(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2017-526370
(P2017-526370A)
(43)公表日　平成29年9月14日(2017.9.14)

| (51)Int.Cl. | | F I | | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|
| C12N 15/09 | (2006.01) | C12N | 15/00 | ZNAA | 4B065 |
| C12N 5/10 | (2006.01) | C12N | 5/10 | | 4C085 |
| C07K 16/28 | (2006.01) | C07K | 16/28 | | 4C087 |
| C07K 14/705 | (2006.01) | C07K | 14/705 | | 4H045 |
| C07K 19/00 | (2006.01) | C07K | 19/00 | | |

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 135 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-511691 (P2017-511691)
(86)(22)出願日　平成27年8月28日 (2015.8.28)
(85)翻訳文提出日　平成29年4月17日 (2017.4.17)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/047606
(87)国際公開番号　WO2016/033570
(87)国際公開日　平成28年3月3日 (2016.3.3)
(31)優先権主張番号　62/078,942
(32)優先日　平成26年11月12日 (2014.11.12)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　62/043,273
(32)優先日　平成26年8月28日 (2014.8.28)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　516316897
ジュノー　セラピューティクス　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　９８１０９　ワシントン州　シアトル　ウエストレイク　アベニュー　ノース　３０７　スイート　３００
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＣＤ１９に特異的な抗体およびキメラ抗原受容体

(57)【要約】
CD19結合分子、例えば、一本鎖フラグメントなどの抗体フラグメントを含む抗CD19抗体、および前記抗体を含むキメラ受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）が提供される。本抗体には、CD19への結合に関してマウス抗体などのリファレンス抗体と競合するものを含むヒト抗体が包含される。いくつかの態様において、抗体は、リファレンス抗体と類似する機能的性質、例えば同等の結合アフィニティーおよび/または競合阻害特性を呈する。前記キメラ受容体を発現する遺伝子改変細胞、ならびに養子細胞療法における前記結合分子および細胞の使用も提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
重鎖可変（VH）領域と軽鎖可変（VL）領域とを含む抗CD19抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、
該VH領域が、SEQ ID NO:20に示すアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含む;または
該VH領域が、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185に示すVH領域アミノ酸配列に対して少なくとも90％の配列同一性を含む、抗CD19抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２】
VH領域が、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すVH領域アミノ酸配列に対して少なくとも90％の配列を含む、請求項1記載の抗CD19抗体または抗原結合性フラグメント。
【請求項３】
SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185に示すVH領域アミノ酸配列内に含まれる重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、CDR-H2、およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1 1、CDR-H2、およびCDR-H3;および/または
SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90、91、または187～205に示す軽鎖可変（VL）領域アミノ酸配列内に含まれる軽鎖相補性決定領域1（CDR-L1）、CDR-L2、およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3
を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項４】
重鎖が、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すVH領域アミノ酸配列内に含まれるCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含み;かつ/または
軽鎖が、SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90、または91に示す軽鎖可変（VL）領域アミノ酸配列内に含まれるCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3配列のアミノ酸配列を含む、請求項3記載の抗体または抗原結合性フラグメント。
【請求項５】
SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:81または82のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:20に示すアミノ酸配列を含むCDR-H3;および/または
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 226)
のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$がT、Q、S、またはRであり; $X_2$がG、A、またはEであり; $X_3$がI、T、A、D、またはSであり; $X_4$がS、R、T、Q、G、またはIであり; $X_5$がヌル、S、R、またはTであり; $X_6$がG、D、N、またはヌルであり; $X_7$がヌル、V、L、またはIであり; $X_8$がD、G、I、L、S、またはヌルであり; $X_9$がS、G、A、I、D、R、またはヌルであり; $X_{10}$がH、Y、F、S、またはNであり; $X_{11}$がR、N、D、H、Y、またはTであり; $X_{12}$がY、F、D、W、H、T、またはSであり; $X_{13}$がV、A、またはLであり;かつ$X_{14}$がS、N、またはAである、CDR-L1;
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$（SEQ ID NO:227）
のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$がD、S、またはGであり; $X_2$がF、V、N、K、またはAであり; $X_3$がS、T、D、またはNであり; $X_4$がK、V、N、Q、またはRであり; $X_5$がR、V、またはLであり; $X_6$がP、K、A、またはEであり;かつ$X_7$がS、P、A、またはTである、CDR-L2;および
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 228)
のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$がS、G、T、A、Q、C、またはNであり; $X_2$がS、Q、A、またはTであり; $X_3$がY、S、W、Rであり; $X_4$がA、D、R、T、またはYであり; $X_5$がA、S、P、G、N、またはDであり; $X_6$がI、S、G、T、A、L、H、R、またはNであり; $X_7$がS、P、L、Y、Gであり; $X_8$がP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり; $X_9$がS、L、N、A、M、R、またはヌルであり; $X_{10}$がL、D、またはヌルであり; $X_{11}$がY、W、F、V、A、またはLであり;か

つ$X_{12}$がV、T、P、またはLである、CDR-L3
を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項６】
CDR-L1が、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)
のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$がT、Q、S、またはRであり；$X_2$がGまたはAであり；$X_3$がI、T、D、またはSであり；$X_4$がS、R、T、またはQであり；$X_5$がヌルまたはSであり；$X_6$がG、D、N、またはヌルであり；$X_7$がヌル、V、またはLであり；$X_8$がD、G、I、L、S、またはヌルであり；$X_9$がS、G、A、I、R、またはヌルであり；$X_{10}$がH、Y、F、S、またはNであり；$X_{11}$がR、N、D、H、またはYであり；$X_{12}$がY、F、D、またはWであり；$X_{13}$がV、A、またはLであり；かつ$X_{14}$がS、N、またはAであり；
CDR-L2が、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$（SEQ ID NO:112）
のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$がDまたはSであり；$X_2$がF、V、N、K、またはAであり；$X_3$がS、T、D、またはNであり；$X_4$がK、V、N、Q、またはRであり；$X_5$がR、V、またはLであり；$X_6$がP、K、A、またはEであり；かつ$X_7$がS、P、A、またはTであり；かつ
CDR-L3が、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)
のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$がS、G、T、A、Q、C、またはNであり；$X_2$がS、Q、A、またはTであり；$X_3$がY、S、W、Rであり；$X_4$がA、D、R、T、またはYであり；$X_5$がA、S、P、G、N、またはDであり；$X_6$がI、S、G、T、A、L、H、R、またはNであり；$X_7$がS、P、L、Y、Gであり；$X_8$がP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり；$X_9$がS、L、N、A、M、またはヌルであり；$X_{10}$がLまたはヌルであり；$X_{11}$がY、W、F、V、A、またはLであり；かつ$X_{12}$がV、T、またはLである、請求項5記載の抗体または抗原結合性フラグメント。
【請求項７】
CDR-L1が、アミノ酸配列
$X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)
を含み、配列中、$X_1$がT、S、またはQであり、$X_3$がT、S、またはDであり、$X_4$がTまたはSであり、$X_5$がヌルまたはSであり、$X_6$がヌル、D、またはNであり、$X_7$がヌルまたはVであり、$X_8$がヌル、G、またはIであり、$X_9$がヌル、G、またはRであり、$X_{10}$がS、Y、またはNであり、$X_{11}$がDまたはNであり、$X_{12}$がDまたはYであり、$X_{13}$がVまたはAであり；
CDR-L2が、アミノ酸配列
$X_1X_2X_3X_4$RPS（SEQ ID NO:37）
を含み、配列中、$X_1$がDまたはSであり、$X_2$がV、N、またはKであり、$X_3$がS、N、またはDであり、かつ$X_4$がK、Q、またはNであり；
CDR-L3が、アミノ酸配列
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 38)
を含み、配列中、$X_1$がC、S、A、G、またはNであり、$X_2$がS、A、またはTであり、$X_3$がY、W、またはRであり、$X_4$がAまたはDであり、$X_5$がG、D、またはSであり、$X_6$がR、S、またはNであり、$X_7$がY、L、またはGであり、$X_8$がNまたはSであり、$X_9$がSまたはヌルであり、$X_{10}$がV、A、またはNであり、$X_{11}$がWまたはヌルであり、かつ$X_{12}$がLまたはVである、請求項5または6記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項８】
CDR-H2が
SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)
に示すアミノ酸配列を含む；または
CDR-H2が、
SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)
に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～7のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。
【請求項９】

CDR-L1が、SEQ ID NO:80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、31、または146～152に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～8のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１０】

CDR-L1が、SEQ ID NO:80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、または31に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～9のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１１】

CDR-L2が、SEQ ID NO:100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29、32、または153～157に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１２】

CDR-L2が、SEQ ID NO:100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、または29に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～11のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１３】

CDR-L3が、SEQ ID NO:109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30、33、158、または159に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～12のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１４】

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および23の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および24の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:25、26、および27の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:28、29、および30の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:31、32、および33の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:80、100、および109の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:77、97、および106の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:74、94、および103の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:73、93、および101の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:75、95、および104の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:79、99、および108の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:78、98、および107の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:76、96、および105の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:73、93、および102の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:163、164、および165の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:80、100、および109の配列を含む；

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:146、97、および106の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:28、153、および158の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:74、94、および103の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:147、154、および121の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:148、94、および103の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:75、95、および104の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:149、155、および119の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:150、22、および120の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および159の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:151、26、および118の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:28、156、および116の配列を含む;または
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:152、157、および117の配列を含む、請求項1～13のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１５】

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および23の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および24の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:25、26、および27の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:28、29、および30の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:31、32、および33の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:80、100、および109の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:77、97、および106の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:74、94、および103の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:73、93、および101の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:75、95、および104の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:79、99、および108の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:78、98、および107の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:76、96、および105の配列を含

む；または
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:73、93、および102の配列を含む、請求項1～14のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。
【請求項１６】
抗体またはフラグメントのVH領域が、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185のアミノ酸配列を含み;かつ/または
抗体もしくはフラグメントのVL領域が、SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、67、または187～205のアミノ酸配列を含む、請求項1～15のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。
【請求項１７】
抗体またはフラグメントのVH領域が、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62のアミノ酸配列を含み;かつ/または
抗体もしくはフラグメントのVL領域が、SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、または67のアミノ酸配列を含む、請求項1～16のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。
【請求項１８】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および17のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および15のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および13のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および16のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:62および68のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および65のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:61および66のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:63および70のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および67のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および91のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:167および207のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:168または63および208のアミノ酸配列を含む；

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:169または11および209のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:170または61および210のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:171または61および211のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:172および212のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:173または11および213のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:174または11および214のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:175または11および215のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:176または61および216のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:177または61および217のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:178または61および218のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:179または61および219のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:180または12および220のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:181または12および221のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:182または11および222のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:183または60および223のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:184または11および224のアミノ酸配列を含む；または
抗体もしくはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:185および225のアミノ酸配列を含む、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項１９】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および17のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および15のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および13のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および16のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:62および68のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:11および65のア

ミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:61および66のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:63および70のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および67のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:12および91のアミノ酸配列を含む；または
抗体もしくはフラグメントのVH領域およびVL領域が、それぞれSEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含む、請求項1～18のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２０】
抗体がヒトCD19に特異的に結合する、請求項1～19のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２１】
抗体が、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択されるリファレンス抗CD19抗体によって特異的に結合されるエピトープと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合する、請求項20記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２２】
抗体が、CD19への結合に関して、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体と競合する、請求項21記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２３】
リファレンス抗体によって特異的に結合されるエピトープと同じまたはオーバーラップするヒトCD19のエピトープに特異的に結合するヒト抗体フラグメントであって、リファレンス抗体が請求項1～22のいずれか一項記載の抗体またはそのフラグメントであるか、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体であり、該ヒト抗体フラグメントがFMC63およびSJ25C1中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、ヒト抗体フラグメント。

【請求項２４】
ヒトCD19に特異的に結合し、ヒトCD19への結合に関してリファレンス抗体と競合するヒト抗体フラグメントであって、リファレンス抗体が請求項1～22のいずれか一項記載の抗体またはフラグメントであるか、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体であり、該ヒト抗体フラグメントが、FMC63およびSJ25C1中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、ヒト抗体フラグメント。

【請求項２５】
CD19に対し、リファレンス抗体が結合に関してそれ自身と競合するのと少なくとも同じ程度に、またはリファレンス抗体による競合の1.5分の1もしくは2分の1を下回らない競合の程度まで、結合に関してリファレンス抗体と競合する、請求項22または24記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２６】
抗体が、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択されるリファレンス抗体のCD19に対する結合アフィニティーと少なくとも同程度に高いか実質上同程度に高い結合アフィニティーを有する、請求項1～25のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２７】
リファレンス抗体の$EC_{50}$とほぼ同じかそれより低い$EC_{50}$、またはリファレンス抗体の$EC_{50}$の約1.5倍を上回らない、または約2倍を上回らない、3倍を上回らない、かつ/または10

倍を上回らない$EC_{50}$の結合アフィニティーを有する、請求項26記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２８】

ヒトCD19に対する抗体の結合アフィニティー（EC50）および/または解離定数が100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、もしくは1nM、またはその前後、またはそれ未満、またはその前後未満である、請求項1～27のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項２９】

ヒトの抗体またはフラグメントである、請求項1～28のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３０】

組換え体である、請求項1～29のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３０】

モノクローナルである、請求項1～30のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３１】

一本鎖フラグメントである、請求項1～30のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３２】

フラグメントが、柔軟な免疫グロブリンリンカーによって連結された抗体可変領域を含む、請求項1～31のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３３】

フラグメントがscFvを含む、請求項31または32記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３４】

scFvがSEQ ID NO:34に示す配列を含むリンカーを含む、請求項33記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３５】

scFvが、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、89、または207～225に示すアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、89、または207～225に示すアミノ酸配列に対して少なくとも95％の配列同一性を呈する配列を含む、請求項33または34記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３６】

scFvが、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、89、または207～225に示すアミノ酸配列を含む、請求項33～35のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３７】

scFvが、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、もしくは89に示すアミノ酸配列に対して少なくとも95％の配列同一性を呈する配列を含む、請求項33～35のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３８】

scFvが、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列を含む、請求項33～37のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項３９】

免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分をさらに含む、請求項1～38のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項４０】

前記少なくとも一部分がヒンジ領域を含む、請求項1～39のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント。

【請求項４１】

免疫グロブリン定常領域の前記少なくとも一部分がFc領域を含む、請求項39または40記載の抗体またはフラグメント。
【請求項４２】
Fc領域がヒトIgGのFc領域である、請求項41記載の抗体またはフラグメント。
【請求項４３】
請求項1～42のいずれか一項記載の抗体またはフラグメントと、
異種分子または異種部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項４４】
請求項1～42のいずれか一項記載の抗体またはフラグメントを含む細胞外部分と、
細胞内シグナリングドメインと
を含むキメラ抗原受容体（CAR）。
【請求項４５】
抗体またはフラグメントがscFvを含み、細胞内シグナリングドメインがITAMを含む、請求項44記載のキメラ抗原受容体。
【請求項４６】
細胞内シグナリングドメインがCD3-ゼータ（CD3ζ）鎖のゼータ鎖のシグナリングドメインを含む、請求項44または45記載のキメラ抗原受容体。
【請求項４７】
細胞外ドメインと細胞内シグナリングドメインとを連結する膜貫通ドメインをさらに含む、請求項44～46のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体。
【請求項４８】
膜貫通ドメインがCD28の膜貫通部分を含む、請求項47記載のキメラ抗原受容体。
【請求項４９】
T細胞共刺激分子の細胞内シグナリングドメインをさらに含む、請求項44～48のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体。
【請求項５０】
T細胞共刺激分子がCD28および41BBからなる群より選択される、請求項49記載のキメラ抗原受容体。
【請求項５１】
請求項1～42のいずれか一項記載の抗体またはフラグメント、請求項43記載のコンジュゲート、または請求項44～50のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体をコードする核酸。
【請求項５２】
請求項1～42のいずれか一項記載の抗体またはフラグメントを含む受容体、請求項43記載のコンジュゲート、または請求項44～50のいずれか一項記載のキメラ抗原受容体を発現する工学的に改変された細胞。
【請求項５３】
T細胞である、請求項52記載の工学的に改変された細胞。
【請求項５４】
請求項1～42のいずれか一項記載の抗体またはそのフラグメント、請求項43記載のコンジュゲート、請求項44～50のいずれか一項記載のCAR、または請求項52～53記載の細胞を含む組成物。
【請求項５５】
薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、請求項54記載の組成物。
【請求項５６】
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に請求項54または55記載の組成物を投与する工程を含む処置の方法。
【請求項５７】
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に請求項54または55記載の細胞を投与する工程を含む処置の方法。

