス I 遺伝子座におけるヘテロ接合性の喪失を有する M S L N + 腫瘍を有する対象において M S L N + がんを治療する方法であって、有効量の項目 1 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の免疫細胞又は項目 6 8 ～ 7 0 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目 7 9)

対象においてがんを治療する方法であって、

a . 前記対象の正常細胞及び複数のがん細胞の H L A - A 遺伝子型又は発現を決定することと、

b . 任意選択で、前記対象の複数のがん細胞における M S L N の発現を決定することと、

c . 前記正常細胞が、H L A - A * 0 2 を発現し、前記複数のがん細胞が、H L A - A * 0 2 を発現せず、前記複数のがん細胞が、M S L N 陽性である場合、有効量の項目 1 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の免疫細胞、又は項目 6 6 ～ 6 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物を前記対象に投与することと、を含む、方法。

(項目 8 0)

前記対象が、M S L N (M S L N +) を発現し、H L A - A * 0 2 発現を喪失した悪性腫瘍を有するヘテロ接合型 H L A - A * 0 2 患者である、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 1)

前記対象が、M S L N を発現し、H L A - A * 0 2 発現を喪失した再発性切除不能又は転移性固形腫瘍を有するヘテロ接合型 H L A - A * 0 2 患者である、項目 7 9 に記載の方法。

(項目 8 2)

前記がんが、中皮腫がん、卵巣がん、子宮頸がん、結腸直腸がん、食道がん、頭頸部がん、腎臓がん、子宮がん、胃がん、膵臓がん、肺がん、結腸直腸がん、又は胆管がんを含む、項目 7 9 ～ 8 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 3)

前記がんが、対象において再発しており、前記がんが、1 つ以上の以前に投与された抗がん療法に対して難治性であり、かつ／又は前記がんが、転移性である、項目 8 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 4)

前記がん細胞が、H L A - A * 0 2 を発現しない M S L N + / H L A - A * 0 2 - がん細胞を含む、項目 7 9 ～ 8 3 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 5)

前記 M S L N + / H L A - A * 0 2 - がん細胞が、H L A - A * 0 2 の喪失をもたらす、H L A - A におけるヘテロ接合性の喪失によって M L S N + / H L A - A * 0 2 + 細胞から派生する、項目 8 4 に記載の方法。

(項目 8 6)

前記第 1 の受容体及び前記第 2 の受容体がともに、前記 M S L N + / H L A - A * 0 2 - がん細胞の存在下で前記免疫細胞を特異的に活性化する、項目 7 9 ～ 8 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 7)

前記第 1 の受容体及び前記第 2 の受容体がともに、H L A - A * 0 2 を喪失していない M S L N + 細胞の存在下で前記免疫細胞を特異的に活性化しない、項目 7 9 ～ 8 6 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 8)

10

20

30

40

50

項目 1 ～ 5 8 のいずれか一項に記載の免疫細胞、又は項目 5 9 ～ 6 1 のいずれか一項に記載の医薬組成物の投与が、前記対象における腫瘍のサイズを減少させる、項目 7 9 ～ 8 7 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 8 9)

前記腫瘍が、約 5 %、約 1 0 %、約 1 5 %、約 2 0 %、約 2 5 %、約 3 0 %、約 3 5 %、約 4 0 %、約 4 5 %、約 5 0 %、約 5 5 %、約 6 0 %、約 6 5 %、約 7 0 %、約 7 5 %、約 8 0 %、約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 5 %、又は約 1 0 0 % 減少する、項目 8 8 に記載の方法。

(項目 9 0)

前記腫瘍が、除去される、項目 8 8 に記載の方法。

(項目 9 1)

前記免疫細胞又は前記医薬組成物の投与が、前記対象における腫瘍の増殖を阻止する、項目 8 8 又は 8 9 に記載の方法。

(項目 9 2)

前記免疫細胞又は前記医薬組成物の投与が、前記対象における腫瘍の数を減少させる、項目 7 9 ～ 9 1 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 3)

前記免疫細胞又は前記医薬組成物の投与が、前記対象におけるがん細胞の選択的死滅をもたらすが、正常細胞の死滅をもたらさない、項目 7 9 ～ 9 2 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 4)

死滅した前記細胞の少なくとも約 6 0 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 6 5 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 7 0 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 7 5 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 8 0 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 8 5 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 9 0 % が、がん細胞であるか、死滅した前記細胞の約 9 5 % が、がん細胞であるか、又は死滅した前記細胞の約 1 0 0 % が、がん細胞である、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 5)

前記免疫細胞又は医薬組成物の投与が、前記対象の前記がん細胞の少なくとも約 4 0 %、約 5 0 %、約 6 0 %、約 7 0 %、約 8 0 %、約 9 0 % 又は全ての前記死滅をもたらす、項目 9 3 に記載の方法。

(項目 9 6)

前記免疫細胞又は前記医薬組成物の投与が、第 1 の活性化因子受容体を含むが、第 2 の抑制性受容体を含まない他の等価の免疫細胞の投与よりも、前記対象に対して少ない副作用をもたらす、項目 7 9 ～ 9 5 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 9 7)

複数の免疫細胞を作製する方法であって、

a. 複数の免疫細胞を提供することと、

b. 項目 7 1 ～ 7 5 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチド系、又は項目 7 6 に記載のベクターで前記複数の免疫細胞を形質転換することと、を含む、方法。

(項目 9 8)

項目 1 ～ 6 7 のいずれか一項に記載の免疫細胞、又は項目 6 8 ～ 7 0 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物を含む、キット。

(項目 9 9)