【請求項５８】
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に請求項1～42のいずれか一項記載の抗体を投与する工程を含む処置の方法。
【請求項５９】
疾患または障害がB細胞悪性疾患である、請求項56～58のいずれか一項記載の方法。
【請求項６０】
B細胞悪性疾患が、B細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ球性白血病（ALL）、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、コモン急性リンパ球性白血病、ヌル型急性リンパ芽球性白血病、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、脾性辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、およびホジキンリンパ腫からなる群より選択される、請求項59記載の方法。
【請求項６１】
CD19に関連する疾患または障害の処置に使用するための請求項54または55記載の組成物。
【請求項６２】
CD19に関連する疾患または障害を処置するための医薬を製造するための、請求項54または55記載の組成物の使用。
【請求項６３】
疾患または障害がB細胞悪性疾患である、請求項61記載の使用のための組成物または請求項62記載の使用。
【請求項６４】
B細胞悪性疾患が、B細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ球性白血病（ALL）、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、コモン急性リンパ球性白血病、ヌル型急性リンパ芽球性白血病、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、脾性辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、およびホジキンリンパ腫からなる群より選択される、請求項61～63のいずれか一項記載の使用のための組成物または使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願の相互参照
本願は、2014年8月28日に出願された「Antibodies and Chimeric Antigen Receptors Specific for CD19」という名称の米国仮出願第62/043,273号および2014年11月12日に出願された「Antibodies and Chimeric Antigen Receptors Specific for CD19」という名称の米国仮出願第62/078,942号に基づく優先権を主張し、それらの内容はその全体が参照により本明細書に組み入れられる。
【０００２】
配列表の参照による組み入れ
本願は、電子形式の配列表とともに出願されている。この配列表は、2015年8月28日に作成されたサイズ215キロバイトの735042000740seqlist.txtという名称のファイルとして提供される。この配列表の電子形式での情報は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。
【０００３】
分野
本開示は、いくつかの局面において、CD19結合分子、特に、抗体フラグメントを含む抗CD19抗体に関する。本開示はさらに、そのような抗体を含有する組換え受容体、例えばそのような抗体を含有するキメラ抗原受容体（CAR）に関する。本開示はさらに、上述の受容体および抗体を発現する遺伝子改変細胞、ならびに養子細胞療法におけるそれらの使用に関する。

【背景技術】
【０００４】
背景
CD19は正常B細胞上に発現すると共に、大半のB細胞悪性疾患を含むさまざまな疾患および状態の細胞および組織によって発現される。B細胞悪性疾患を持つ大半の患者は、CD19および/または他のB細胞マーカーを標的とする治療法を含めて、利用可能な治療法では治癒しない。さまざまなCD19結合分子、例えば抗CD19抗体および抗CD19抗体部分を含有するキメラ抗原受容体、ならびにそのようなキメラ受容体を発現する細胞を利用することができる。
【０００５】
改良されたCD19結合分子および工学的に改変されたCD19ターゲティング細胞が必要である。例えば、養子細胞療法において使用するために、免疫原性が低減している分子および細胞、ならびに/または、CD19に特異的に結合する抗体フラグメントを含むヒト抗体およびそのようなヒト抗体を発現するキメラ受容体が必要とされている。上述の必要を満たす態様が提供される。
【発明の概要】
【０００６】
概要
ポリペプチドを含むCD19結合分子、例えば、抗原結合性抗体フラグメントを含む抗CD19抗体、例えば、scFvフラグメントを含む一本鎖フラグメント、および融合タンパク質を含む、そのような抗体を含有するポリペプチド、受容体、例えばキメラ受容体を含む組換え受容体、例えば抗体を抗原認識構成成分として含有するキメラ抗原受容体（CAR）が提供される。特定の態様において、抗体は、scFvをはじめとするヒト一本鎖フラグメントなどのヒト抗体である。
【０００７】
CD19に特異的に結合するものを含む、抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。いくつかの態様において、抗体は、重鎖CDR（CDR-H）および軽鎖CDR（CDR-L）を含む、特定の相補性決定領域（CDR）を含有する。いくつかの態様において、CDRは、リファレンス抗体もしくはリファレンス鎖またはその配列のCDRのアミノ酸配列を有するか、または含む。
【０００８】
いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合性フラグメントは、重鎖可変（VH）領域および軽鎖可変（VL）領域を含む。いくつかの態様において、抗体、例えばそのVH領域は、SEQ ID NO:20に示すアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含む。いくつかの態様において、VH領域は、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すVH領域アミノ酸配列に対して少なくとも、90％またはその前後の配列同一性、例えば前記VH領域アミノ酸配列に対して少なくとも、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％またはその前後の配列同一性を含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:18のCDR-H1およびSEQ ID NO:20のCDR-H3を含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントはSEQ ID NO:81、82、19、または72を含むCDR-H2配列をさらに含む。
【０００９】
いくつかの態様において、抗体は、リファレンス抗体の重鎖可変（$V_H$）領域内に含まれているCDR1、2、および3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3を有する。いくつかの態様において、リファレンス抗体のVH領域は、SEQ ID NO:11または12に示すアミノ酸配列を有する。いくつかの態様では、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すアミノ酸配列を有する。
【００１０】
いくつかの態様において、抗体は、リファレンス抗体の軽鎖可変（$V_L$）領域内に含まれているCDR1、2、および3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2、および/ま

たはCDR-L3を有する（例えばさらに含む）。いくつかの態様において、リファレンス抗体の$V_L$は、SEQ ID NO:13、14、15、16、または17に示すアミノ酸配列を有する。いくつかの態様において、リファレンス抗体のVLは、SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90、または91に示すアミノ酸配列を有する。

【００１１】

いくつかの態様において、リファレンス抗体、VHまたはVL内のCDRは、任意のナンバリングスキームによって規定されるCDR、例えば本明細書において規定するものを指す。いくつかの態様において、リファレンス抗体またはVHまたはVL中のCDRは、本明細書において記述するKabatナンバリングスキームによって規定されるCDR、本明細書に記載するChothiaスキームによって規定されるCDR、または本明細書に記載するコンタクト（Contact）スキームによって規定されるCDRを指す。

【００１２】

いくつかの態様において、抗体は、CDR-H1が、DYAMH（SEQ ID NO:18）のアミノ酸配列を含むか、またはSEQ ID NO:18に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み；CDR-H2が、SEQ ID NO:81もしくは82もしくは19もしくは72のアミノ酸配列を含むか、またはSEQ ID NO:81もしくはSEQ ID NO:82もしくはSEQ ID NO:19もしくはSEQ ID NO:72に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み;かつ/またはCDR-H3が、SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含むか、またはSEQ ID NO:20に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む、CDR-H1、CDR-H2および/またはCDR-H3を含むVH鎖を含有する。

【００１３】

いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:81または82のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:20に示すアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む。

【００１４】

いくつかの態様において、抗体は、

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 110)

のアミノ酸配列を含むCDR-1を有し、配列中の$X_1$はT、W、S、またはRであり；$X_2$はGまたはAであり；$X_3$はI、T、D、またはSであり；$X_4$はS、R、T、またはQであり；$X_5$はヌル（null）またはSであり；$X_6$はヌル、D、N、またはGであり；$X_7$はヌル、V、またはLであり；$X_8$はXまたはヌルであり；$X_9$はXまたはヌルであり；$X_{10}$はXであり；$X_{11}$はXであり；$X_{12}$はY、F、D、またはWであり；$X_{13}$はV、A、またはLであり、かつ$X_{14}$はS、N、またはAである。例えば、いくつかの態様において、抗体は、以下を有する：

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)

のアミノ酸配列を含むCDR-L1であって、配列中、$X_1$はT、Q、S、またはRであり；$X_2$はGまたはAであり；$X_3$はI、T、D、またはSであり；$X_4$はS、R、T、またはQであり；$X_5$はヌルまたはSであり；$X_6$はG、D、N、またはヌルであり；$X_7$はヌル、V、またはLであり；$X_8$はD、G、I、L、S、またはヌルであり；$X_9$はS、G、A、I、R、またはヌルであり；$X_{10}$はH、Y、F、S、またはNであり；$X_{11}$はR、N、D、H、またはYであり；$X_{12}$はY、F、D、またはWであり；$X_{13}$はV、A、またはLであり;かつ$X_{14}$はS、N、またはAである、CDR-L1;および/または

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$（SEQ ID NO:112）

のアミノ酸配列を含むCDR-L2であって、配列中、$X_1$はDまたはSであり；$X_2$はF、V、N、K、またはAであり；$X_3$はS、T、D、またはNであり；$X_4$はK、V、N、Q、またはRであり；$X_5$はR、V、またはLであり；$X_6$はP、K、A、またはEであり;かつ$X_7$はS、P、A、またはTである、CDR-L2;および/または

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)

のアミノ酸配列を含むCDR-L3であって、配列中、$X_1$はXであり；$X_2$はS、Q、A、またはTで

あり；$X_3$はY、S、W、Rであり；$X_4$はA、D、R、T、またはYであり；$X_5$はXであり；$X_6$はXであり；$X_7$はS、P、L、Y、Gであり；$X_8$はXまたはヌルであり；$X_9$はXまたはヌルであり；$X_{10}$はLまたはヌルであり；$X_{11}$はXであり；かつ$X_{12}$はV、T、またはLである、CDR-L3。例えば、いくつかの態様において、抗体は、アミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)

を含むCDR-L3を有し、配列中、$X_1$はS、G、T、A、Q、C、またはNであり；$X_2$はS、Q、A、またはTであり；$X_3$はY、S、W、Rであり；$X_4$はA、D、R、T、またはYであり；$X_5$はA、S、P、G、N、またはDであり；$X_6$はI、S、G、T、A、L、H、R、Nであり；$X_7$はS、P、L、Y、Gであり；$X_8$はP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり；$X_9$はS、L、N、A、M、またはヌルであり；$X_{10}$はLまたはヌルであり；$X_{11}$はY、W、F、V、A、またはLであり；かつ$X_{12}$はV、T、またはLである。

【００１５】

いくつかのそのような態様では、該CDR-L1において、$X_3$はI、T、またはSであり；$X_4$はS、T、またはQであり；$X_8$はD、G、I、S、またはヌルであり；$X_9$はS、G、I、またはヌルであり；$X_{10}$はH、Y、S、またはNであり；$X_{11}$はR、N、D、またはHであり；$X_{12}$はYまたはDであり；かつ$X_{13}$はVまたはLであり；かつ/または該CDR-L2において、$X_1$はDであり；$X_4$はK、V、N、Q、またはRであり；$X_6$はP、K、またはAであり；かつ$X_7$はS、A、またはTであり；かつ/または該CDR-L3において、$X_1$はS、G、T、A、Q、C、またはNであり；$X_5$はA、S、P、G、N、またはDであり；$X_6$はI、S、G、T、A、L、H、R、またはNであり；$X_8$はP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり；$X_9$はS、L、N、A、M、またはヌルであり；かつ$X_{11}$はY、W、F、V、A、またはLである。いくつかの態様では、該CDR-L3において、$X_1$はS、G、Q、またはNであり；$X_2$はS、Q、またはTであり；$X_4$はA、D、T、またはYであり；$X_5$はA、S、またはGであり；かつ$X_6$はI、S、N、R、A、H、またはTである。

【００１６】

いくつかの態様において、CDR-H2は、

SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)

に示すアミノ酸配列を含むか、またはCDR-H2は

SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)

に示すアミノ酸配列を含む。

【００１７】

いくつかの態様において、CDR-L1は、SEQ ID NO:80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、または31に示すアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CDR-L1は、SEQ ID NO:80、77、74、73、78、21、または28に示すアミノ酸配列を含む。

【００１８】

いくつかの態様において、CDR-L2は、SEQ ID NO:100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29、または32に示すアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CDR-L2は、SEQ ID NO:100、97、94、93、98、22、または29に示すアミノ酸配列を含む。

【００１９】

いくつかの態様において、CDR-L3は、SEQ ID NO:109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30、または33に示すアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、CDR-L3は、SEQ ID NO:109、106、103、101、107、24、または30に示すアミノ酸配列を含む。

【００２０】

いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:21、22、および23の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:21、22、および24の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびC

DR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:25、26、および27の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:28、29および30の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:31、32、および33の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:80、100、および109の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:77、97、および106の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:74、94、および103の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:73、93、および101の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:75、95、および104の配列を含むか、またはそれぞれ少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:79、99、および108の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:78、98、および107の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:76、96、および105の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:73、93、および102の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；またはCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:77、97、および106の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００２１】

いくつかの態様において、CDR-L3は、SEQ ID NO:116、117、118、119、120、または121に示すアミノ酸配列を含むか、または前記アミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００２２】

いくつかの態様において、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれ、SEQ ID NO:18、81、および20の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または

少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれ、SEQ ID NO:18、19、および20の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む； CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれ、SEQ ID NO:18、82、および20の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；またはCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれ、SEQ ID NO:18、72、および20の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００２３】

いくつかの態様において、抗体は、以下を有する：

アミノ酸配列

$X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)

を含むCDR-L1であって、配列中、X1はT、S、またはQであり、X3はT、S、またはDであり、X4はTまたはSであり、X5はヌルまたはSであり、X6はヌル、D、またはNであり、X7はヌルまたはVであり、X8はヌル、G、またはIであり、X9はヌル、G、またはRであり、X10はS、Y、またはNであり、X11はDまたはNであり、X12はDまたはYであり、X13はVまたはAである、CDR-L1;

アミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4$RPS（SEQ ID NO:37）

を含み、配列中、X1はDまたはSであり、X2はV、N、またはKであり、X3はS、N、またはDであり、かつX4はK、Q、またはNである、CDR-L2;かつ/または

アミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 113)

を含み、配列中、X1はC、S、A、G、またはNであり; X2はS、A、またはTであり; X3はY、W、またはRであり; X4はAまたはDであり; X5はG、D、またはSであり; X6はR、S、またはNであり; X7はY、L、またはGであり; X8はNまたはSであり; X9はS、N、またはヌルであり; X10はヌルであり; X11はV、A、またはWであり;かつX12はLまたはVである、CDR-L3。

【００２４】

いくつかの態様において、抗体は、以下を有する：

アミノ酸配列

$X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)

を含むCDR-L1であって、配列中、X1はT、S、またはQであり、X3はT、S、またはDであり、X4はTまたはSであり、X5はヌルまたはSであり、X6はヌル、D、またはNであり、X7はヌルまたはVであり、X8はヌル、G、またはIであり、X9はヌル、G、またはRであり、X10はS、Y、またはNであり、X11はDまたはNであり、X12はDまたはYであり、X13はVまたはAである、CDR-L1;

アミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4$RPS（SEQ ID NO:37）

を含み、配列中、X1はDまたはSであり、X2はV、N、またはKであり、X3はS、N、またはDであり、かつX4はK、Q、またはNである、CDR-L2;かつ/または

アミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 38)

を含み、配列中、X1はC、S、A、G、またはNであり; X2はS、A、またはTであり; X3はY、W、またはRであり; X4はAまたはDであり; X5はG、D、またはSであり; X6はR、S、またはNであり; X7はY、L、またはGであり; X8はNまたはSであり; X9はSまたはヌルであり; X10はV、A、またはNであり; X11はWまたはヌルであり;かつX12はLまたはVである、CDR-L3。

【００２５】
いくつかのそのような態様では、CDR-L1において、X1はTまたはSであり、X3はTまたはSであり、X11はDまたはNであり、かつ$X_{13}$はVであり;かつ/またはCDR-L2において、X2はVまたはNであり、かつ$X_4$はKまたはQである。
【００２６】
いくつかの態様において、CDR-H2は、
SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)
に示すアミノ酸配列を含むか、またはSEQ ID NO:19に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００２７】
いくつかの態様において、CDR-L1は、SEQ ID NO:21、25、28、もしくは31に示す配列を含むか、または前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み;かつ/またはCDR-L2は、SEQ ID NO:22、26、29、もしくは32に示す配列を含むか、または前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み;かつ/またはCDR-L3は、SEQ ID NO:23、24、27、30、または33に示す配列を含むか、または前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００２８】
いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:21、22、および/または23の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００２９】
いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:21、22、および24の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００３０】
いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:25、26、および27の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００３１】
いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:28、29、および30の配列を含むか、またはそれぞれ、前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれ、SEQ ID NO:31、32、および33の配列を含むか、または前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００３２】
いくつかの態様において、重鎖CDRおよび軽鎖CDRは、上述のCDR-L配列およびCDR-H配列（前記配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、または99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む）の任意の組み合わせである。
【００３３】
特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:11のアミノ酸配列を含む

VH領域、または前記アミノ酸8配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００３４】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含むVH領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００３５】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:13のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００３６】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００３７】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:15のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００３８】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:16のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００３９】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:17のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００４０】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:63のアミノ酸配列を含むVH領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００４１】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:60のアミノ酸配列を含むVH領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００４２】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:61のアミノ酸配列を含むVH領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００４３】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:63のアミノ酸配列を含む