使用説明書を更に含む、項目 9 8 に記載のキット。

10

20

30

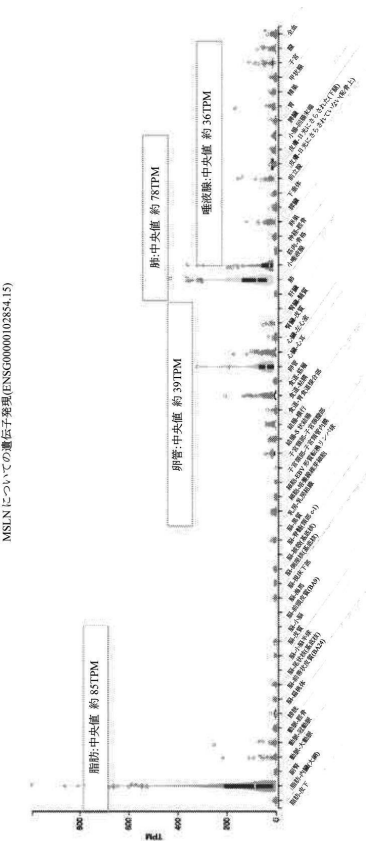
40

50

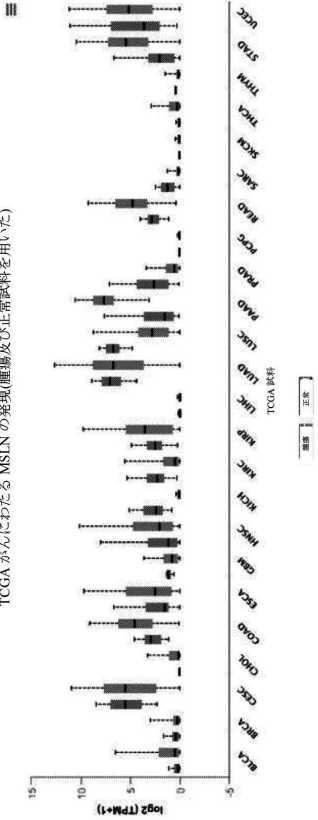
【図面】
【図 1】

	結腸がん	卵巣	肺癌がん	肝臓がん	中皮腫
遺伝子	TCGA-COADREAD-Xena-中央値-TPKM (388 個の試料)	TCGA-OV-Xena-中央値-TPKM (427 個の試料)	TCGA-LUAD-Xena-中央値-TPKM (515 個の試料)	TCGA-PAAD-Xena-中央値-TPKM (179 個の試料)	TCGA-MESO-Xena-中央値-TPKM (87 個の試料)
VASN	1.7	5.1	3.5	3.7	5.1
TUSC3	1.8	5.0	4.8	4.9	5.3
VSIG4	1.8	3.8	4.5	4.0	5.0
CTNN1	0.3	6.6	2.1	2.1	5.0
NPRL	-0.4	5.2	1.2	1.3	5.5
HAS1	-3.0	-3.6	-2.7	-0.6	5.7
CD200	1.7	3.9	2.0	2.7	5.7
LRRN4*	-4.0	0.5	1.3	-1.8	5.0
UPK3B*	-1.5	6.3	0.7	0.6	9.2
PTGIS	-0.2	1.8	1.6	3.2	6.9
SCARA3	0.7	5.7	2.0	3.2	5.7
UPK1B	-10.0	2.4	-4.3	0.9	6.7
CLIC3	1.7	3.6	3.7	4.4	5.6

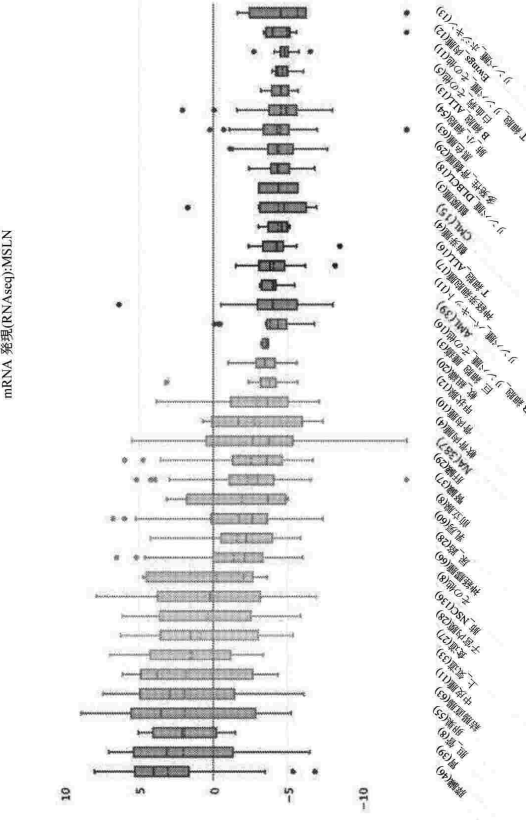
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

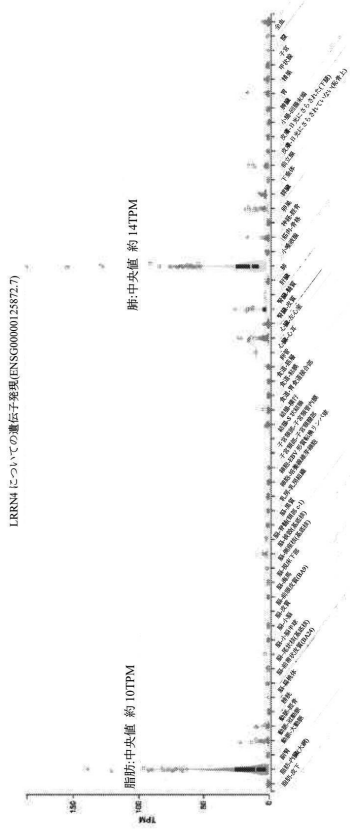
20

30

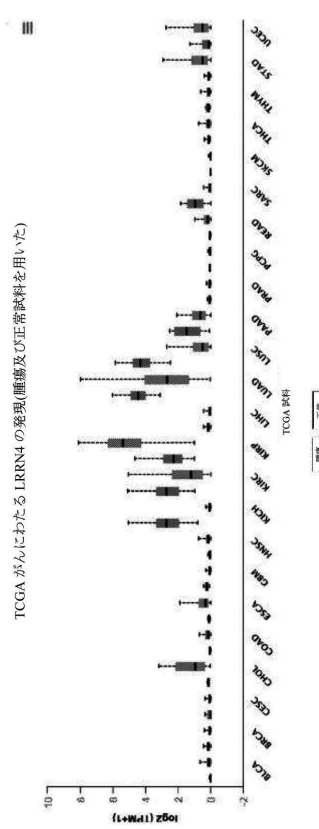
40

50

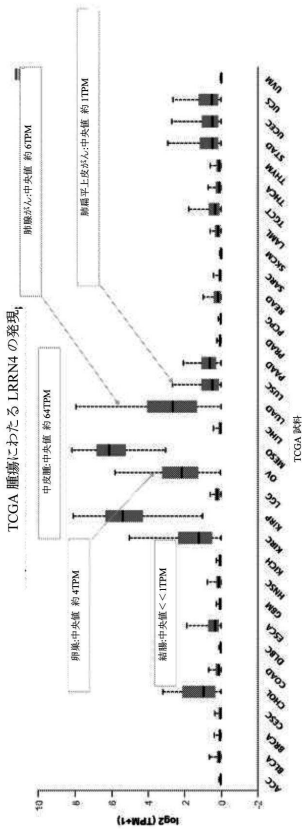
【図 5】



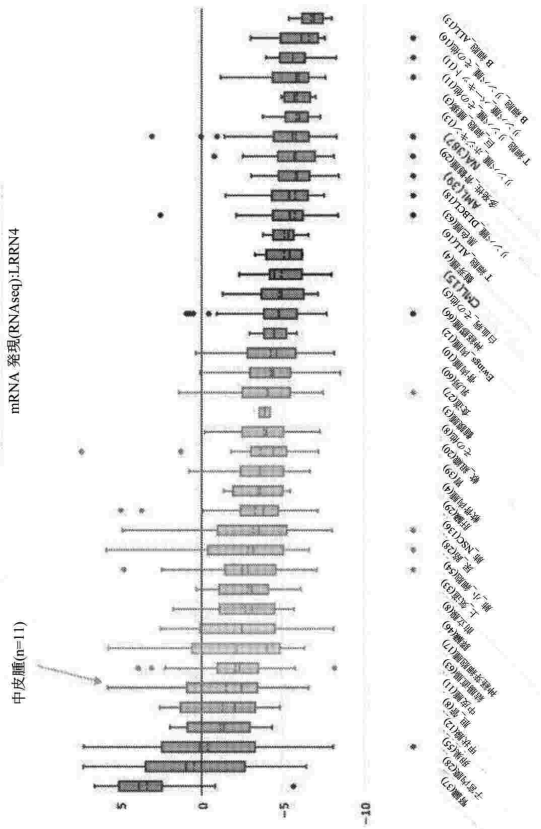
【図 6】



【図 7】



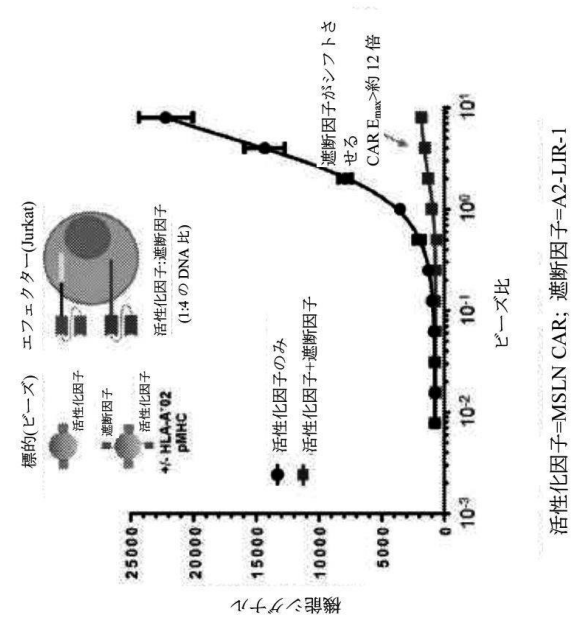
【図 8】



【圖 9】



【図 10 A】

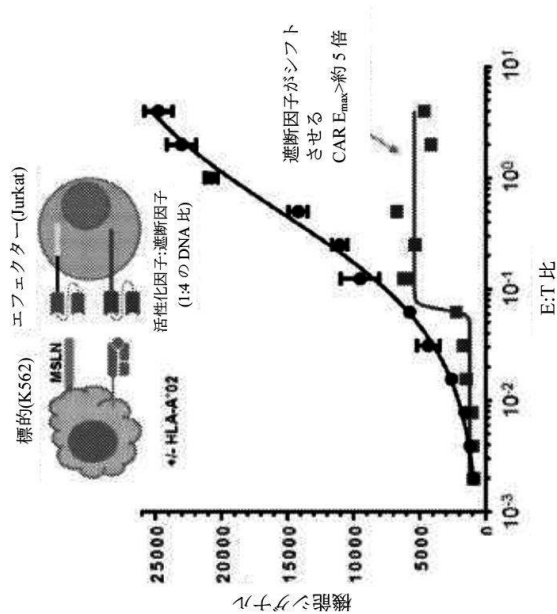


活化因子=MSLN CAR; 遮断因子=A2-LIR-1

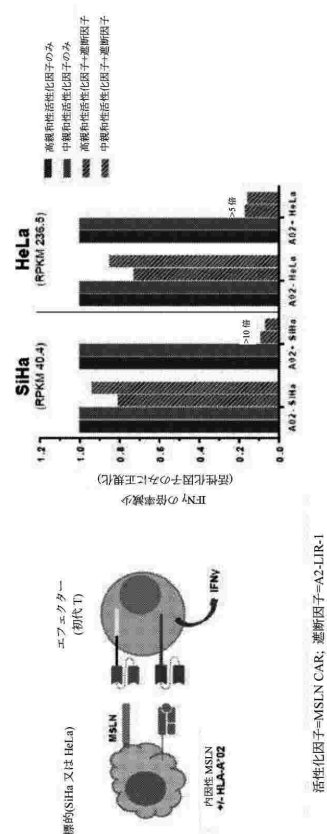
10

20

【図 10 B】



【図 1 1】



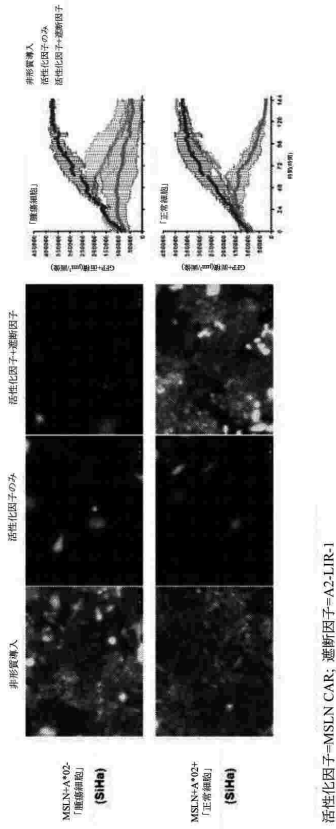
活化因子=MSLN CAR; 遮断因子=A2-LIR-1

30

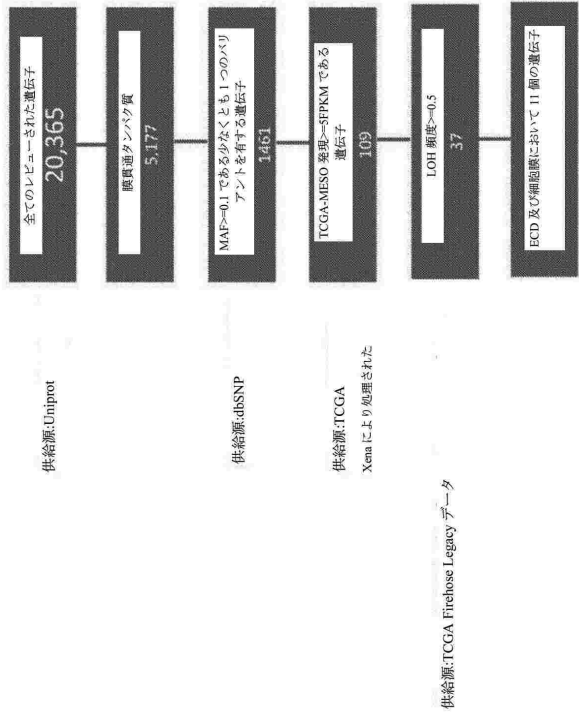
40

50

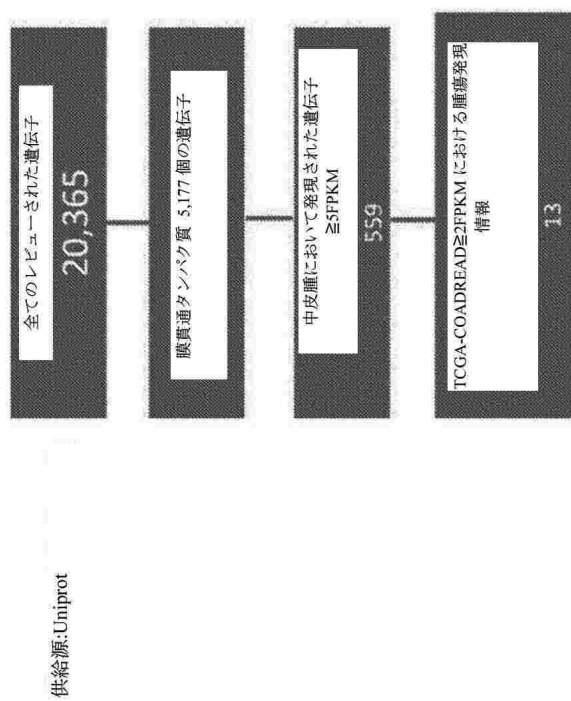
【図 1 2】



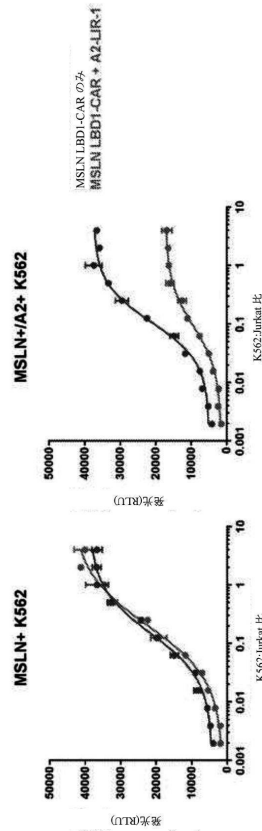
【図 1 3】



【図 1 4】



【図 1 5 A】



10

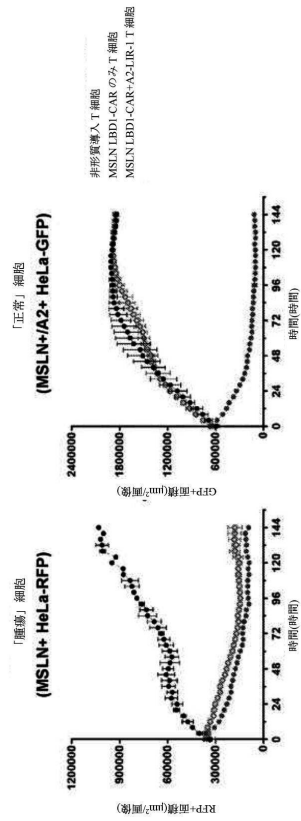
20

30

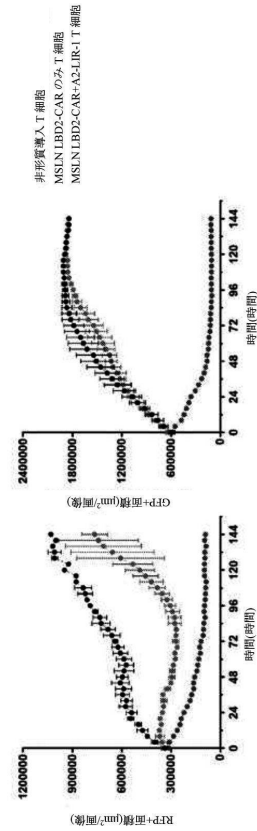
40

50

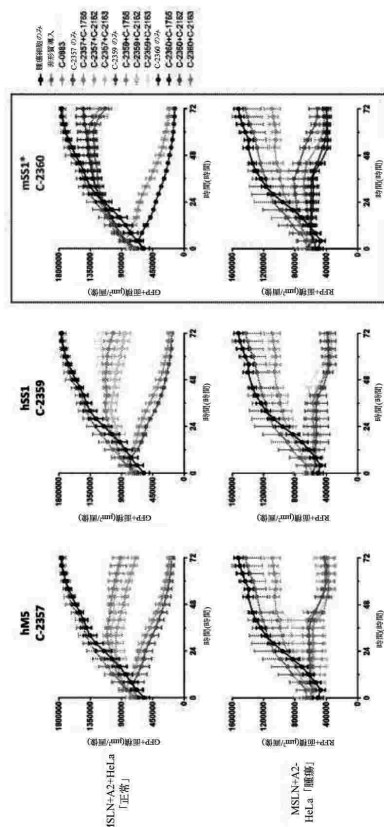
【図 15 B】