VH領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００４４】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:62のアミノ酸配列を含むVH領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVH領域を含む。

【００４５】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:71のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００４６】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:90のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００４７】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:91のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００４８】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:68のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００４９】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:65のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００５０】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:64のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００５１】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:66のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００５２】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:70のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００５３】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:69のアミノ酸配列を含む

VL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００５４】

特定の態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:67のアミノ酸配列を含むVL領域、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含むVL領域を含む。

【００５５】

特定の態様において、抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO:11、60、63、または62のアミノ酸配列を含むか、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み;かつ/または抗体もしくはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO:14、16、71、90、65、64、または69のアミノ酸配列を含むか、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００５６】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:12および17のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；

【００５７】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:12および15のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；

【００５８】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:11および13のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；

【００５９】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；

【００６０】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:11および16のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；

【００６１】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；

【００６２】

抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:62および68のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％

のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６３】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:11および65のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６４】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６５】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:61および66のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６６】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:63および70のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６７】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６８】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:12および67のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；
【００６９】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:12および91のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む；または
【００７０】
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれ、SEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含むか、またはそれぞれ、前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。
【００７１】
いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:11を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:13を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:11を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:14を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:11を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:15を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:11を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:16を含むか、または前記配列番号に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:11を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:17を含むか、または前記配列番号に対して少なくとも（または少なくと

も約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００７２】

いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:12を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:13を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:12を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:14を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:12を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:15を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:12を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:16を含むか、または前記配列番号に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含み;いくつかの態様において、VH領域はSEQ ID NO:12を含み、かつVL領域はSEQ ID NO:16を含むか、または前記配列番号に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００７３】

いくつかの態様において、抗体は、一本鎖フラグメント、例えば2つ以上の可変領域が1つまたは複数の柔軟な免疫グロブリンリンカーによって連結されているものである。いくつかの態様において、抗体はscFvである。いくつかの態様において、scFvは、セリンおよび/またはグリシンに富むリンカー、例えばGGGS（SEQ ID NO:122）リピートまたはGGGGS（SEQ ID NO:123）リピートを含むリンカー、例えばSEQ ID NO:34に示す配列を含むものを含む。いくつかの態様において、リンカーはSEQ ID NO:43の配列を含む。

【００７４】

いくつかの態様において、抗体フラグメント、例えばscFvは、$V_H$領域またはその一部分と、それに続くリンカーと、それに続く$V_L$またはその一部分とを含有する。いくつかの態様において、抗体フラグメント、例えばscFvは、$V_L$領域またはその一部分と、それに続くリンカーと、それに続く$V_H$領域またはその一部分とを含有する。

【００７５】

いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:2、4、6、8、または10に示すアミノ酸配列を含むか、または前記アミノ酸配列に対して少なくとも（または少なくとも約）90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、もしくは99％のアミノ酸配列同一性を有する配列を含む。

【００７６】

いくつかの態様において、scFvは、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列を含むか、またはそのような配列に対して少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する。

【００７７】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、リファレンス抗体が特異的に結合するエピトープと同じ、類似する、および/またはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合し、かつ/または抗体は、CD19への結合に関してリファレンス抗体と競合する。いくつかの局面において、リファレンス抗体はマウスまたはキメラまたはヒトまたはヒト化抗CD19抗体、FMC63、SJ25C1、SEQ ID NO:39および/または40の可変領域配列を有する抗体、またはSEQ ID NO:41および/もしくは42の可変領域配列を有する抗体である。いくつかの局面において、リファレンス抗体は、前述の態様のいずれかの配列をはじめとする本明細書に記載の配列を含む抗体である。例えば、いくつかの態様において、リファレンス抗体は、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列を含有するscFvであることができる。いくつかの態様において、ここに提供する抗体またはフラグメントは、リファレンス抗体中のCDRとは異なる1つもしくは複数のCDRを含有するか、または含有するCDRのすべてがリファレンス抗体中のCDRとは異なる。例えば、いくつかの態様において、ここに提供する抗体またはフラグメントは、FMC63またはSJ25C1と呼ばれる抗体中の対応するCDRとは異なる1つまたは複数のCDRを

含有するか、または含有するCDRのすべてがFMC63またはSJ25C1と呼ばれる抗体中の対応するCDRとは異なる。

【００７８】

例えば、SEQ ID NO:39および/または40の可変領域配列を有する抗体またはSEQ ID NO:41および/もしくは42の可変領域配列を有する抗体であるFMC63、SJ25C1などのリファレンス抗体が特異的に結合するエピトープと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合し、かつリファレンス抗体中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、ヒト抗体および抗原結合性フラグメントが提供される。

【００７９】

いくつかの態様において、抗体は、CD19に対し、リファレンス抗体が結合に関してそれ自身と競合するのと少なくとも同じ程度に、またはリファレンス抗体による競合の1.5分の1もしくは2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、もしくは10分の1を下回らない競合の程度まで、かつ/または例えば同じアッセイで測定した場合に、結合に関してそれ自身と競合するリファレンス抗体のIC50の1.5倍または2倍または3倍または4倍または5倍または10倍を上回らないIC50測定値まで、結合に関してリファレンス抗体と競合する。

【００８０】

いくつかの態様において、抗体は、CD19に対するリファレンス抗体の結合アフィニティーと少なくとも同程度に高いか実質上同程度に高い結合アフィニティーを有する。いくつかの局面において、抗体は、リファレンス抗体のEC50とほぼ同じかそれより低いEC50、またはリファレンス抗体のEC50の約1.5倍を上回らない、または約2倍を上回らない、3倍を上回らない、かつ/または10倍を上回らないEC50の結合アフィニティーを有する。いくつかの態様では、抗体の結合アフィニティーが、対応する形態のリファレンス抗体と比較される。比較は一般に同じアッセイまたは類似のアッセイによる。

【００８１】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、CD19はヒトCD19である。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントは、ヒトCD19に特異的に結合し、ヒトCD19に対する結合アフィニティーを呈し、かつ/またはヒトCD19への結合に関して競合する。

【００８２】

いくつかの態様において、抗体はヒト抗体である。いくつかの態様において、抗体は組換え抗体である。いくつかの態様において、抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの態様において、抗体は単離されている。

【００８３】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分をさらに含む。定常領域は、ヒト抗体または他の抗体のCH1、CH2、CH3、および/またはCH4、および/またはCLのいずれか1つまたは複数を含んでよく、IgG、IgM、IgA、IgE、およびIgDを含むどのクラスであってもよく、例えばヒトIgG、例えばIgG1またはIgG4定常領域ドメインであってよい。いくつかの態様において、定常領域は、Fc領域、例えばヒトIgG Fc領域を含むか、またはFc領域、例えばヒトIgG Fc領域である。

【００８４】

前記態様のいずれかの抗体（例えば細胞外ドメインまたはその一部に含まれるもの）および追加ドメイン、例えば細胞内シグナリングドメイン、スペーサー、リンカー、および/または膜貫通ドメインを含むキメラ分子および/または融合分子などの分子、例えば組換え受容体などの受容体も提供する。いくつかの態様において、受容体は、前記態様のいずれかの抗体またはフラグメントを含む細胞外部分と細胞内シグナリングドメインとを含むキメラ抗原受容体である。

【００８５】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントはscFvを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナリングドメインは、ITAM含有分子またはTCR受容体複合体などのITAM含有受容体複合体の本来のライゲーションのものに近いシグナル送達能力を有するITAMド

メインおよび/またはシグナリングドメインを含む。いくつかの局面において、細胞内シグナリングドメインは、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖のゼータ鎖のシグナリングドメインを含む。

【００８６】

いくつかの態様において、受容体は、細胞外ドメインと細胞内シグナリングドメインとを連結する抗体膜貫通ドメインを連結する膜貫通ドメインなどの1つまたは複数のドメインを、さらに含む。いくつかの局面において、膜貫通ドメインは、T細胞共刺激分子（例えばCD28および/または41BB）などの共刺激分子の膜貫通部分を含む。いくつかの態様において、T細胞共刺激分子はCD28および41BBからなる群より選択され、いくつかの態様において、受容体はCD28および41BB由来のシグナリングドメインを含む。

【００８７】

いずれかの態様の抗体（フラグメントを含む）またはいずれかの態様の受容体、例えばキメラ抗原受容体をコードする核酸、そのような核酸を含むベクター、および前記ベクターおよび/または核酸を含有する細胞、例えば前記抗体および/または分子を発現させるための細胞も提供する。

【００８８】

したがって、前記分子、例えば前記抗体および分子、例えば受容体（例えばキメラ抗原受容体（CAR））を生産し発現させるための細胞およびベクターも提供する。例えば、いずれかの態様のキメラ抗原受容体を発現する工学的に改変された細胞が提供される。いくつかの局面において、細胞はT細胞である。いくつかの局面において、細胞はNK細胞である。いくつかの局面において、細胞は幹細胞である。

【００８９】

抗体、受容体、分子、および/または細胞を含む組成物、例えば薬学的組成物、例えば担体などの薬学的に許容される物質をさらに含むものも提供する。

【００９０】

いずれかの態様の細胞、抗体、受容体、組成物、または他の分子を、対象に有効量で、例えば治療有効量で投与することによって実行される、投与方法（処置方法を含む）も提供する。いくつかの態様において、対象は、CD19に関連する疾患または障害、例えばB細胞悪性疾患、例えばB細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ球性白血病（ALL）、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、コモン急性リンパ球性白血病、ヌル型急性リンパ芽球性白血病（Null-acute lymphoblastic leukemia）、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、脾性辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、もしくはホジキンリンパ腫、またはB細胞と関係づけられる自己免疫疾患もしくは炎症性疾患を有するか、またはそれらの疾患または障害を有すると疑われる。

【００９１】

いくつかの態様において、本抗体または受容体の投与は、結合に関して本抗体と競合するかオーバーラップするエピトープに結合するリファレンス抗体（またはリファレンス抗体を含有する受容体）の投与と比較して、付随する免疫原性の程度が低い。いくつかの局面において、リファレンス抗体はヒト化抗体、キメラ抗体、または非ヒト抗体である。

【図面の簡単な説明】

【００９２】

【図１Ａ】CD19非発現HEK293細胞への結合と比較したCD19発現HEK293細胞への例示的ヒトscFvの結合を比較する結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。

【図１Ｂ】CD19非発現HEK293細胞への結合と比較したCD19発現HEK293細胞への例示的ヒトscFvの結合を比較する結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。

【図２】例示的抗CD19抗体（scFvフラグメント）の精製を評価するSDSゲルを示す。

【図３】図3A、図3B、および図3Cは、抗CD19抗体を含むさまざまな例示的scFv抗体（scFvフラグメント）の結合アフィニティーを評価する研究の結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。

【図４】抗CD19 scFv抗体フラグメントを含むさまざまな例示的scFv抗体の結合アフィニティーを評価する研究の結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図５】図5Aおよび図5Bは、さまざまな濃度の競合抗体存在下での各標識抗体の結合を評価する競合結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図６】さまざまな濃度の競合scFv抗体存在下での標識リファレンスscFv抗体の結合を評価する競合結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図７】図7Aはサイズ排除クロマトグラフィーの結果を示す。リファレンスを作成するためにカラムを較正し、標準タンパク質を注入し、フラクションを収集した。図7Bは、同じカラムに抗CD19 scFv（クローン18B）を注入し、同じ条件下でフラクションを収集した後の結果を示す。
【図８Ａ】CD19発現細胞への例示的ヒトscFvクローンの結合を評価する結合アッセイの結果を示す。左から右に向かって順に次のとおり:細胞のみ、モック上清（Moc. Supe.）、陰性対照抗体（Neg. Ctrl.）、クローン18、クローン200～287、細胞のみ、モック上清、陰性対照抗体、およびクローン18。CD19特異的結合を示す例示的ヒット（アスタリスクで示す）は（左から右に向かって順に）:クローン213、クローン227、クローン241、クローン255、クローン272、クローン278、クローン283およびクローン285である。MFI＝平均蛍光強度。
【図８Ｂ】CD19発現細胞への例示的ヒトscFvクローンの結合を評価する結合アッセイの結果を示す。左から右に向かって順に次のとおり:細胞のみ、モック上清、陰性対照抗体、クローン18B、クローン300～387、細胞のみ、モック上清、陰性対照抗体、およびクローン18B。CD19特異的結合を示す例示的ヒット（アスタリスクで示す）は（左から右に向かって順に）:クローン302、クローン305、クローン313、クローン314、クローン318、クローン324、クローン327、クローン328、クローン336、クローン339、クローン377、クローン379およびクローン382である。MFI＝平均蛍光強度。
【図８Ｃ】CD19発現細胞への例示的ヒトscFvクローンの結合を評価する結合アッセイの結果を示す。左から右に向かって順に次のとおり:細胞のみ、モック上清、陰性対照抗体、クローン18B、クローン400～487、細胞のみ、モック上清、陰性対照抗体、およびクローン18B。CD19特異的結合を示す例示的ヒット（アスタリスクで示す）は（左から右に向かって順に）:クローン440およびクローン448である。
【図８Ｄ】CD19非発現K562細胞と比較したCD19発現K562細胞への例示的ヒトscFvの結合を比較する結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図９】例示的抗CD19抗体（scFvフラグメント）の精製を評価するSDSゲルを示す。
【図１０Ａ】抗CD19 scFv抗体フラグメントを含むさまざまな例示的scFv抗体の結合アフィニティーを評価する個別結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図１０Ｂ】抗CD19 scFv抗体フラグメントを含むさまざまな例示的scFv抗体の結合アフィニティーを評価する個別結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図１０Ｃ】抗CD19 scFv抗体フラグメントを含むさまざまな例示的scFv抗体の結合アフィニティーを評価する個別結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図１０Ｄ】抗CD19 scFv抗体フラグメントを含むさまざまな例示的scFv抗体の結合アフィニティーを評価する個別結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図１０Ｅ】抗CD19 scFv抗体フラグメントを含むさまざまな例示的scFv抗体の結合アフィニティーを評価する個別結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図１１】さまざまな濃度の競合scFv抗体存在下での標識リファレンスscFv抗体の結合を評価する競合結合アッセイの結果を示す。MFI＝平均蛍光強度。
【図１２Ａ】濃縮前の細胞（前）ならびに抗EGFR抗体による選別に続く濃縮および$CD19^+$ B-LCLでの刺激による増殖後の細胞（後）について、EGFRtの発現によって測定した、形質導入CD8＋ T細胞における、VH-VL（HL）配向（HL;黒い線）またはVL-VH配向（LH;灰色の線）のいずれかであるさまざまなCARの細胞表面発現を示す。
【図１２Ｂ】形質導入初代ヒトT細胞における例示的ヒト抗CD19 CARの発現を評価するSDSゲルを示す。

【図１３】図13Aおよび図13Bは、CD19発現細胞に対する、さまざまな抗CD19特異的CARを発現する初代ヒトCD8$^+$ T細胞の細胞溶解活性を示す。CはEGFRtのみ（陰性対照）であり;FMはFMC63 scFv CARであり、18はクローン18scFv CARであり、17はクローン17scFv CARであり、76はクローン76scFv CARであり、5はクローン5scFv CARであり、18Bはクローン18B scFv CARである。

【図１４】図14Aおよび図14Bは、さまざまな抗CD19特異的CARを発現する初代ヒトCD8$^+$ T細胞の、CD19発現細胞と共培養した後のサイトカイン分泌を示す。CはEGFRtのみ（陰性対照）であり;FMはFMC63 scFv CARであり、18はクローン18 scFv CARであり、17はクローン17 scFv CARであり、76はクローン76 scFv CARであり、5はクローン5 scFv CARであり、18Bはクローン18B scFv CARである。

【図１５】さまざまな抗CD19特異的CARを発現する初代ヒトCD4$^+$ T細胞の、CD19発現細胞と共培養した後のサイトカイン分泌を示す。CはEGFRtのみ（陰性対照）であり;FMはFMC63 scFv CARであり、18はクローン18 scFv CARであり、17はクローン17 scFv CARであり、76はクローン76 scFv CARであり、5はクローン5 scFv CARであり、18Bはクローン18B scFv CARである。

【図１６】図16Aおよび図16Bは、CD19発現細胞に対するさまざまな抗CD19特異的CARを発現する、それぞれ初代ヒトCD8＋ T細胞またはCD4＋ T細胞の、CD19発現細胞と共培養した後の増殖を示す。

【図１７】図17Aは、ホタルルシフェラーゼを発現するRaji細胞が移植されたNSGマウスへの投与に続く、さまざまな抗CD19特異的CARを発現する初代ヒトCD8＋ T細胞の抗腫瘍活性を示す。図17Bは、Raji細胞が移植されたNSGマウスに1:1の比で投与された、さまざまな抗CD19特異的CARを発現する初代ヒトCD4＋およびCD8＋ T細胞の抗腫瘍活性を示す。