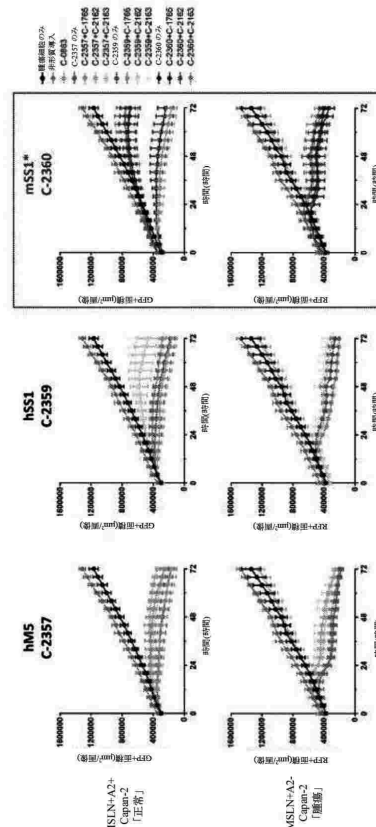
【図 15 C】



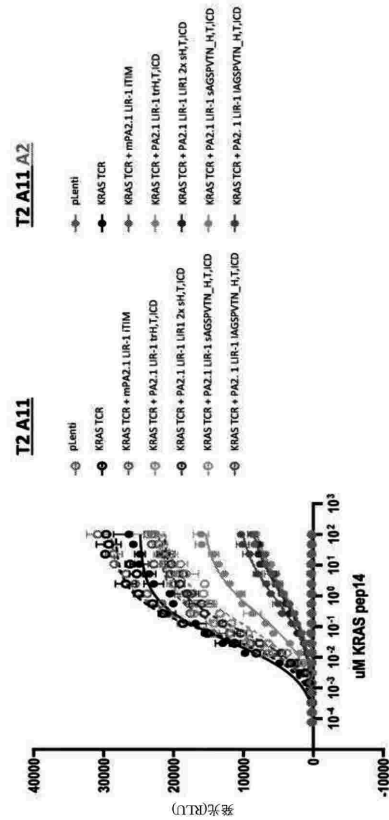
【図 16】



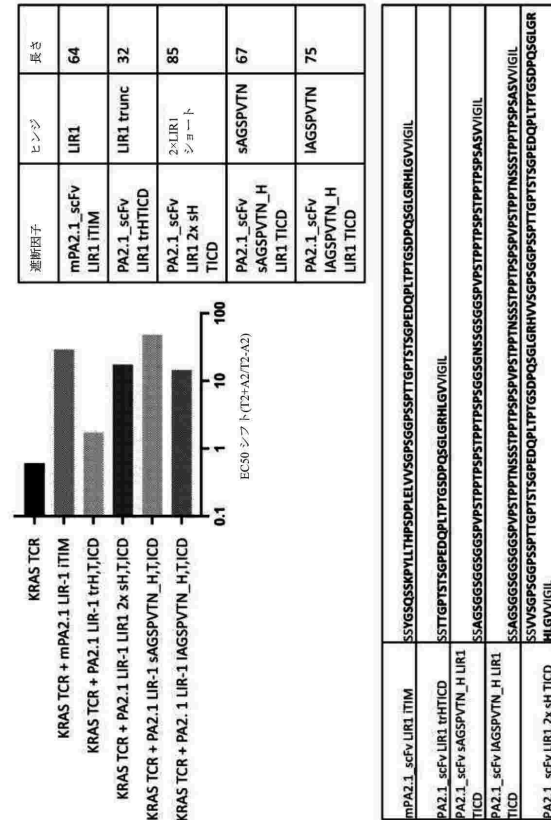
【図 17】



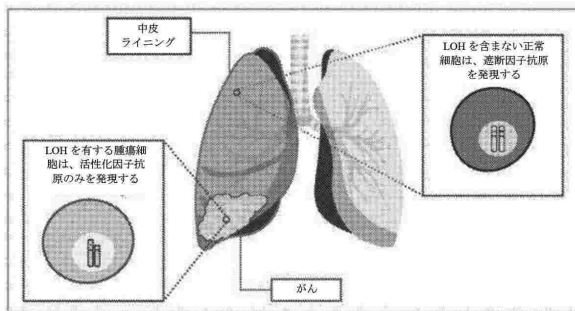
【図 2 1 A】



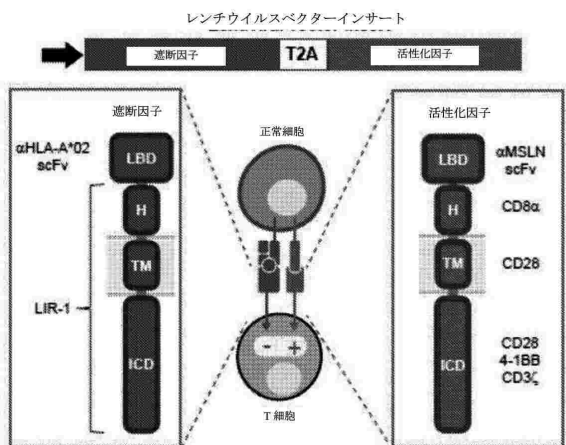
【図 2 1 B】



【図 2 2 A】



【図 2 2 B】



10

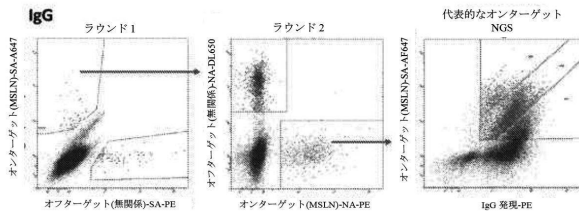
20

30

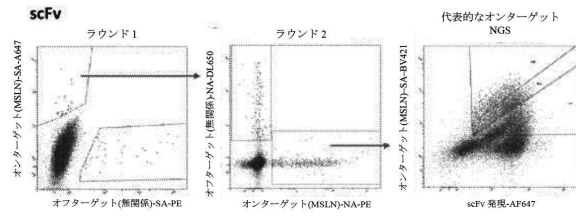
40

50

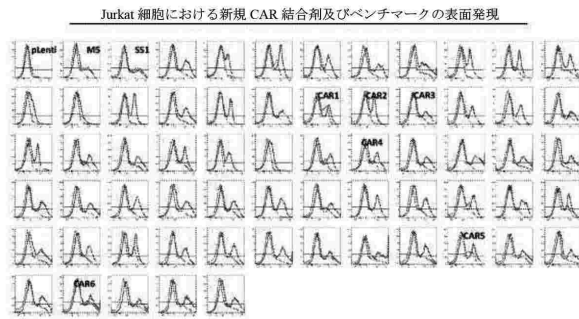
【図 2 3 A】



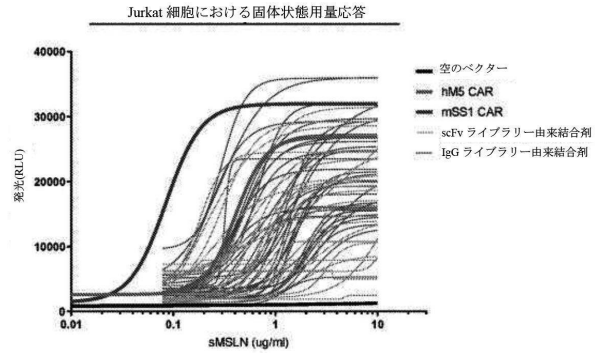
【図 2 3 B】



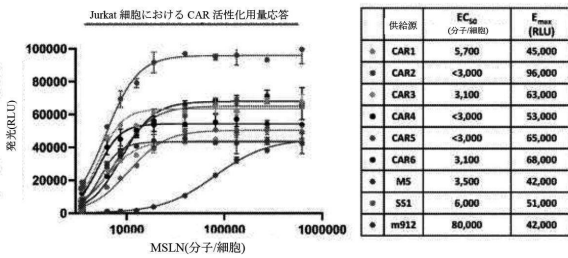
【図 2 3 C】



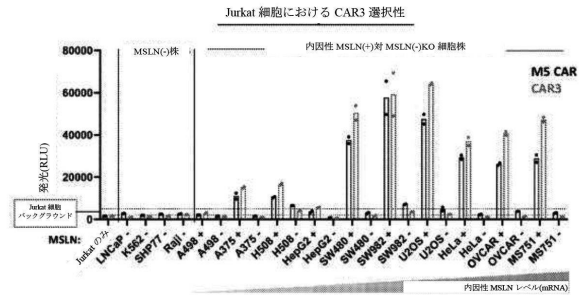
【図 2 3 D】



【図 2 4 A】



【図 2 4 B】



10

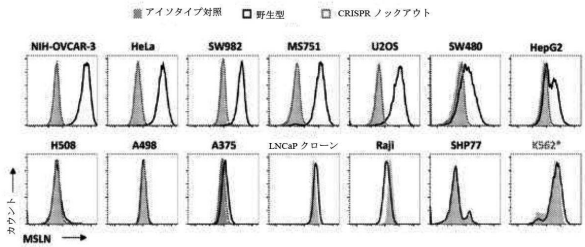
20

30

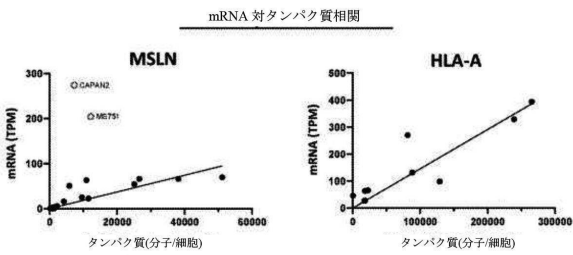
40

50

【図 2 5 A】



【図 2 5 B】



【図 2 6 A】

腫瘍細胞株	mRNA			タンパク質		
	MSLN (TPM)	HLA-A (TPM)	A*02:MSLN 比	MSLN (fmol/細胞)	A*02 (fmol/細胞)	A*02:MSLN 比