【図１８】図18Aは、3つの異なるキメラCD19分子のそれぞれについて、74残基または75残基の膜近位領域のアミノ酸配列を示す。図18Aに示す3つの配列のすべての下に、図示した領域のアライメントされた各位置のうち、ヒト配列とアカゲザル配列とが同一アミノ酸を含んでいる位置には、アスタリスク（「*」）を記す。アカゲザル配列がヒト配列と比較して同一ではないが保存的アミノ酸置換を含んでいる位置には「:」を記す。アカゲザル配列がヒト配列と比較して同一ではないが半保存的アミノ酸置換を含んでいる位置には「.」を記す。アカゲザル配列がヒト配列と比較して挿入を含むか、非同一、非保存的/半保存的置換を含んでいる位置には、印をつけない。図18Bは、さまざまな抗CD19特異的CARを発現する初代ヒトCD8$^+$ T細胞の、ヒトCD19、アカゲザルCD19またはキメラアカゲザル/ヒトCD19分子（V1、V2またはV3）を発現する細胞と共培養した後のサイトカイン分泌を示す。CはEGFRtのみ（陰性対照）であり;FMはFMC63 scFv CARであり、18はクローン18 scFv CARであり、17はクローン17 scFv CARであり、76はクローン76 scFv CARであり、5はクローン5 scFv CARであり、18Bはクローン18B scFv CARである。

【発明を実施するための形態】

【００９３】

詳細な説明

CD19結合分子、例えば抗体（scFvをはじめとする一本鎖フラグメントなどの抗原結合性抗体フラグメントを含む）および組換え受容体、例えば前述の抗体およびフラグメントを含有するキメラ受容体、前述の抗体およびフラグメントをコードする核酸、ならびにそれらの抗体およびフラグメントを発現する、そしてそれらの抗体およびフラグメントを生産するための細胞、例えば組換え細胞を提供する。前記抗体およびフラグメントならびに前記抗体およびフラグメントを発現しまたは含有する細胞を製造し使用する方法も提供する。

【００９４】

I．CD19結合分子

いくつかの局面では、CD19結合分子、例えばCD19結合性ポリペプチドが提供される。そのような結合分子には、CD19（例えばヒトCD19分子）に特異的に結合する抗体（その抗原結合性フラグメントを含む）が包含される。結合分子には、そのような抗体を含有するキ

メラ抗原受容体などといった組換え受容体も含まれる。

【００９５】

A. CD19抗体

抗CD19抗体を提供する。これには、機能的抗体フラグメント（scFvなどの、可変重鎖および可変軽鎖を含むものを包含する）が含まれる。そのような抗体を含有する分子、例えば融合タンパク質および/または組換え受容体、例えば抗原受容体などのキメラ受容体も提供する。ここに提供する抗CD19抗体にはヒト抗体も含まれる。いくつかの態様において、ヒト抗体などの抗体は、CD19の特定エピトープまたは特定領域、一般的には細胞外エピトープまたは細胞外領域に、特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体は、別の抗体、例えばマウス抗体FMC63またはSJ25C1のうちの1つまたは複数が結合するものと同じまたは類似するCD19の特定エピトープまたは特定領域に特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体は、これら公知の抗体の一つが結合するものとオーバーラップするC19のエピトープに結合し、かつ/または結合に関してそのような抗体と競合する。抗体には単離された抗体が包含される。分子には単離された分子が包含される。

【００９６】

本明細書において「抗体」という用語は最も広義に使用され、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を包含し、インタクトな抗体および機能的（抗原結合性）抗体フラグメント、例えばFab（fragment antigen binding）フラグメント、F（ab'）$_2$フラグメント、Fab'フラグメント、Fvフラグメント、組換えIgG（rIgG）フラグメント、一本鎖可変フラグメント（scFv）および単一ドメイン抗体（例えばsdAb、sdFv、ナノボディ）フラグメントを含む一本鎖抗体フラグメントを包含する。この用語は、遺伝子改変型および/または他の形で修飾された形態の免疫グロブリン、例えばイントラボディ（intrabody）、ペプチボディ（peptibody）、キメラ抗体、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、およびヘテロコンジュゲート抗体、多重特異性（例えば二重特異性）抗体、ダイアボディ、トリアボディ、およびテトラボディ、タンデムジ-scFv、タンデムトリ-scFvを包含する。別段の明示がある場合を除き、「抗体」という用語は、その機能的抗体フラグメントを包含すると理解すべきである。この用語は、IgGおよびそのサブクラス、IgM、IgE、IgA、ならびにIgDなど、任意のクラスまたはサブクラスの抗体を含む、インタクトな抗体、すなわち完全長抗体も包含する。

【００９７】

「相補性決定領域」および「CDR」という用語が「超可変領域」または「HVR」と同義であって、抗原特異性および/または結合アフィニティーを付与する抗体可変領域内の不連続なアミノ酸の配列を指すことは、当技術分野において公知である。一般に、各重鎖可変領域中に3つのCDR（CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3）が存在し、各軽鎖可変領域中に3つのCDR（CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3）が存在する。「フレームワーク領域」および「FR」が、重鎖および軽鎖の可変領域の非CDR部分を指すことは、当技術分野において公知である。一般に、各完全長重鎖可変領域中に4つのFR（FR-H1、FR-H2、FR-H3、およびFR-H4）が存在し、各完全長軽鎖可変領域中に4つのFR（FR-L1、FR-L2、FR-L3、およびFR-L4）が存在する。

【００９８】

所与のCDRまたはFRの正確なアミノ酸配列の境界は、Kabat et al.（1991）「Sequences of Proteins of Immunological Interest」5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD（「Kabat」ナンバリングスキーム）、Al-Lazikani et al.,（1997）JMB 273,927-948（「Chothia」ナンバリングスキーム）、MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745（1996）「Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography」J. Mol. Biol. 262, 732-745（「コンタクト」ナンバリングスキーム）、Lefranc MP et al.「IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains」Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27（1）:55-77（「IMGT」ナンバリングスキーム）、およびHonegger A and Pluckthun A「Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool」J Mol Biol, 2001 Jun 8;309

（3）:657-70（「Aho」ナンバリングスキーム）に記載されているものを含めて、いくつかある周知のスキームのいずれかを使って容易に決定することができる。

【００９９】

所与のCDRまたはFRの境界は、同定に使用するスキームに依存して変動しうる。例えば、Kabatスキームは構造アライメントに基づき、一方、Chothiaスキームは構造情報に基づく。KabatスキームとChothiaスキームはどちらのナンバリングも最も一般的な抗体領域配列長に基づいており、挿入には挿入文字、例えば「30a」で適応し、一部の抗体には欠失が現れる。これら2つのスキームは一定の挿入および欠失（「インデル」）を異なる位置に置くことで、差異のあるナンバリングをもたらす。コンタクトスキームは、複合体結晶構造の解析に基づき、多くの点でChothiaナンバリングスキームに類似している。

【０１００】

Kabat、Chothia、およびコンタクトスキームによってそれぞれ規定されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の例示的位置境界を、下記表1に列挙する。CDR-H1については、KabatナンバリングスキームとChothiaナンバリングスキームの両方を使って残基ナンバリングを列挙する。FRは、例えばFR-L1がCDR-L1とCDR-L2の間に位置するなど、CDRの間に位置する。表示のKabatナンバリングスキームは挿入をH35AおよびH35Bに置くので、Chothia CDR-H1ループの末端は、表示のKabatナンバリング法を使ってナンバリングすると、ループの長さに依存してH32とH34の間で変動することに注意されたい。

【０１０１】

（表１）

| CDR | Kabat | Chothia | Contact |
|---|---|---|---|
| CDR-L1 | L24--L34 | L24--L34 | L30--L36 |
| CDR-L2 | L50--L56 | L50--L56 | L46--L55 |
| CDR-L3 | L89--L97 | L89--L97 | L89--L96 |
| CDR-H1<br>(Kabat ナンバリング[1]) | H31--H35B | H26--H32..34 | H30--H35B |
| CDR-H1<br>(Chothia ナンバリング[2]) | H31--H35 | H26--H32 | H30--H35 |
| CDR-H2 | H50--H65 | H52--H56 | H47--H58 |
| CDR-H3 | H95--H102 | H95--H102 | H93--H101 |

1 - Kabat et al.（1991）「Sequences of Proteins of Immunological Interest」5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani et al.,（1997）JMB 273, 927-948

【０１０２】

したがって、別段の指定がある場合を除き、所与の抗体またはその一領域（例えばその可変領域）の「CDR」、すなわち「相補性決定領域」、または個々の指定されたCDR（例えばCDR-H1、CDR-H2）は、上述のスキームのいずれかによって規定される相補性決定領域（またはその指定相補性決定領域）を包含すると理解すべきである。例えば、ある特定CDR（例えばCDR-H3）が所与の$V_H$アミノ酸配列または$V_L$アミノ酸配列中の対応するCDRのアミノ酸配列を含有するという場合、そのようなCDRは上述のスキームのいずれかによって規定される可変領域内の対応するCDR（例えばCDR-H3）の配列を有すると理解すべきである。いくつかの態様では、指定されたCDR配列が明示される。

【０１０３】

同様に、別段の指定がある場合を除き、所与の抗体またはその一領域（例えばその可変領域）のFRまたは個々の指定されたFR（例えばFR-H1、FR-H2）は、公知のスキームのいずれかによって規定されるフレームワーク領域（またはその指定フレームワーク領域）を包含すると理解すべきである。いくつかの例では、特定のCDR、FR、または複数のFRもしくは複数のCDRを同定するためのスキームが、Kabat、Chothia、またはコンタクト法によって規定されるCDRなどというように、指定される。他の場合には、CDRまたはFRの特定アミノ酸配列が与えられる。

【０１０４】
「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体重鎖または抗体軽鎖のうち、抗原への抗体の結合に関与するドメインを指す。ネイティブ抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン（それぞれ$V_H$および$V_L$）は一般に類似する構造を有し、各ドメインは4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と3つのCDRとを含んでいる（例えばKindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91（2007）を参照されたい）。抗原結合特性を付与するには単一の$V_H$ドメインまたは$V_L$ドメインで十分でありうる。さらにまた、特定の抗原に結合する抗体は、その抗原に結合する抗体からの$V_H$ドメインまたは$V_L$ドメインを使って、それぞれ相補的な$V_L$ドメインまたは$V_H$ドメインのライブラリーをスクリーニングすることにより、単離することができる。例えばPortolano et al., J. Immunol. 150:880-887（1993）; Clarkson et al., Nature 352:624-628（1991）を参照されたい。

【０１０５】
ここに提供する抗体には抗体フラグメントが含まれる。「抗体フラグメント」とは、インタクトな抗体ではない分子であって、インタクトな抗体のうち、インタクトな抗体が結合する抗原に結合する部分を含む分子を指す。抗体フラグメントの例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F（ab'）$_2$;ダイアボディ;線状抗体;一本鎖抗体分子（例えばscFv）;および抗体フラグメントから形成された多重特異性抗体があるが、それらに限定されるわけではない。特定の態様において、抗体は、可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む一本鎖抗体フラグメント、例えばscFvである。

【０１０６】
単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部もしくは一部または抗体の軽鎖可変ドメインの全部もしくは一部を含む抗体フラグメントである。一定の態様において、単一ドメイン抗体はヒト単一ドメイン抗体である。

【０１０７】
抗体フラグメントは、例えば限定するわけではないが、インタクトな抗体のタンパク質分解的消化および組換え宿主細胞による生産などといった、さまざまな技法によって製造することができる。いくつかの態様において、抗体は組換え生産されたフラグメント、例えば自然には見いだされない編成を含むフラグメント、例えば2つ以上の抗体領域または抗体鎖が合成リンカー（例えばペプチドリンカー）で連結されているもの、および/または天然のインタクトな抗体の酵素消化では生産され得ないものである。いくつかの局面において、抗体フラグメントはscFvである。

【０１０８】
「ヒト化」抗体は、CDRアミノ酸残基のすべてまたは実質上すべてが非ヒトCDRに由来し、FRアミノ酸残基のすべてまたは実質上すべてがヒトFRに由来する抗体である。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部分を含みうる。非ヒト抗体の「ヒト化型」とは、典型的には、親非ヒト抗体の特異性およびアフィニティーを保ちつつヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化を受けた、非ヒト抗体の変異体を指す。いくつかの態様では、ヒト化抗体中のいくつかのFR残基が、例えば抗体の特異性またはアフィニティーを回復または改良するために、非ヒト抗体（例えばCDR残基の由来源である抗体）の対応残基で置換される。

【０１０９】
ここに提供する抗CD19抗体にはヒト抗体が含まれる。「ヒト抗体」は、ヒトまたはヒト細胞によって生産されるアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を持つか、ヒト抗体レパートリーまたは他のヒト抗体コード配列（例えばヒト抗体ライブラリー）を利用する非ヒト供給源によって生産されるアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を持つ抗体である。非ヒト抗原結合領域を含む非ヒト抗体のヒト化型、例えばCDRのすべてまたは実質上すべてが非ヒトであるものは、この用語から除外される。

【０１１０】
ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を持

つインタクトな抗体を生産するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することによって調製しうる。そのような動物は、典型的には、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部であって、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えているか、染色体外に存在するか、動物の染色体にランダムに組み込まれているものを含有する。そのようなトランスジェニック動物において内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に不活化されている。ヒト抗体は、ヒトレパートリーに由来する抗体コード配列を含有するファージディスプレイおよび無細胞ライブラリーを含むヒト抗体ライブラリーからも誘導されうる。

【０１１１】

ここに提供する抗体には、モノクローナル抗体（モノクローナル抗体フラグメントを含む）が含まれる。本明細書において使用する「モノクローナル抗体」という用語は、実質上均一な抗体の集団から得られる抗体またはそのような集団内にある抗体を指す。すなわち集団を構成する個々の抗体は、天然の突然変異を含有する変異体またはモノクローナル抗体調製物の生産中に生じる変異体が考えられる点を除けば同一であり、そのような変異体の存在量は一般に微量である。典型的には異なるエピトープを指向する異なる抗体を含むポリクローナル調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、ある抗原上の単一エピトープを指向する。この用語は、何らかの特定の方法による抗体の生産を必要とすると解釈してはならない。モノクローナル抗体は、例えば限定するわけではないが、ハイブリドーマからの生成、組換えDNA法、ファージディスプレイ、および他の抗体ディスプレイ法など、さまざまな技法によって製造しうる。

【０１１２】

「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために可換的に使用され、最小の長さに限定されることはない。ポリペプチド、例えばここに提供する抗体および抗体鎖、ならびに他のペプチド、例えばリンカーおよびCD19結合ペプチドは、アミノ酸残基（天然アミノ酸残基および/または非天然アミノ酸残基を含む）を含みうる。これらの用語は、ポリペプチドの発現後修飾、例えばグリコシル化、シアリル化、アセチル化、リン酸化なども包含する。いくつかの局面において、ポリペプチドは、タンパク質が所望の活性を維持している限り、ネイティブ配列または天然配列に対する修飾を含有しうる。これらの修飾は、部位特異的突然変異導入によるもののように、意図的である場合もあるし、タンパク質を生産する宿主の突然変異によるもの、またはPCR増幅のエラーによるものなど、偶発的である場合もある。

【０１１３】

例示的抗CD19抗体

いくつかの態様において、抗CD19抗体、例えば抗原結合性抗体フラグメントは、特定の重鎖および/もしくは軽鎖CDR配列ならびに/または重鎖および/もしくは軽鎖可変（$V_H$または$V_L$）領域配列を含有する。ここに提供する抗体には、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有するものも含まれる。

【０１１４】

いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合性フラグメントは、リファレンス抗体中に存在する重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）のアミノ酸配列、例えばSEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185に示す（例えばSEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示す）アミノ酸配列を持つVH領域を有するリファレンス抗体中に存在するCHDR-H3のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む。いくつかの態様において、CDR-H3は、SEQ ID NO:20を含む。いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合性フラグメントは、リファレンス抗体のVH領域アミノ酸配列に対して、例えばSEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185に示す（例えばSEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示す）VH領域アミノ酸配列に対して、少なくとも90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99％の配列同一性（または100％の同一性）を有するVH領域を有する。

【０１１５】

いくつかの態様において、CDR-H1はアミノ酸配列
DYAMH（SEQ ID NO:18）
を含有し、CDR-H2はアミノ酸配列
GISWNSGRIG (SEQ ID NO: 81), GISWNSGSIG (SEQ ID NO: 82)
か、
SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)
に示すアミノ酸配列、または
SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)
に示すアミノ酸配列を含有し、かつ/またはCDR-H3はSEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含有する。