MS751 (子宮頸部; A*02:01, A*24:02)	205	156	0.4	12,000	28,000	2.3
MS751 (A*02 で形質導入)	205	438	2.1	12,000	301,000	25
HeLa (子宮頸部; A*68:02, A*68:02; A*02 で形質導入)	66	85	na na	27,000	740,000	27
NIH-OVCAR-3 (卵巣; A*02:01, A*29:02)	70	81	0.6	51,000	25,000	0.5
U2OS (骨; A*02:01, A*32:01)	25	108	2.2	9,600	18,000	1.9
SW982 (膀胱; A*02:01, A*02:01)	22	533	24	12,000	240,000	20
腫瘍	MSLN (TPM)	A*02 (TPM)	A*02:MSLN 比			
肺腺がん	371	LOH	na			
中皮腫	784	LOH	na			
卵巣	511	LOH	na			
正常組織(GTex)	MSLN (TPM)	HLA-A (TPM)	A*02:MSLN 比			
肺	88	1934	22			

【図 2 6 B】

研究に使用した細胞株における MSLN 発現(分子/細胞)

	細胞株	平均	標準偏差
1	NIH-OVCAR-3	51,000	12,000
2	HeLa	27,000	1,900
3	SW982	12,000	730
4	MS751	12,000	1,700
5	U2OS	9,600	2,800
6	SW480	2,200	1,200
7	HEPG2	1,900	120
8	H508	1,000	400
9	LncAP クローン FGC	930	220
10	A498	820	39
11	A375	630	170
12	Raji	180	5
13	SHP77	180	-
14	K562	n/a	n/a