【０１１６】

いくつかの態様において、ここに提供する抗体は、SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を有するCDR-H3を含有する。

【０１１７】

いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:11または12に示すアミノ酸配列を有する$V_H$を含有するか、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する。いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すアミノ酸配列を有するVH領域、あるいはそのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有するVH領域を含有する。いくつかの態様において、抗体、例えばその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185に示すアミノ酸配列を有するVH領域、あるいはそのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有するVH領域を含有する。

【０１１８】

いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167、または185の残基1～119の配列、またはSEQ ID NO:11、12、60、61、63、62、167もしくは185のうちの最初の3つのフレームワーク領域と3つの重鎖CDRとを含む部分を含む配列を含有する。いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:11,12、60、61、63、または62の残基1～119の配列、またはSEQ ID NO:11、12、60、61、63、もしくは62のうちの最初の3つのフレームワーク領域と3つの重鎖CDRとを含む部分を含む配列を含有する。

【０１１９】

いくつかの態様において、抗CD19抗体は、それぞれSEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90、91、または187～205に示す（例えばSEQ ID NO:13、14、15、16、もしくは17、またはSEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、または67に示す）軽鎖可変（$V_L$）領域アミノ酸配列内に含まれているCDR1、2、および/または3配列のアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域1、2、および/または3（CDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3）を含む。

【０１２０】

いくつかの態様において、抗CD19抗体は、以下に説明するCDR-L1、CDR-L2、および/またはCDR-L3を含む。

【０１２１】

いくつかの態様において、CDR-L1は、
アミノ酸配列:
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 110)
を含有し、配列中、$X_1$はT、W、S、またはRであり；$X_2$はGまたはAであり；$X_3$はI、T、D、またはSであり；$X_4$はS、R、T、またはQであり；$X_5$はヌルまたはSであり；$X_6$はヌル、D、N、またはGであり；$X_7$はヌル、V、またはLであり；$X_8$はXまたはヌルであり；$X_9$はXまたはヌルであり；$X_{10}$はXであり；$X_{11}$はXであり；$X_{12}$はY、F、D、またはWであり；$X_{13}$はV、A、またはLであり、かつ$X_{14}$はS、N、またはAである。例えば、いくつかの態様において、CDR

-L1は、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 226)
のアミノ酸配列を含有し、配列中、$X_1$はT、Q、S、またはRであり；$X_2$はG、A、またはEであり；$X_3$はI、T、A、D、またはSであり；$X_4$はS、R、T、Q、G、またはIであり；$X_5$はヌル、S、R、またはTであり；$X_6$はG、D、N、またはヌルであり；$X_7$はヌル、V、L、またはIであり；$X_8$はD、G、I、L、S、またはヌルであり；$X_9$はS、G、A、I、D、R、またはヌルであり；$X_{10}$はH、Y、F、S、またはNであり；$X_{11}$はR、N、D、H、Y、またはTであり；$X_{12}$はY、F、D、W、H、T、またはSであり；$X_{13}$はV、A、またはLであり；かつ$X_{14}$はS、N、またはAである。いくつかの態様において、CDR-L1は、アミノ酸配列
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)
を含有し、配列中、$X_1$はT、Q、S、またはRであり；$X_2$はGまたはAであり；$X_3$はI、T、D、またはSであり；$X_4$はS、R、T、またはQであり；$X_5$はヌルまたはSであり；$X_6$はG、D、N、またはヌルであり；$X_7$はヌル、V、またはLであり；$X_8$はD、G、I、L、S、またはヌルであり；$X_9$はS、G、A、I、R、またはヌルであり；$X_{10}$はH、Y、F、S、またはNであり；$X_{11}$はR、N、D、H、またはYであり；$X_{12}$はY、F、D、またはWであり；$X_{13}$はV、A、またはLであり；かつ$X_{14}$はS、N、またはAである。

【０１２２】

いくつかの態様において、CDR-L2は、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$（SEQ ID NO:227）
のアミノ酸を含有し、配列中、$X_1$はD、S、またはGであり；$X_2$はF、V、N、K、またはAであり；$X_3$はS、T、D、またはNであり；$X_4$はK、V、N、Q、またはRであり；$X_5$はR、V、またはLであり；$X_6$はP、K、A、またはEであり；かつ$X_7$はS、P、A、またはTである。いくつかの態様において、CDR-L2は、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$（SEQ ID NO:112）
のアミノ酸配列を含有し、配列中、$X_1$はDまたはSであり；$X_2$はF、V、N、K、またはAであり；$X_3$はS、T、D、またはNであり；$X_4$はK、V、N、Q、またはRであり；$X_5$はR、V、またはLであり；$X_6$はP、K、A、またはEであり；かつ$X_7$はS、P、A、またはTである。

【０１２３】

いくつかの態様において、CDR-L3は、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 228)
のアミノ酸を含有し、配列中、$X_1$はS、G、T、A、Q、C、またはNであり；$X_2$はS、Q、A、またはTであり；$X_3$はY、S、W、Rであり；$X_4$はA、D、R、T、またはYであり；$X_5$はA、S、P、G、N、またはDであり；$X_6$はI、S、G、T、A、L、H、R、またはNであり；$X_7$はS、P、L、Y、Gであり；$X_8$はP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり；$X_9$はS、L、N、A、M、R、またはヌルであり；$X_{10}$はL、D、またはヌルであり；$X_{11}$はY、W、F、V、A、またはLであり；かつ$X_{12}$はV、T、P、またはLである。いくつかの態様において、CDR-L3は、
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)
のアミノ酸配列を含有し、配列中、$X_1$はXであり；$X_2$はS、Q、A、またはTであり；$X_3$はY、S、W、Rであり；$X_4$はA、D、R、T、またはYであり；$X_5$はXであり；$X_6$はXであり；$X_7$はS、P、L、Y、Gであり；$X_8$はXまたはヌルであり；$X_9$はXまたはヌルであり；$X_{10}$はLまたはヌルであり；$X_{11}$はXであり；かつ$X_{12}$はV、T、またはLである。例えば、いくつかの態様において、抗体は、アミノ酸配列
$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 114)
を含むCDR-L3を有し、配列中、$X_1$はS、G、T、A、Q、C、またはNであり；$X_2$はS、Q、A、またはTであり；$X_3$はY、S、W、Rであり；$X_4$はA、D、R、T、またはYであり；$X_5$はA、S、P、G、N、またはDであり；$X_6$はI、S、G、T、A、L、H、R、Nであり；$X_7$はS、P、L、Y、Gであり；$X_8$はP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり；$X_9$はS、L、N、A、M、またはヌルであり；$X_{10}$はLまたはヌルであり；$X_{11}$はY、W、F、V、A、またはLであり；かつ$X_{12}$はV、T、またはLである。

【０１２４】

いくつかの態様では、CDR-L1（例えばSEQ ID NO:110、226、または111に示すもの）において、$X_3$はI、T、またはSであり；$X_4$はS、T、またはQであり；$X_8$はD、G、I、S、またはヌルであり；$X_9$はS、G、I、またはヌルであり；$X_{10}$はH、Y、S、またはNであり；$X_{11}$はR、N、D、またはHであり；$X_{12}$はYまたはDであり；かつ$X_{13}$はVまたはLであり；かつ/またはCDR-L2（例えばSEQ ID NO:227または112に示すもの）において、$X_1$はDであり；$X_4$はK、V、N、Q、またはRであり；$X_6$はP、K、またはAであり；かつ$X_7$はS、A、またはTであり；かつ/またはCDR-L3（例えばSEQ ID NO:228、114、または115に示すもの）において、$X_1$はS、G、T、A、Q、C、またはNであり；$X_5$はA、S、P、G、N、またはDであり；$X_6$はI、S、G、T、A、L、H、R、またはNであり；$X_8$はP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり；$X_9$はS、L、N、A、M、またはヌルであり；かつ$X_{11}$はY、W、F、V、A、またはLである。いくつかの態様では、CDR-L3において、$X_1$はS、G、Q、またはNであり；$X_2$はS、Q、またはTであり；$X_4$はA、D、T、またはYであり；$X_5$はA、S、またはGであり；かつ$X_6$はI、S、N、R、A、H、またはTである。

【０１２５】

いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:83に示すCDR-L1、SEQ ID NO:84に示すCDR-L2、および/またはSEQ ID NO:85に示すCDR-L3を含有するアミノ酸の配列を含む。

【０１２６】

いくつかの態様において、抗体、例えば抗体フラグメントは、SEQ ID NO:21、25、28、または31に示すアミノ酸配列を含有するCDR-L1を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、31、または146～152に示すアミノ酸配列を含有するCDR-L1、例えばSEQ ID NO:80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、または31に示すアミノ酸配列を含有するCDR-L1を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:80、77、74、73、78、21、または28に示すアミノ酸配列を含有するCDR-L1を含有する。

【０１２７】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:22、26、29、または32に示すアミノ酸配列を含有するCDR-L2を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、アミノ酸配列SEQ ID NO:100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29、32、または153～157を含有する（例えばSEQ ID NO:100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29、または32に示すアミノ酸配列を含有する）CDR-L2を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:100、97、94、93、98、22、または29に示すアミノ酸配列を含有するCDR-L2を含有する。

【０１２８】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:23、24、27、30、または33に示す配列を含むCDR-L3を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30、33、158、または159に示す配列を含む（例えばSEQ ID NO:109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30、または33に示すアミノ酸配列を含有する）CDR-L3を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:109、106、103、101、107、24、または30に示す配列を含むCDR-L3を含有する。

【０１２９】

いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21、22、および23の配列を含有する； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21、22、および24の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:25、26、および27の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:28、29、および30の配列を含有する；またはCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:31、32、および33の配列を含有する。

【０１３０】

いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21、22、および23の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21

、22、および24の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:25、26、および27の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:28、29、および30の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:31、32、および33の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:80、100、および109の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:77、97、および106の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:74、94、および103の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:73、93、および101の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:75、95、および104の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:79、99、および108の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:78、98、および107の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:76、96、および105の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:73、93、および102の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:77、97、および106の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:163、164、および165の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:80、100、および109の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:146、97、および106の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:28、153、および158の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:74、94、および103の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:147、154、および121の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:148、94、および103の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:75、95、および104の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:149、155、および119の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:150、22、および120の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21、22、および159の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:151、26、および118の配列を含む； CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:28、156、および116の配列を含む；またはCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:152、157、および117の配列を含む。

【０１３１】

また、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する抗体も提供する。

【０１３２】

いくつかの態様において、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれSEQ ID NO:18、81、および20の配列を含む； CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれSEQ ID NO:18、19、および20の配列を含む； CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれSEQ ID NO:18、82、および20の配列を含む；またはCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3は、それぞれSEQ ID NO:18、72、および20の配列を含む。

【０１３３】

また、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する抗体も提供する。

【０１３４】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO:11、12、60、61、6362、167、または185のアミノ酸配列、例えばSEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62のアミノ酸配列を含み;かつ/または抗体もしくはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、67、または187～205のアミノ酸配列、例えばSEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、または67のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO:11、60、63、または62のアミノ酸配列を含み;かつ/または抗体もしくはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO:14、16、71、90、65、64、または69のアミ

ノ酸配列を含む。

【０１３５】

また、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する抗体も提供する。

【０１３６】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および17のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および15のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および13のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および16のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:62および68のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および65のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:61および66のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および70のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および67のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および91のアミノ酸配列を含む；または抗体もしくはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および16のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および65のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:167および207のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:168または63および208のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:169または11および209のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:170または61および210のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:171または61および211のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:172および212のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:173または11および213のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:174または11および214のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:175または11および215のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:176または61および216のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:177または61および217のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:178または61および218のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:179または61および219のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:

180または12および220のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:181または12および221のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:182または11および222のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:183または60および223のアミノ酸配列を含む；抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:184または11および224のアミノ酸配列を含む；または抗体もしくはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:185および225のアミノ酸配列を含む。

【０１３７】

また、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する抗体も提供する。

【０１３８】

いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO:11または12のアミノ酸配列、またはそのような配列の残基1～119、またはそのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を含む$V_H$領域を含有する。

【０１３９】

いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:13、14、15、16、17のアミノ酸配列、またはそのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を含む$V_L$領域を含むか、またはさらに含む。

【０１４０】

いくつかの態様において、抗体は、一本鎖抗体フラグメント、例えばscFvまたはダイアボディである。いくつかの態様において、一本鎖抗体は、2つの抗体ドメインまたは抗体領域、例えば可変重鎖（$V_H$）領域と可変軽鎖（$V_L$）とを連結する1つまたは複数のリンカーを含む。リンカーは典型的には、ペプチドリンカー、例えば柔軟なかつ/または可溶性のペプチドリンカーである。リンカーには、グリシンおよびセリンならびに/または場合によってはスレオニンに富むものが含まれる。いくつかの態様において、リンカーは、溶解度を改良することができるリジンおよび/またはグルタミン酸などの荷電残基をさらに含む。いくつかの態様において、リンカーは1つまたは複数のプロリンをさらに含む。

【０１４１】

したがって、典型的には2つの抗体ドメインまたは抗体領域、例えば$V_H$ドメインと$V_L$ドメインとを連結するリンカーを含む、scFvおよびダイアボディなどの一本鎖抗体フラグメント、特にヒト一本鎖フラグメントも提供する。リンカーは、典型的にはペプチドリンカー、例えば柔軟なかつ/または可溶性のペプチドリンカー、例えばグリシンおよびセリンに富むものである。

【０１４２】

いくつかの局面において、グリシンおよびセリン（および/またはスレオニン）に富むリンカーは、少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または99％のそのようなアミノ酸を含む。いくつかの態様において、リンカーは、少なくとも、50％、55％、60％、70％、もしくは75％またはその前後の、グリシン、セリン、および/またはスレオニンを含む。いくつかの態様において、リンカーは、実質的にもっぱらグリシン、セリン、および/またはスレオニンで構成される。リンカーは、一般には約5～約50アミノ酸長であり、典型的には10アミノ酸長またはその前後と30アミノ酸長またはその前後との間、例えば10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30アミノ酸長、そしていくつかの例では10～25アミノ酸長である。例示的リンカーとして、配列GGGGS（4GS; SEQ ID NO:123）またはGGGS（3GS; SEQ ID NO:122）のさまざまな数の繰り返し、例えばそのような配列の2、3、4ないし5回の繰り返しを有するリンカーが挙げられる。例示的リンカーとして、

SEQ ID NO: 34 (GGGGSGGGGSGGGGS)

に示す配列を有するもの、または前記配列からなるものが挙げられる。例示的リンカーと

してはさらに、
SEQ ID NO: 43 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG)
に示す配列を有するもの、または前記配列からなるものが挙げられる。

【０１４３】

したがって、いくつかの態様において、上述のリンカー（例えばグリシン/セリンリッチリンカー、例えばGGGS（SEQ ID NO:122）またはGGGGS（SEQ ID NO:123）の繰り返しを有するリンカー、例えばSEQ ID NO:34として示すリンカー）の1つまたは複数を含む一本鎖フラグメント、例えばscFvも提供する。いくつかの態様において、リンカーは、SEQ ID NO:34に示す配列を含有するアミノ酸配列を有する。

【０１４４】

フラグメント、例えばscFvは、$V_H$領域またはその一部分、それに続くリンカー、それに続く$V_L$またはその一部分を含みうる。フラグメント、例えばscFvは、$V_L$、それに続くリンカー、それに続く$V_H$を含みうる。

【０１４５】

いくつかの局面において、scFvは、SEQ ID NO:2、4、6、8、または10に示すアミノ酸配列を有するか、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する。

【０１４６】

いくつかの局面において、scFvは、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列を有するか、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する。

【０１４７】

いくつかの局面において、scFvは、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、89、または207～225に示すアミノ酸配列を有するか、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を有する。

【０１４８】

いくつかの局面において、scFvは、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、89、または207～225に示すVH、リンカーおよびVLを含有するか、そのような配列に少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後同一な配列を含有するが、そのVHおよびVLは、そのような配列と比べて反対の配向、すなわちVL-VHになるように構成されている。

【０１４９】

抗体、例えば抗体フラグメントは、免疫グロブリン定常領域、例えば1つまたは複数の定常領域ドメインの少なくとも一部分を含有しうる。いくつかの態様において、定常領域は、軽鎖定常領域および/または重鎖定常領域1（CH1）を含む。いくつかの態様において、抗体は、CH2および/またはCH3ドメイン、例えばFc領域を含む。いくつかの態様において、Fc領域は、IgG1またはIgG4などのヒトIgGのFc領域である。

【０１５０】

いくつかの態様において、上記の抗体、例えば抗体フラグメントはいずれも、ヒト由来である。例えば、CD19に特異的に結合する（例えばヒトCD19に特異的に結合する）ヒト抗CD19抗体を、ここに提供する。