10

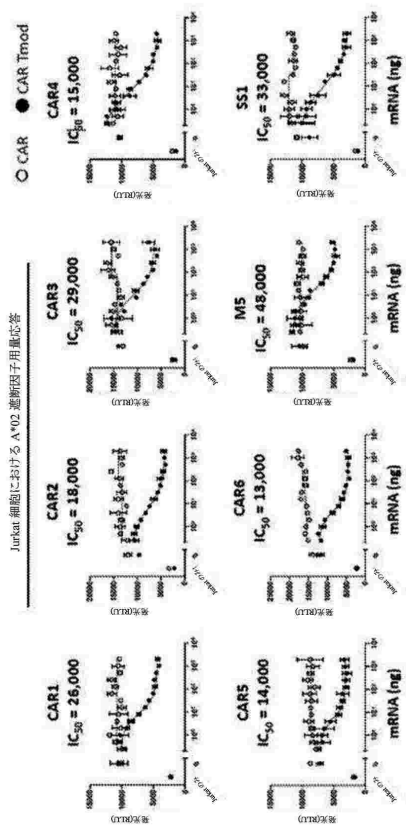
20

30

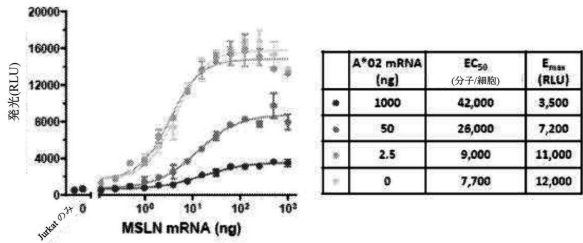
40

50

【図 2 7 A】



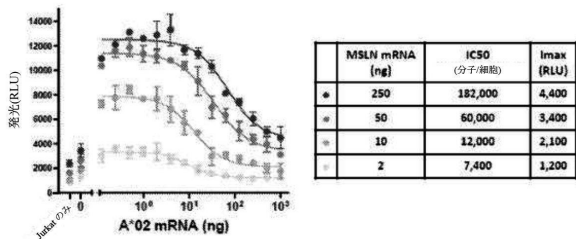
【図 2 7 B】



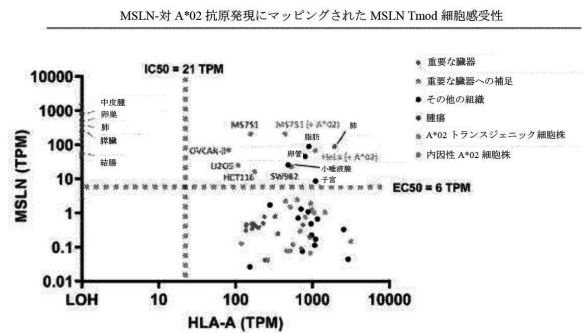
10

20

【図 2 7 C】



【図 2 8 A】

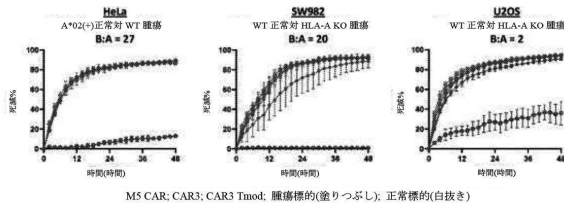


30

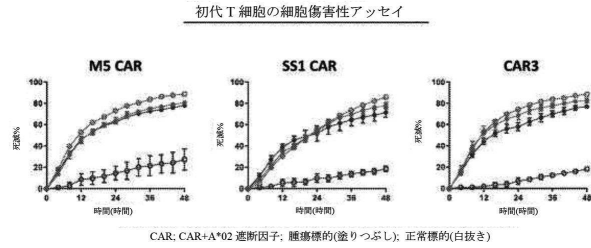
40

50

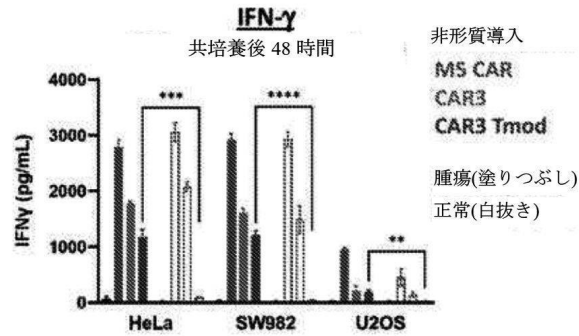
【図 28 B】



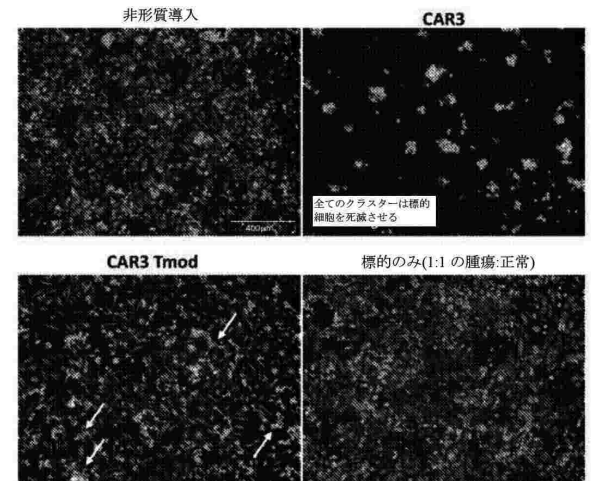
【図 29 A】



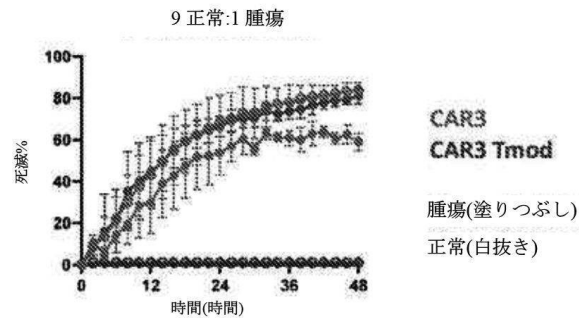
【図 29 B】



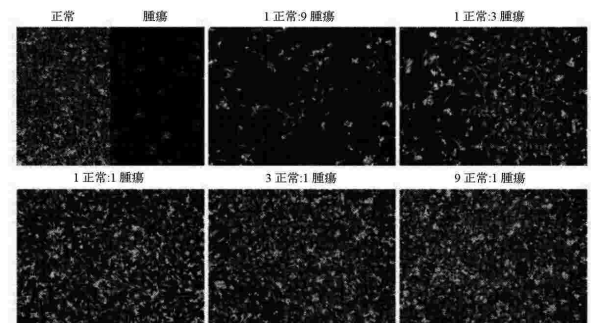
【図 30 A】



【図 30 B】



【図 31 A】



10

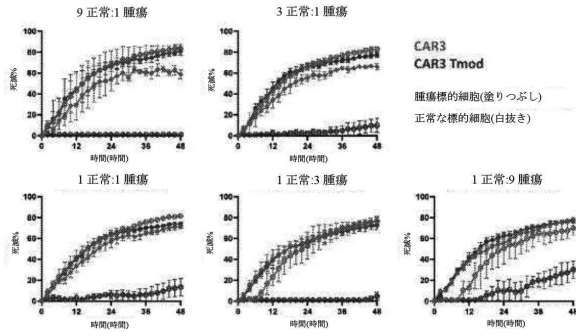
20

30

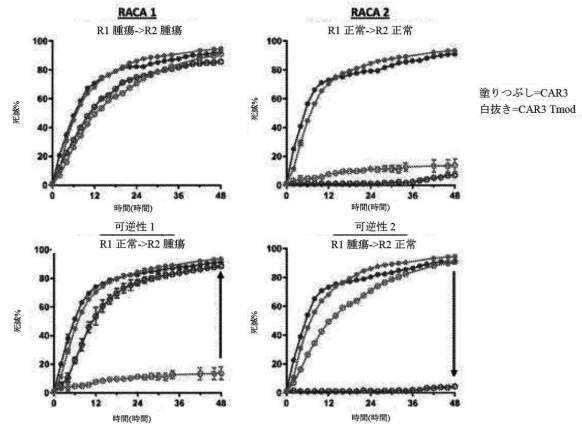
40

50

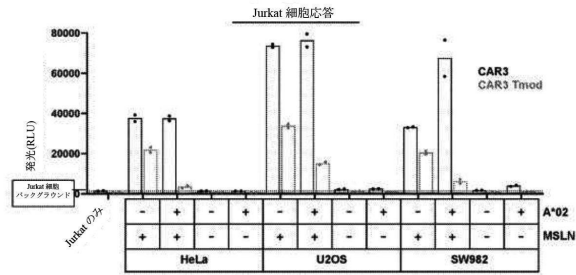
【図 3 1 B】



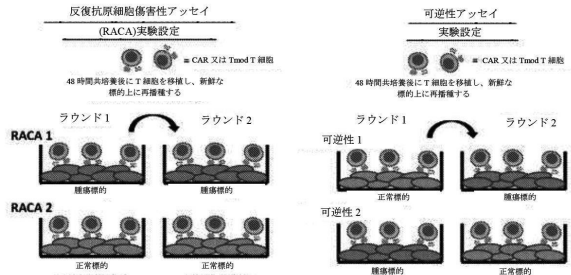
【図 3 2 A】



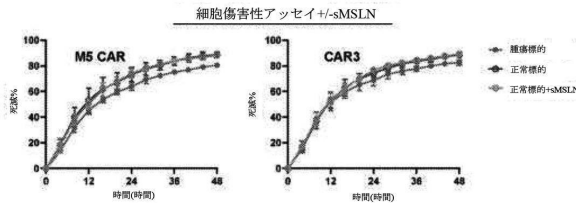
【図 3 2 B】



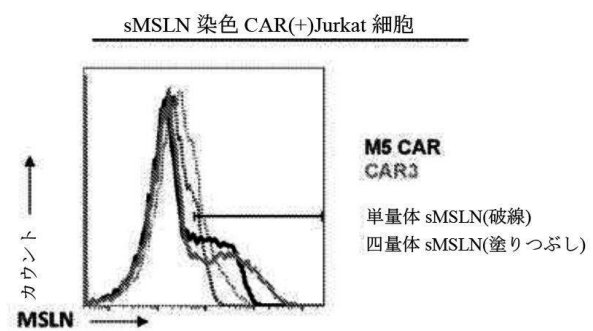
【図 3 3 A】



【図 3 3 B】



【図 3 3 C】



10

20

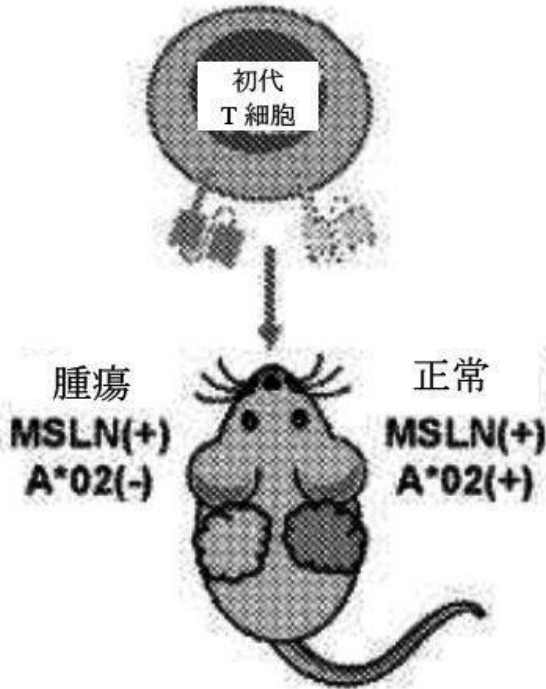
30

40

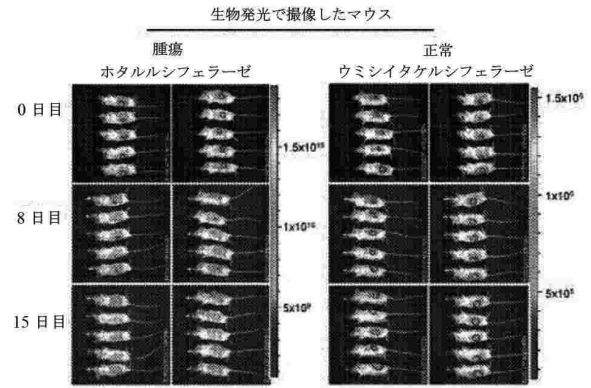
50

【図 3 4 A】

MSLN CAR 又は MSLN Tmod



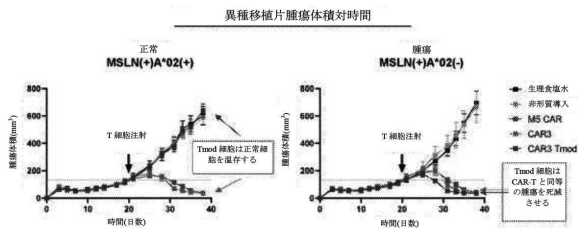
【図 3 4 B】