【０１５１】

ここに提供するヒト抗CD19抗体のいくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有する部分、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Dセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の同一性を持つ部分、および/または生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Jセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なく

とも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の同一性を有する部分を含有する$V_H$領域を含有し、かつ/または生殖細胞系ヌクレオチドヒトカッパもしくはラムダ鎖Vセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の同一性を持つ部分、および/または生殖細胞系ヌクレオチドヒトカッパもしくはラムダ鎖Jセグメントによってコードされるアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の同一性を持つ部分を含有する$V_L$領域を含有する。いくつかの態様では、$V_H$領域の前記部分がCDR-H1、CDR-H2および/またはCDR-H3に対応する。いくつかの態様では、$V_H$領域の前記部分がフレームワーク領域1（FR1）、FR2、FR2および/またはFR4に対応する。いくつかの態様では、$V_L$領域の前記部分がCDR-L1、CDR-L2および/またはCDR-L3に対応する。いくつかの態様では、$V_L$領域の前記部分がFR1、FR2、FR2および/またはFR4に対応する。

【０１５２】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-H1領域のアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有するCDR-H1を含有する。例えば、ヒト抗体は、いくつかの態様において、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-H1領域と比較して、100％同一である配列、またはアミノ酸相違が1つ以下、2つ以下、もしくは3つ以下である配列を有するCDR-H1を含有する。

【０１５３】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-H2領域のアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有するCDR-H2を含有する。例えば、ヒト抗体は、いくつかの態様において、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-H2領域と比較して、100％同一である配列、またはアミノ酸相違が1つ以下、2つ以下、もしくは3つ以下である配列を有するCDR-H2を含有する。

【０１５４】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメント、DセグメントおよびJセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-H3領域のアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有するCDR-H3を含有する。例えば、ヒト抗体は、いくつかの態様において、生殖細胞系ヌクレオチドヒト重鎖Vセグメント、DセグメントおよびJセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-H3領域と比較して、100％同一である配列、またはアミノ酸相違が1つ以下、2つ以下、もしくは3つ以下である配列を有するCDR-H3を含有する。

【０１５５】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト軽鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-L1領域のアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有するCDR-L1を含有する。例えば、ヒト抗体は、いくつかの態様において、生殖細胞系ヌクレオチドヒト軽鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-L1領域と比較して、100％同一である配列、またはアミノ酸相違が1つ以下、2つ以下、もしくは3つ以下である配列を有するCDR-L1を含有する。

【０１５６】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト軽鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-L2領域のアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有するCDR-L2を含有する。例えば、ヒト抗体は、いくつかの態様において、生殖細胞系ヌクレオチドヒト軽鎖Vセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-L2領域と比較して、100％同一である配列、またはアミノ酸相違が1つ以下、2つ以下、もしくは3つ以下である配列を有するCDR-L

2を含有する。

【０１５７】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、生殖細胞系ヌクレオチドヒト軽鎖Vセグメントおよび Jセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-L3領域のアミノ酸配列に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有するCDR-L3を含有する。例えば、ヒト抗体は、いくつかの態様において、生殖細胞系ヌクレオチドヒト軽鎖Vセグメントおよび Jセグメントによってコードされる配列内の対応するCDR-L3領域と比較して、100％同一である配列、またはアミノ酸相違が1つ以下、2つ以下、もしくは3つ以下である配列を有するCDR-L3を含有する。

【０１５８】

いくつかの態様において、ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系遺伝子セグメント配列を含有するフレームワーク領域を含有する。例えば、いくつかの態様において、ヒト抗体は、フレームワーク領域、例えばFR1、FR2、FR3およびFR4が、Vセグメントおよび/またはJセグメントなどのヒト生殖細胞系抗体セグメントによってコードされるフレームワーク領域に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有する$V_H$領域を含有する。いくつかの態様において、ヒト抗体は、フレームワーク領域、例えばFR1、FR2、FR3およびFR4が、Vセグメントおよび/またはセグメントなどのヒト生殖細胞系抗体セグメントによってコードされるフレームワーク領域に対して少なくとも95％、96％、97％、98％、99％、または100％の配列同一性を有する$V_L$領域を含有する。例えば、いくつかのそのような態様では、ヒト生殖細胞系抗体セグメントによってコードされるフレームワーク領域と比較した、$V_H$配列および/または$V_L$配列のフレームワーク配列の相違は、10アミノ酸以下、例えば9、8、7、6、5、4、3、2、または1アミノ酸以下である。

【０１５９】

抗体、例えば抗体フラグメントは、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分、例えば1つまたは複数の定常領域ドメインを含有しうる。いくつかの態様において、定常領域は軽鎖定常領域および/または重鎖定常領域1（CH1）を含む。いくつかの態様において、抗体は、CH2ドメインおよび/またはCH3ドメイン、例えばFc領域を含む。いくつかの態様において、Fc領域は、IgG1またはIgG4などのヒトIgGのFc領域である。

【０１６０】

また、抗体および/またはその部分、例えば鎖をコードする核酸も提供する。ここに提供する核酸には、本明細書に記載する抗CD19抗体をコードするものが含まれる。核酸は、天然および/または非天然ヌクレオチドおよび塩基を包含するもの、例えば主鎖修飾を持つものなどを含みうる。「核酸分子」、「核酸」および「ポリヌクレオチド」という用語は可換的に使用することができ、ヌクレオチドのポリマーを指す。そのようなヌクレオチドのポリマーは天然および/または非天然ヌクレオチドを含有することができ、DNA、RNA、およびPNAを含むが、それらに限定されるわけではない。「核酸配列」とは、核酸分子またはポリヌクレオチドを構成するヌクレオチドの線状配列を指す。例示的核酸および例示的ベクターは、SEQ ID NO:1、3、5、7、9、44、46、48、50、52、54、56、58、86、および88として示す配列を有するもの、およびそのCDRコード部分、ならびにそれらに対して少なくとも、90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99％またはその前後の同一性を含有する配列である。核酸は、抗体の$V_L$を含むアミノ酸配列および/または$V_H$を含むアミノ酸配列（例えば抗体の軽鎖および/または重鎖）をコードしうる。

【０１６１】

また、前記核酸を含有するベクター、前記ベクターを含有する宿主細胞、例えば抗体を生産するためのものも提供する。また、前記抗体を生産するための方法も提供する。さらに別の態様では、前述の核酸を含む1つまたは複数のベクター（例えば発現ベクター）が提供される。さらに別の態様では、前述の核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような一態様において、宿主細胞は、（1）抗体の$V_L$を含むアミノ酸配列と抗体の$V_H$を含むアミノ酸配列とをコードする核酸を含むベクターを含む（例えば前記ベクターで形質転換されている）か、または（2）抗体の$V_L$を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1ベクタ

ーと抗体の$V_H$を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2ベクターとを含む（例えば前記ベクターで形質転換されている）。いくつかの態様では、抗CD19抗体を製造する方法であって、上で述べた抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に適した条件下で培養する工程、および任意で、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から抗体を回収する工程を含む方法が提供される。

【０１６２】

また、抗CD19抗体（抗原結合性フラグメントを含む）を製造する方法も提供する。抗CD19抗体の組換え生産のために、抗体（例えば上述のもの）をコードする核酸を単離し、さらなるクローニングおよび/または宿主細胞における発現のために、1つまたは複数のベクターに挿入しうる。そのような核酸は、従来の手法を使って（例えば抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合する能力を有するオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離し、配列決定することができる。

【０１６３】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物も、抗体をコードするベクターにとって適切なクローニング宿主または発現宿主であり、これには、ヒト細胞におけるグリコシル化経路を模倣しまたはそれとほぼ同じになるようにグリコシル化経路が修飾されていて、その結果、部分的または完全にヒトグリコシル化パターンを持つ抗体を生産する真菌株および酵母株が含まれる。Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414（2004）およびLiら、Nat. Biotech. 24:210-215（2006）を参照されたい。

【０１６４】

ポリペプチドを発現させるために使用しうる例示的真核細胞には、COS7細胞を含むCOS細胞; 293-6E細胞を含む293細胞; CHO-S、DG44.Lec13 CHO細胞、およびFUT8 CHO細胞を含むCHO細胞; PER.C6（登録商標）細胞;およびNSO細胞などがあるが、それらに限定されるわけではない。いくつかの態様では、抗体重鎖および/または抗体軽鎖を酵母で発現させうる。例えば米国特許出願公開第2006/0270045号（A1）を参照されたい。いくつかの態様では、特定の真核宿主細胞が、重鎖および/または軽鎖に所望の翻訳後修飾を加えるその能力に基づいて選択される。例えば、いくつかの態様において、CHO細胞は、293細胞中で生産される同じポリペプチドよりもシアリル化のレベルが高いポリペプチドを生産する。

【０１６５】

いくつかの態様において、抗体は無細胞系において生産される。例示的無細胞系は、例えばSitaraman et al., Methods Mol. Biol. 498:229-44（2009）; Spirin, Trends Biotechnol. 22:538-45（2004）; Endo et al, Biotechnol. Adv. 21: 695-713（2003）に記載されている。

【０１６６】

ここに提供する態様にはさらに、抗体および他の結合タンパク質を発現し生産するためのベクターおよび宿主細胞ならびに他の発現系、例えば真核宿主細胞および原核宿主細胞、例えば細菌、糸状菌、および酵母、ならびに哺乳動物細胞、例えばヒト細胞、ならびに無細胞発現系が含まれる。

【０１６７】

例示的特徴

いくつかの局面において、ここに提供する抗体（抗原結合性フラグメントを含む）は、1つまたは複数の指定された機能的特徴、例えば、特定エピトープ（例えば他の抗体のものと類似するまたはオーバーラップするエピトープ）への結合、結合に関して他の抗体と競合する能力、および/または特定の結合アフィニティーなどといった結合特性を有する。

【０１６８】

いくつかの態様において、抗体はCD19タンパク質に特異的に結合する。本明細書における態様のいずれかの一部の局面において、CD19はヒトCD19を指す。一般に、抗体または他の結合分子がCD19に結合するまたはCD19に特異的に結合するという知見は、それがあらゆる種のCD19に結合することを、必ずしも意味しない。例えば、いくつかの態様において、

CD19に結合する特徴、例えばCD19に特異的に結合し、かつ/またはCD19への結合に関してリファレンス抗体と競合し、かつ/または特定のアフィニティーで結合するもしくは特定の程度に競合する能力は、いくつかの態様では、ヒトCD19タンパク質に関する能力を指し、抗体は、別の種のCD19、例えばサルまたはマウスのCD19に関しては、この特徴を有さないこともありうる。

【０１６９】

いくつかの態様において、ここに提供する抗体（抗原結合性フラグメントを含む）は、ヒトCD19に、例えばヒトCD19のエピトープまたは一領域に、例えば92（アクセッション番号P15391）に示すヒトCD19またはそのアレル変異体もしくはスプライス変異体に結合する。一定の態様において、抗CD19抗体は、異なる種に由来するCD19間で保存されているCD19のエピトープに結合する。いくつかの態様において、抗CD19抗体は、異なる種に由来するCD19間で（例えばヒトCD19とマカカ・ムラタ（Macaca mulatta）（リーサスマカク（アカゲザル））CD19との間で）保存されていないか完全には保存されていないC19のエピトープに結合する。

【０１７０】

いくつかの態様において、抗体は、CD19の細胞外ドメイン内の1つまたは複数のアミノ酸を含有する（または完全にCD19の細胞外ドメイン内にある）かつ/またはCD19の細胞外部分の膜近位領域内の1つまたは複数のアミノ酸を含有する（またはもっぱらCD19の細胞外部分の膜近位領域内にある）エピトープに結合する。いくつかの態様において、抗体は、CD19のIg様ドメイン2、CD19の第4エクソンによってコードされる部分、および/またはSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置176～277に対応する部分、および/またはCD19の細胞外部分の最も膜近位側の100、90、80、75、70、65、60、55、50、45、44、43、43、41、または40アミノ酸部分の内部にある1つまたは複数のアミノ酸を含有するエピトープ、または完全にその内部にあるエピトープに結合する。いくつかの態様では、そのような部分またはドメインが、CD19への抗体の結合にとって必要である。いくつかの態様において、エピトープは、CD19のIg様ドメイン1、CD19の第2エクソンによってコードされる部分、および/またはSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置20～117に対応する部分の内部にある1つまたは複数のアミノ酸を含有する（またはさらに含有する）か、または完全にその内部にある。いくつかの態様では、そのような部分またはドメインがCD19への抗体の結合にとって必要である。いくつかの態様において、抗体は、そのような部分の配列を含むか、そのような部分の配列からなるか、または本質的にそのような部分の配列からなり、かつ完全長CD19の配列全体を含有しないペプチドに、特異的に結合する。

【０１７１】

いくつかの態様において、エピトープは、CD19のうちのSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の残基218～249に対応する部分、例えばSEQ ID NO:143に示す配列を有する部分内の1つまたは複数のアミノ酸を含有するか、前記部分内にあるか、または前記部分を含む。

【０１７２】

いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の以下の位置にある以下のアミノ酸に対応するCD19の位置の1つまたは複数に対応する位置にあるアミノ酸を含む:位置218のヒスチジン（H）、位置236のアラニン（A）、位置242のメチオニン（M）、位置243のグルタミン酸（E）、位置249のプロリン（P）、ならびに/または位置223および224のリジン（K）および/もしくはセリン（S）。いくつかの態様では、1つまたは複数のそのような位置にあるアミノ酸が、CD19への抗体の結合にとって重要または必要である。いくつかの態様において、そのような1つまたは複数の位置にあるエピトープ中のアミノ酸は、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列中のそれぞれの位置にあるアミノ酸に一致する。

【０１７３】

いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置218のヒスチジンに対応するCD19の位置にあるアミノ酸（例えばヒスチジン）を含み、いくつかの態様では、そのようなアミノ酸がCD19への抗体の結合にとって重要である。

【０１７４】
いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置236にあるアラニンに対応するCD19の位置にあるアミノ酸（例えばアラニン）を含み、いくつかの態様では、そのようなアミノ酸がCD19への抗体の結合にとって重要である。
【０１７５】
いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置242にあるメチオニンに対応するCD19の位置にあるアミノ酸（例えばメチオニン）を含み、いくつかの態様では、そのようなアミノ酸がCD19への抗体の結合にとって重要である。
【０１７６】
いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置243にあるグルタミン酸に対応するCD19の位置にあるアミノ酸（例えばグルタミン酸）を含み、いくつかの態様では、そのようなアミノ酸がCD19への抗体の結合にとって重要である。
【０１７７】
いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置249にあるプロリンに対応するCD19の位置にあるアミノ酸（例えばプロリン）を含み、いくつかの態様では、そのようなアミノ酸がCD19への抗体の結合にとって重要である。
【０１７８】
いくつかの態様において、エピトープは、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置223および224のリジンおよび/またはセリンに対応する1つまたは2つの位置にあるアミノ酸（例えばリジンおよび/またはセリン）を含有し、いくつかの態様では、そのようなアミノ酸がCD19への抗体の結合にとって重要である。
【０１７９】
いくつかの態様において、エピトープは、FMC63またはSJ25C1などのリファレンス抗体が特異的に結合するエピトープと同じであるか、類似しているか、オーバーラップしているか、または1つまたは複数の同じアミノ酸を含有する。いくつかの態様では、前記同じ1つまたは複数のアミノ酸が、ここに提供する抗体およびリファレンス抗体の結合にとって重要である。
【０１８０】
いくつかの態様において、非ヒトCD19または他の非CD19タンパク質などの無関係な非CD19タンパク質への抗CD19抗体の結合の程度は、例えばラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定した場合に、ヒトCD19への抗体の結合の約40％未満である。いくつかの態様において、ここに提供する抗体には、非ヒトCD19または他の非CD19タンパク質への結合が、ヒトCD19へのその抗体の結合の約30％以下、約20％以下、または約10％以下である抗体が含まれる。
【０１８１】
いくつかの態様において、ここに提供する抗体（抗原結合性フラグメントを含む）の前述の特性は、別の抗体、例えばリファレンス抗体で観察される特性に関連して記述される。いくつかの態様において、リファレンス抗体は、マウスまたはキメラまたはヒト化抗CD19抗体などの非ヒト抗CD19抗体である。いくつかの局面において、リファレンス抗体は、FMC63と呼ばれる抗体またはSJ25C1と呼ばれる抗体（例えばZola H et al., Immunol Cell Biol. 1991 Dec; 69（Pt 6）:411-22;米国特許第7,446,190号参照）、および/またはそれらから誘導されるフラグメント、例えばそのscFvフラグメント、および/またはそのような抗体の$V_H$配列および$V_L$配列ならびに/またはそのような抗体の重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含有する抗体である。
【０１８２】
例えば、いくつかの態様において、リファレンス抗体は、SEQ ID NO:39または41に示す配列を含有する$V_H$領域を有するか、そのような配列内のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含み、かつ/またはSEQ ID NO:40もしくは42に示す配列を含有する$V_L$を有するか、そのような配列内のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む。したがって、いくつかの態様において、抗体は、結合に関して、FMC63もしくはSJ25C1またはその抗原結合性フラグメン

トと競合し、かつ/またはそれらと同じもしくはオーバーラップするCD19のエピトープに結合する。

【０１８３】

いくつかの態様において、リファレンス抗体は、本明細書に記載する抗体またはその一部分の中に存在する配列を有する。例えば、いくつかの態様において、リファレンス抗体は、SEQ ID NO:13、14、15、16、もしくは17および/またはSEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、もしくは67に示す軽鎖可変（$V_L$）領域アミノ酸配列を有し、かつ/またはSEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示す重鎖可変（VH）領域を有する。いくつかの態様において、抗体は、前述の抗体中に存在する重鎖および/または軽鎖CDR1、2、および/または3を有する。いくつかの態様において、リファレンス抗体は、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51, 53,55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列を含有するscFvであることができる。

【０１８４】

いくつかの態様において、抗体は、それでもなお、FMC63およびSJ25C1などの1つまたは複数のリファレンス抗体中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含有する。例えば、ここに提供する抗体には、結合に関してリファレンス抗体と競合し、かつ/またはリファレンス抗体が結合するものと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに結合するが、それでもなお、異なるCDR、例えば異なる重鎖および/または軽鎖CDR1、CDR2、およびCDR3を含有するものが含まれる。いくつかの態様において、ここに提供する抗体は、FMC63と呼ばれる抗体中に存在する（例えばSEQ ID NO:39に示すVH領域および/またはSEQ ID NO:40に示すVL領域中に存在する）CDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含有する。いくつかの態様において、ここに提供する抗体は、SJ25C1と呼ばれる抗体中に存在する（例えばSEQ ID NO:41に示すVH領域および/またはSEQ ID NO:42に示すVL領域中に存在する）CDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含有する。

【０１８５】

例えばいくつかの態様において、抗体は、例えばリファレンス抗体と同じまたは類似するエピトープに結合する抗体など、リファレンス抗体が結合するCD19のエピトープとオーバーラップするエピトープに特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体は、CD19への結合に関してリファレンス抗体と競合する。

【０１８６】

いくつかの態様において、抗体は、例えば当技術分野において公知のかつ/または本明細書に記載する特定細胞などのCD19陰性細胞と比較してCD19発現細胞に対して結合選好（binding preference）を呈する。いくつかの態様では、結合選好が観察され、そこでは、CD19非発現細胞と比較してCD19発現細胞に対して有意に大きい結合の程度が測定される。いくつかの態様において、CD19非発現細胞と比較してCD19発現細胞に対して、フローサイトメトリーに基づくアッセイにおける平均蛍光強度および/または解離定数もしくはEC50などによって測定した場合に、検出される結合の程度の倍率変化は、少なくとも、1.5、2、3、4、5、6倍もしくはその前後またはそれ以上であり、かつ/またはリファレンス抗体（例えば対応する形態のリファレンス抗体）に観察される変化倍率と、ほぼ同じくらいである（about as great）か、ほぼ同じである（about the same）か、少なくとも同じくらいである（at least as great）か、それより大きい。場合により、観察されるCD19またはCD19発現細胞への総合的な結合の程度は、リファレンス抗体に観察されるものと、およそ同じであるか、少なくとも同じくらいであるか、またはそれより大きい。ここに提供する態様のいずれにおいても、アフィニティーまたは競合などの結合特性の比較は、同じアッセイまたは類似するアッセイによる測定によって行いうる。

【０１８７】

抗体は、それがCD19へのリファレンス抗体の結合を競合的に阻害し、かつ/またはリファレンス抗体がCD19への当該抗体の結合を競合的に阻害するのであれば、リファレンス抗体とCD19への「結合に関して競合する」。抗体は、過剰量の当該抗体の存在がその抗原への他の抗体の結合を検出可能に阻害（ブロック）するのであれば、抗原へのリファレンス

抗体の結合を競合的に阻害する。特定の阻害程度を指定しうる。

【０１８８】

いくつかの態様において、ここに提供する抗体を、リファレンス抗体の量または濃度と比較して過剰に、例えば1倍、2倍、5倍、10倍、50倍または100倍過剰に添加すると、リファレンス抗体による抗原への結合が阻害される（またはその逆が起こる）。いくつかの態様において、結合の阻害は少なくとも50％の阻害であり、いくつかの態様では、少なくとも75％、90％または99％の阻害である。いくつかの局面において、競合阻害は、競合結合アッセイにおいて測定される阻害である（例えばJunghans et al., Cancer Res. 1990:50 : 1495-1502）。

【０１８９】

いくつかの態様において、リファレンス抗体が10nMの濃度で存在する場合、ここに提供する抗体は、リファレンス抗体の結合を、100、50、40、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、もしくは10nM未満、またはその前後未満のIC50で、または9、8、7、6、もしくは5nM未満またはその前後未満のIC50で阻害する。いくつかの態様において、ここに提供する抗体が10nMの濃度で存在する場合、リファレンス抗体は、ここに提供する抗体の結合を、100、50、40、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、もしくは10nM未満、またはその前後未満のIC50で、あるいは9、8、7、6、もしくは5nM未満またはその前後未満のIC50で阻害する。

【０１９０】

いくつかの態様において、ここに提供する抗体によるリファレンス抗体の結合の競合阻害（またはその逆）は、リファレンス抗体自身（例えば非標識リファレンス抗体）によるリファレンス抗体の結合の競合阻害の程度と同じ程度もしくはほぼ同じ程度または少なくとも同じ程度もしくは少なくともほぼ同じ程度である。いくつかの態様において、ここに提供する抗体は、ヒトCD19へのリファレンス抗体の結合、例えばFMC63またはSJ25C1の結合を、少なくとも70％、75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、または99％阻害する。競合阻害アッセイは公知であり、これには、ELISAに基づくアッセイ、フローサイトメトリーに基づくアッセイ、およびRIAに基づくアッセイが含まれる。いくつかの局面において、競合阻害アッセイは、一方の抗体の非標識型を過剰に組み込み、結合の程度およびその低減をラベルまたはマーカーの検出によって評価することができるように検出可能なマーカーで標識された他方の抗体の結合をブロックするその能力を評価することによって実行される。

【０１９１】

いくつかの態様において、一方の抗体の結合を低減しまたは排除する抗原中のアミノ酸突然変異のすべてまたは本質的にすべてが、他方の抗体の結合を低減しまたは排除するのであれば、それら2つの抗体は同じエピトープに特異的に結合する。いくつかの態様において、一方の抗体による抗原への結合を低減しまたは排除する抗原中のアミノ酸突然変異の少なくとも一部が他方の抗体による抗原への結合も低減しまたは排除するのであれば、それら2つの抗体は、オーバーラップするエピトープに特異的に結合する。

【０１９２】

いくつかの態様において、ここに提供する抗体は、ヒトCD19などのCD19に、いくつかある公知の方法のいずれかによって測定した場合に、少なくとも一定のアフィニティーで結合する能力を有する。いくつかの態様では、アフィニティーが解離定数（Kd）によって表され、いくつかの態様では、アフィニティーがEC50によって表される。一定の態様において、CD19に対する抗体の結合アフィニティー（EC50）および/または解離定数は、100nM、50nM、40nM、30nM、25nM、20nM、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、もしくは1nM、またはその前後、またはそれ未満、またはその前後未満、例えば1nMまたはその前後と15nMまたはその前後との間、例えば5nMまたはその前後と10nMまたはその前後との間である。一態様において、無関係な非CD19タンパク質への抗CD19抗体の結合の程度は、ラジオイムノアッセイ（RIA）などによって測定した場合に、CD19に対する抗体の結合の10％未満またはその前後未満である。

【０１９３】
いくつかの局面において、アフィニティーは、マウスCD19抗体などのリファレンス抗体、例えばFMC63またはSJ25C1と比較して、同程度もしくはその前後または実質上同程度もしくはその前後のアフィニティーである。いくつかの局面において、アフィニティーは、リファレンス抗体のアフィニティーと少なくとも80、85、90、95、または99％同じである。いくつかの態様において、結合アフィニティーは、対応する形態のリファレンス抗体に関して比較される。
【０１９４】
いくつかの態様において、抗体は、リファレンス抗体のアフィニティー、例えば対応する形態のリファレンス抗体のアフィニティーと、ほぼ同じかそれより低いアフィニティー、例えばEC50またはKdを有し、例えば、同じまたは類似するアッセイにおける測定などで、リファレンス抗体のEC50の約1.5倍以下、または約2倍以下、約3倍以下、かつ/または約10倍以下のEC50を有する。
【０１９５】
本明細書において提供される抗CD19抗体は、さまざまな公知のアッセイによって、同定し、スクリーニングし、またはその物理的/化学的特性および/もしくは生物学的活性について特徴づけることができる。一局面において、抗体はその抗原結合活性について、例えばターゲット抗原（例えばCD19）を発現する細胞への抗体（例えば蛍光マーカーにコンジュゲートされたものまたはタグ付けされたもの）の結合を評価する細胞に基づく結合アッセイを含むELISA、ウェスタンブロッティング、および/またはフローサイトメトリーアッセイなどの公知の方法により、場合によってはターゲット抗原（例えばCD19）を発現しない細胞を使った結果と比較して、試験される。結合アフィニティーはKdまたはEC50として測定しうる。
【０１９６】
本明細書に記載する抗体のいずれかと競合する抗体を同定するには、競合アッセイを使用することができる。本抗体およびリファレンス抗体によって結合されるエピトープをマッピングするためのアッセイも使用することができ、公知である。
【０１９７】
イムノコンジュゲート
いくつかの態様において、抗体は、イムノコンジュゲートであるか、イムノコンジュゲートの一部であり、ここでは、抗体が1つまたは複数の異種分子、例えば限定するわけではないが、細胞毒性作用物質、イメージング作用物質、検出可能部分、多量体化ドメインまたは他の異種分子にコンジュゲートされている。細胞毒性作用物質には、放射性同位体（例えばAt211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212およびLuの放射性同位体）;化学療法剤（例えばメトトレキサート、アドリアマイシン（adriamicin）、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルビシンまたは他のインターカレート剤）;成長阻害性作用物質;酵素およびそのフラグメント、例えば核酸分解酵素;抗生物質;毒素、例えば低分子量毒素または酵素活性毒素などがあるが、それらに限定されるわけではない。いくつかの態様において、抗体は、1つまたは複数の細胞毒性作用物質、例えば化学療法剤もしくは化学療法薬、成長阻害性作用物質、毒素（例えば細菌、真菌、植物、もしくは動物由来のタンパク質毒素、酵素活性毒素、またはそれらのフラグメント）、または放射性同位体にコンジュゲートされる。
【０１９８】
イムノコンジュゲートには、抗体が1つまたは複数の薬物、例えば限定するわけではないがメイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号および欧州特許第0 425 235号B1参照）;アウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチン薬物部分DEおよびDF（MMAEおよびMMAF）（米国特許第5,635,483号および同第5,780,588号、および同第7,498,298号参照）;ドラスタチン;カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,

710号、同第5,773,001号、および同第5,877,296号; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342（1993）;およびLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928（1998）参照）;アントラサイクリン、例えばダウノマイシンまたはドキソルビシン（Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523（2006）; Jeffrey et al, Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362（2006）; Torgov et al, Bioconj. Chem. 16:717-721（2005）; Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834（2000）; Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532（2002）; King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343（2002）;および米国特許第6,630,579号参照）;メトトレキサート;ビンデシン;タキサン、例えばドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、およびオルタタキセル;トリコテセン;ならびにCC1065にコンジュゲートされている抗体-薬物コンジュゲート（ADC）が含まれる。

【０１９９】

また、イムノコンジュゲートには、抗体が酵素活性毒素またはそのフラグメント、例えば限定するわけではないがジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性フラグメント、エキソトキシンA鎖（緑膿菌（Pseudomonas aeruginosa）由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデッシンA鎖、アルファ-サルシン、シナアブラギリ（Aleurites fordii）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Phytolaca americana）タンパク質（PAPI、PAPII、およびPAP-S）、ツルレイシ（momordica charantia）インヒビター、クルシン、クロチン、サボンソウ（sapaonaria officinalis）インヒビター、ゲロニン、マイトゲリン（mitogellin）、レストリクトシン（restrictocin）、フェノマイシン（phenomycin）、エノマイシン（enomycin）、およびトリコテセン（tricothecene）にコンジュゲートされているものが含まれる。

【０２００】

また、イムノコンジュゲートには、抗体が、放射性原子にコンジュゲートされてラジオコンジュゲートを形成しているものも含まれる。例示的放射性同位体には、$At^{211}$、$I^{131}$、$I^{125}$、$Y^{90}$、$Re^{186}$、$Re^{188}$、$Sm^{153}$、$Bi^{212}$、$P^{32}$、$Pb^{212}$およびLuの放射性同位体などがある。

【０２０１】

抗体と細胞毒性作用物質とのコンジュゲートは、いくつかある公知のタンパク質カップリング剤（例えばリンカー）のどれを使って製造してもよい（Vitetta et al., Science 238: 1098（1987）; WO94/11026参照）。リンカーは、細胞における細胞毒性薬の放出を容易にする「切断可能なリンカー」、例えば酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー、およびジスルフィド含有リンカーであってよい（Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131（1992）;米国特許第5,208,020号）。

【０２０２】

コンジュゲートには、Fc融合物などの融合タンパク質およびキメラ分子も含めることができる。

【０２０３】

多重特異性抗体

一定の態様において、CD19結合分子、例えば抗体は、多重特異性である。多重特異性結合分子には、例えば二重特異性抗体などの多重特異性抗体が含まれる。多重特異性結合パートナー、例えば抗体は、同じ抗原中にあっても異なる抗原中にあってもよい少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有する。一定の態様では、結合特異性の一方がCD19に対する特異性であり、他方が別の抗原に対するものである。一定の態様において、二重特異性抗体はCD19の2つの異なるエピトープに結合しうる。二重特異性抗体は、CD19を発現する細胞に細胞毒性作用物質を局在化させるためにも使用しうる。二重特異性抗体は完全長抗体または抗体フラグメントとして調製することができる。二重特異性抗体には、多重特異性一本鎖抗体、例えばダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディ、タンデムジ-scFv、およびタンデムトリ-scFvが含まれる。また、抗体を含有する多重特異性キメ

ラ受容体、例えば多重特異性CARも提供する。

【０２０４】

例示的追加抗原には、他のB細胞特異的抗原およびT細胞上に発現する抗原が含まれる。例示的抗原には、CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD20、CD21、CD22、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC-1、Ia、HM1.24、HLA-DR、テネイシン、血管新生因子、VEGF、PIGF、ED-Bフィブロネクチン、がん遺伝子、がん遺伝子産物、CD66a～d、壊死抗原、Ii、IL-2、T101、TAC、IL-6、TRAIL-R1（DR4）およびTRAIL-R2（DR5）などがある。

【０２０５】

変異体

一定の態様において、抗体は、本明細書に記載する抗体の配列と比較して、1つまたは複数のアミノ酸変異、例えば置換、欠失、挿入、および/または突然変異を含む。例示的変異体には、抗体の結合アフィニティーおよび/または他の生物学的特性を改良するために設計されたものが含まれる。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適当な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって、調製しうる。そのような修飾には、例えば抗体のアミノ酸配列からの欠失、および/または抗体のアミノ酸配列への挿入、および/または抗体のアミノ酸配列内での残基の置換が含まれる。最終コンストラクトが所望の特徴、例えば抗原結合性を有する限り、欠失、挿入、および置換を自由に組み合わせて最終コンストラクトに到達することができる。

【０２０６】

一定の態様において、抗体は、例えば本明細書に記載する抗体配列と比較して、かつ/または天然レパートリー（例えばヒトレパートリー）の配列と比較して、1つまたは複数のアミノ酸置換を含む。置換突然変異導入に関する関心対象部位には、CDRおよびFRが含まれる。アミノ酸置換を関心対象の抗体に導入し、その産物を所望の活性、例えば抗原結合性の保持/改良、免疫原性の減少、半減期の改良、および/または抗体依存性細胞性細胞傷害（ADCC）もしくは補体依存性細胞傷害（CDC）を促進する能力などといったエフェクター機能の改良について、スクリーニングすることができる。いくつかの態様において、変異体抗体は、保持または改良されたCD19への結合を呈する。