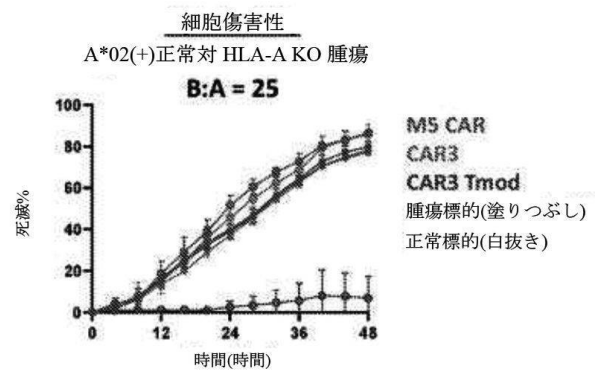
10

20

【図 3 4 C】



【図 3 5 A】

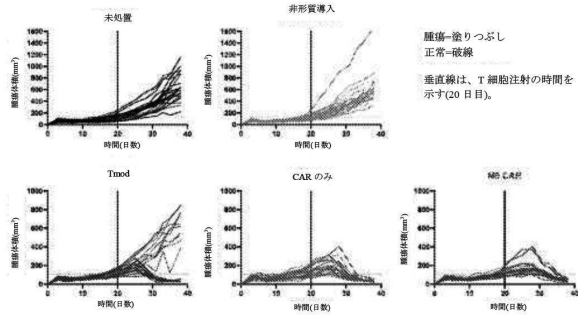


30

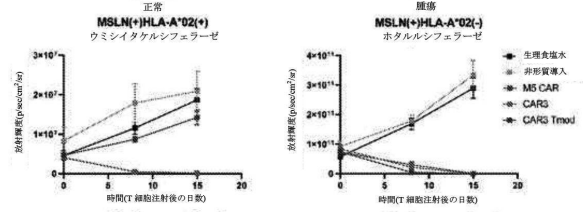
40

50

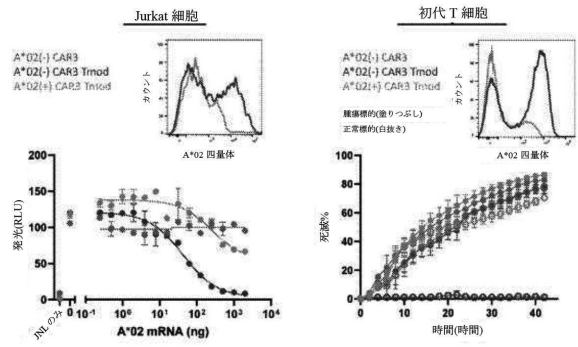
【図 3 5 B】



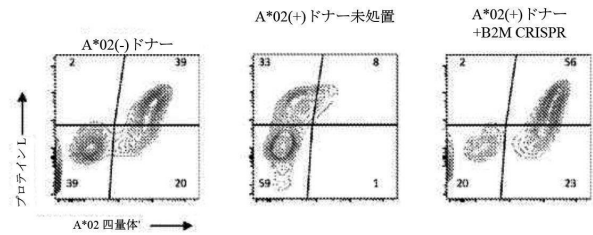
【図 3 5 C】



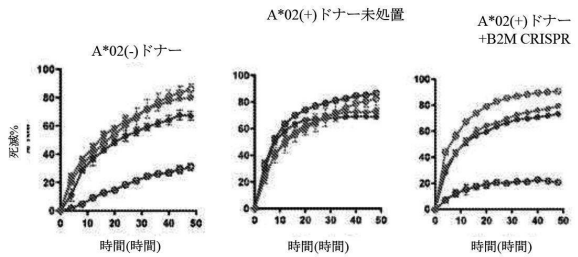
【図 3 6】



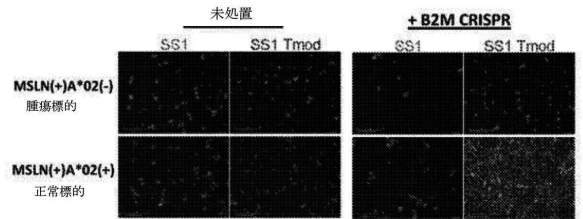
【図 3 7 A】



【図 3 7 B】



【図 3 7 C】



10

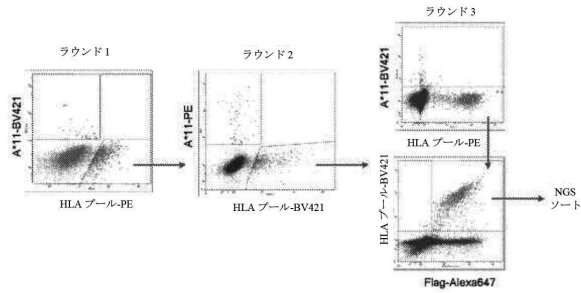
20

30

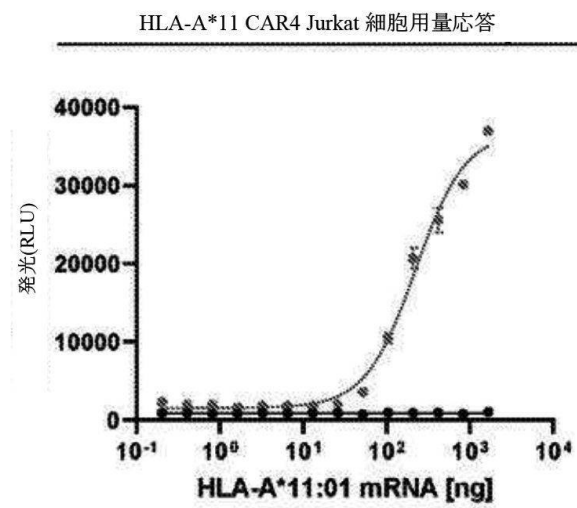
40

50

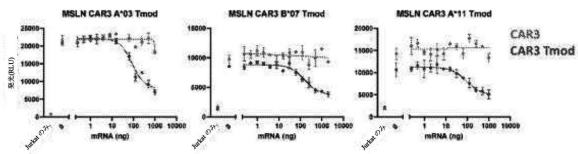
【図 3 8 A】



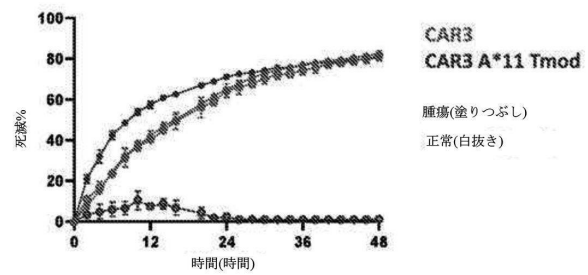
【図 3 8 B】



【図 3 9 A】



【図 3 9 B】



10

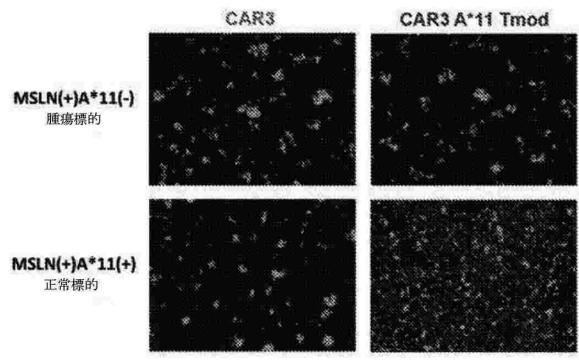
20

30

40

50

【図 3 9 C】



10

【配列表】

0007634653000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	15/12	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/12		Z N A
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/13		
C 1 2 N	15/85	(2006.01)	C 1 2 N	15/62		Z
C 0 7 K	14/705	(2006.01)	C 1 2 N	15/85		Z
C 0 7 K	16/28	(2006.01)	C 0 7 K	14/705		
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	16/28		
			C 0 7 K	19/00		

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

早期審査対象出願

弁護士 山本 健策

(72)発明者 カム, カール アレクサンダー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 0 1, アゴウラ ヒルズ, アゴウラ ロード 3 0 3 0 1
 , スイート 2 1 0, エー2 バイオセラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ワルシャヴィアク, ドーラ トレド

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 0 1, アゴウラ ヒルズ, アゴウラ ロード 3 0 3 0 1
 , スイート 2 1 0, エー2 バイオセラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 トカトリアン, テイラー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 0 1, アゴウラ ヒルズ, アゴウラ ロード 3 0 3 0 1
 , スイート 2 1 0, エー2 バイオセラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ハンバーガー, アグネス

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 3 0 1, アゴウラ ヒルズ, アゴウラ ロード 3 0 3 0 1
 , スイート 2 1 0, エー2 バイオセラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

審査官 上條 のぶよ

(56)参考文献 国際公開第2020/065406 (WO, A2)

国際公開第2019/068007 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 5/00-28

C 1 2 N 15/00-90

A 6 1 K 35/00-768

C 0 7 K 14/00-14/825

C 0 7 K 16/00-46

C 0 7 K 19/00

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)

G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q