【０２０７】

いくつかの態様では、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗体）のCDR内の1つまたは複数の残基が置換される。いくつかの態様では、例えばヒト対象への投与時の免疫原性の可能性を低減させるなどの目的で、生殖細胞系配列、例えば生殖細胞系（例えばヒト生殖細胞系）に見いだされる抗体配列へと、配列または配列中の位置が復帰するように、置換が加えられる。

【０２０８】

いくつかの態様では、CDR「ホットスポット」、体細胞成熟過程中に高い頻度で突然変異を起こすコドンがコードする残基（例えばChowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196（2008）を参照されたい）、および/または抗原と接触する残基に改変を加え、その結果として生じる変異体$V_H$または$V_L$を結合アフィニティーについて試験する。二次ライブラリーを構築してそこから再選択することによる親和性成熟については、例えばHoogenboomらがMethods in Molecular Biology 178:1-37（O'Brien et al., ed., Humana Press, Totowa, NJ,（2001））に記載している。親和性成熟のいくつかの態様では、さまざまな方法（例えばエラープローンPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指定突然変異導入法）のいずれかによって、成熟のために選ばれた可変遺伝子に多様性が導入される。次に、二次ライブラリーを作成する。次に、そのライブラリーをスクリーニングして、所望のアフィニティーを持つ抗体変異体をすべて同定する。多様性を導入するための別の方法では、数個のCDR残基（例えば一度に4～6残基）をランダム化するCDR指向的アプローチをとる。例えばアラニンスキャニング突然変異導入またはモデリングを使って抗原結合に関与するCDR残基を特異的に同定することができる。特にCDR-H3およびCDR-L3は標的とすることが多い。

【０２０９】
一定の態様において、置換、挿入、または欠失は、前述の改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、1つまたは複数のCDR内に存在しうる。例えば、結合アフィニティーを実質的に低減しない保存的改変（例えば本明細書にいう保存的置換）をCDRに加えうる。そのような改変は、例えばCDR中の抗原接触残基以外に存在しうる。上で述べた変異体$V_H$および$V_L$配列の一定の態様では、各CDRが無改変であるか、1つ以下、2つ以下または3つ以下のアミノ酸置換を含有する。
【０２１０】
アミノ酸配列挿入には、長さが1残基から100残基以上を含有するポリペプチドまでの範囲にわたるアミノ末端融合および/またはカルボキシル末端融合、ならびに1つまたは複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入物の例には、N末端メチオニル残基を持つ抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体のN末端またはC末端の、酵素への、または抗体の血清中半減期を増加させるポリペプチドへの融合物が含まれる。
【０２１１】
修飾
一定の態様では、例えばアミノ酸配列を改変することによって1つまたは複数のグリコシル化部位を除去または挿入することにより、かつ/または例えば一定の細胞株を使ってグリコシル化部位に取り付けられるオリゴ糖を修飾することにより、抗体を改変することで、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させる。グリコシル化部位には、重鎖のアスパラギン297が含まれる（Kabatナンバリングによる）。
【０２１２】
例示的修飾、変異体および細胞株は、例えば特許出願公開番号US2003/0157108、US2004/0093621、US2003/0157108; WO2000/61739; WO2001/29246; US2003/0115614; US2002/0164328; US2004/0093621; US2004/0132140; US2004/0110704; US2004/0110282; US2004/0109865; WO2003/085119; WO2003/084570; WO2005/035586; WO2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249（2004）; Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614（2004）; Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545（1986）;米国特許出願公開番号US2003/0157108 A1、Presta, L;およびWO2004/056312 A1、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614（2004）; Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94（4）:680-688（2006）;およびWO2003/085107; WO2003/011878（Jean-Mairet et al.）;米国特許第6,602,684号（Umana et al.）;およびUS2005/0123546（Umana et al.）; WO1997/30087（Patel et al.）; WO1998/58964（Raju, S.）;およびWO1999/22764（Raju, S.）に記載されている。
【０２１３】
修飾抗体には、Fc領域に1つまたは複数のアミノ酸修飾を有するもの、例えば1つまたは複数のアミノ酸位置にアミノ酸修飾（例えば置換）を含むヒトFc領域配列または定常領域の他の部分（例えばヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4 Fc領域）を有するものが含まれる。
【０２１４】
そのような修飾は、例えば半減期を改良するために、1タイプまたは複数タイプのFc受容体への結合を改変するために、かつ/またはエフェクター機能を改変するために行うことができる。
【０２１５】
また、変異体には、例えば作用物質およびリンカー-作用物質のコンジュゲーションに使用してイムノコンジュゲートを生産するために、アクセス可能な部位に反応性チオール基を生じさせる目的で、抗体の1つまたは複数の残基がシステイン残基で置換されているシステイン改変抗体、例えば「チオMAb（thioMAb）」および他のシステイン改変変異体も含まれる。システイン改変抗体は、例えば米国特許第7,855,275号および同第7,521,541号に記載されている。
【０２１６】

いくつかの態様では、追加の非タンパク質性部分、例えば水溶性ポリマーを含有するように、抗体が修飾される。例示的ポリマーには、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマー）、およびデキストランまたはポリ（n-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、およびそれらの混合物などがあるが、それらに限定されるわけではない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性ゆえに、製造に際して利点を有しうる。ポリマーは任意の分子量であってよく、分枝ポリマーであっても、非分枝ポリマーであってもよい。抗体に取り付けられるポリマーの数はさまざまであってよく、2つ以上のポリマーが取り付けられる場合、それらは同じ分子であることも異なる分子であることもできる。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および/またはタイプは、例えば限定するわけではないが、改良しようとする抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が所定の条件下で治療に使用されるかどうかなどの考察に基づいて決定することができる。

【０２１７】

B.組換え受容体

ここに提供するCD19結合分子には、CD19に特異的に結合する抗原受容体および他のキメラ受容体などの組換え受容体、例えばここに提供する抗CD19抗体（例えば抗体フラグメント）を含有する受容体が含まれる。抗原受容体には、機能的非TCR抗原受容体、例えばキメラ抗原受容体（CAR）が含まれる。また、組換え受容体を発現する細胞、ならびに養子細胞療法におけるその使用、例えばCD19発現と関連する疾患および障害の処置におけるその使用も提供する。

【０２１８】

例示的抗原受容体（CARを含む）およびそのような受容体を工学的に製作し細胞中に導入するための方法には、例えば国際特許出願公開番号WO200014257、WO2013126726、WO2012/129514、WO2014031687、WO2013/166321、WO2013/071154、WO2013/123061、米国特許出願公開番号US2002131960、US2013287748、US20130149337、米国特許第6,451,995号、同第7,446,190号、同第8,252,592号、同第8,339,645号、同第8,398,282号、同第7,446,179号、同第6,410,319号、同第7,070,995号、同第7,265,209号、同第7,354,762号、同第7,446,191号、同第8,324,353号、および同第8,479,118号、ならびに欧州特許出願番号EP2537416に記載されているもの、および/またはSadelain et al., Cancer Discov. 2013 April;3（4）:388-398; Davila et al.（2013）PLoS ONE 8（4）:e61338; Turtle et al., Curr. Opin. Immunol, 2012 October;24（5）:633-39; Wu et al., Cancer, 2012 March 18（2）:160-75によって記載されているものなどがある。いくつかの局面において、抗原受容体には、米国特許第7,446,190号に記載のCAR、および国際特許出願公開番号WO/2014055668 A1に記載されているものが含まれる。CARの典型例としては、上述の刊行物のいずれか、例えばWO2014031687、US8,339,645、US7,446,179、US2013/0149337、米国特許第7,446,190号、米国特許第8,389,282号に開示されているCARであって、例えば抗原結合部分（例えばscFv）が、例えばここに提供する抗体で置き換えられているものが挙げられる。

【０２１９】

キメラ受容体にはキメラ抗原受容体（CAR）が含まれる。CARなどのキメラ受容体は一般に、ここに提供する抗CD19抗体の一つを含む細胞外抗原結合ドメイン、ここに提供する抗CD19抗体である細胞外抗原結合ドメイン、またはここに提供する抗CD19抗体内に含まれる細胞外抗原結合ドメインを含む。したがってキメラ受容体、例えばCARは、典型的には、その細胞外部分に、1つまたは複数のCD19結合分子、例えば1つまたは複数の抗原結合性フラグメント、ドメイン、もしくは部分、または1つもしくは複数の抗体可変ドメインおよび/もしくは抗体分子、例えば本明細書に記載するものを含む。いくつかの態様において

、CARは、抗体分子の1つまたは複数のCD19結合部分、例えば抗体の可変重（$V_H$）鎖領域および/または可変軽（$V_L$）鎖領域、例えばscFv抗体フラグメントを含む。

【０２２０】

CD19ターゲティングCARは、例えばKochenderfer et al., 2013, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 267-276（2013）; Wang et al.（2012）J. Immunother. 35（9）:689-701;およびBrentjens et al., Sci Transl Med. 2013 5（177）によって記載されている。WO2014031687、US8,339,645、US7,446,179、US2013/0149337、米国特許第7,446,190号、および米国特許第8,389,282号も参照されたい。

【０２２１】

いくつかの態様において、CARなどの組換え受容体、例えばその抗体部分はさらにスペーサーを含み、このスペーサーは、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分またはその変異体もしくは修飾型、例えばヒンジ領域（IgG4ヒンジ領域など）、および/またはCH1/CLおよび/またはFc領域であってもよいし、それらを含んでもよい。いくつかの局面において、定常領域の前記一部分は、抗原認識構成成分（例えばscFv）と膜貫通ドメインとの間のスペーサー領域として役立つ。スペーサーは、スペーサーが存在しない場合と比較して、抗原結合後の細胞の応答性を増加させる長さであることができる。いくつかの例において、スペーサーは12アミノ酸長もしくはその前後または12アミノ酸長以下である。例示的スペーサーとして、少なくとも約10～229アミノ酸、約10～200アミノ酸、約10～175アミノ酸、約10～150アミノ酸、約10～125アミノ酸、約10～100アミノ酸、約10～75アミノ酸、約10～50アミノ酸、約10～40アミノ酸、約10～30アミノ酸、約10～20アミノ酸、または約10～15アミノ酸（列挙した範囲のいずれかの終点間の整数をいずれも含む）を有するものが挙げられる。いくつかの態様において、スペーサー領域は約12個以下のアミノ酸、約119個以下のアミノ酸、または約229個以下のアミノ酸を有する。例示的スペーサーは、IgG4ヒンジのみ、CH2およびCH3ドメインに連結されたIgG4ヒンジ、またはCH3ドメインに連結されたIgG4ヒンジを含む。例示的スペーサーには、Hudecek et al.（2013）Clin. Cancer Res., 19:3153、国際特許出願公開番号WO2014031687、米国特許第8,822,647号または出願公開番号US2014/0271635に記載されているものがあるが、それらに限定されるわけではない。

【０２２２】

いくつかの態様において、定常領域または定常部分は、IgG4またはIgG1などといったヒトIgGのものである。いくつかの態様において、スペーサーは配列ESKYGPPCPPCP（SEQ ID NO:124に示すもの）を有し、SEQ ID NO:125に示す配列によってコードされる。いくつかの態様において、スペーサーはSEQ ID NO:126に示す配列を有する。いくつかの態様において、スペーサーはSEQ ID NO:127に示す配列を有する。いくつかの態様において、定常領域または定常部分はIgDのものである。いくつかの態様において、スペーサーはSEQ ID NO:128に示す配列を有する。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:124、126、127、または128のいずれかに対して少なくとも、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはその前後またはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を有する。

【０２２３】

抗原認識ドメインは一般に、1つまたは複数の細胞内シグナリング構成成分、例えばCARの場合であればTCR複合体などの抗原受容体複合体による活性化を模倣しかつ/または別の細胞表面受容体を介してシグナリングするシグナリング構成成分に連結される。したがって、いくつかの態様において、CD19特異的結合構成成分（例えば抗体）は、1つまたは複数の膜貫通ドメインおよび細胞内シグナリングドメインに連結される。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは細胞外ドメインに融合される。一態様では、受容体（例えばCAR）中のドメインの一つに天然に付随している膜貫通ドメインが使用される。いくつかの例において、膜貫通ドメインは、受容体複合体の他の構成要素との相互作用を最小限に抑えるために、同じまたは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへの前述のドメインの結合が回避されるように選択され、またはアミノ酸置換によって修飾される。

【０２２４】
膜貫通ドメインは、いくつかの態様において、天然供給源または合成供給源に由来する。供給源が天然である場合、ドメインは、いくつかの局面において、任意の膜結合型タンパク質または膜貫通タンパク質に由来する。膜貫通領域には、T細胞受容体のアルファ、ベータまたはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154に由来するもの（すなわち、少なくともその膜貫通領域を含むもの）、および/またはその機能的変異体を含有する膜貫通領域、例えばその構造的（例えば膜貫通）特性の実質的部分を保持しているものが含まれる。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、CD4、CD28、もしくはCD8、例えばCD8アルファ、またはその機能的変異体に由来する膜貫通ドメインである。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは、いくつかの態様において、合成物である。いくつかの局面において、合成膜貫通ドメインは、主として、ロイシンおよびバリンなどの疎水性残基を含む。いくつかの局面において、合成膜貫通ドメインの各末端にはフェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンのトリプレットが見いだされるであろう。いくつかの態様では、連結が、リンカー、スペーサー、および/または膜貫通ドメインによる。

【０２２５】
細胞内シグナリングドメインには、天然抗原受容体によるシグナル、共刺激受容体と組み合わせされたそのような受容体によるシグナル、および/または共刺激受容体のみによるシグナルを模倣し、またはそれらとほぼ同じであるものが含まれる。いくつかの態様では、短いオリゴペプチドリンカーまたはポリペプチドリンカー、例えば2～10アミノ酸長のリンカー、例えばグリシンおよびセリン（例えばグリシン-セリンダブレット）を含有するものが存在し、それがCARの膜貫通ドメインと細胞質シグナリングドメインとの間の連結部を形成している。

【０２２６】
受容体、例えばCARは一般に、少なくとも1つの細胞内シグナリング構成成分または細胞内シグナリング構成成分群を含む。いくつかの態様において、受容体は、TCR複合体の細胞内構成成分、例えばT細胞活性化および細胞傷害性を媒介するTCR CD3鎖、例えばCD3ゼータ鎖を含む。したがっていくつかの局面において、CD19結合抗体は1つまたは複数の細胞シグナリングモジュールに連結される。いくつかの態様において、細胞シグナリングモジュールは、CD3膜貫通ドメイン、CD3細胞内シグナリングドメイン、および/または他のCD膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様において、受容体、例えばCARは、1つまたは複数の追加分子、例えばFc受容体γ、CD8、CD4、CD25、またはCD16などの一部分を、さらに含む。例えば、いくつかの局面において、CARは、CD3-ゼータ（CD3-ζ）またはFc受容体γとCD8、CD4、CD25またはCD16とのキメラ分子を含む。

【０２２７】
いくつかの態様では、CARのライゲーション時に、CARの細胞質ドメインまたは細胞内シグナリングドメインが、免疫細胞、例えばCARを発現するように工学的に改変されたT細胞の正常なエフェクター機能または応答の少なくとも1つを活性化する。例えば、いくつかの状況では、CARが、細胞溶解活性またはTヘルパー活性などといったT細胞の機能、例えばサイトカインまたは他の因子の分泌などを誘導する。いくつかの態様では、例えば、もし抗原受容体構成成分または共刺激分子の細胞内シグナリングドメインの切断された一部分が、エフェクター機能シグナルを伝達するのであれば、それがインタクトな免疫刺激鎖の代わりに使用される。いくつかの態様において、1つまたは複数の細胞内シグナリングドメインは、T細胞受容体（TCR）の細胞質配列を含み、いくつかの局面では、自然状況下で前述の受容体と強調して作用することで抗原受容体エンゲージメントに続くシグナル伝達を開始させる補助受容体の細胞質配列、および/またはそのような分子の任意の誘導体または変異体、および/または同じ機能的能力を有する任意の合成配列も含む。

【０２２８】
天然TCRの場合、完全な活性化は一般に、TCRによるシグナリングを必要とするだけでなく、共刺激シグナルも必要とする。したがって、いくつかの態様では、完全な活性化を促

進するために、二次シグナルまたは共刺激シグナルを生成するための構成成分も、CARに含まれる。別の態様において、CARは、共刺激シグナルを生成するための構成成分を含まない。いくつかの局面では、同じ細胞中で別のCARが発現し、それが二次シグナルまたは共刺激シグナルを生成するための構成成分を提供する。

【０２２９】

T細胞活性化は、いくつかの局面において、2種類の細胞質シグナリング配列、すなわちTCRによる抗原依存性一次活性化を開始するもの（一次細胞質シグナリング配列）および抗原非依存的に作用して二次シグナルまたは共刺激シグナルを与えるもの（二次細胞質シグナリング配列）によって媒介されると記述される。いくつかの局面において、CARは、そのようなシグナリング構成成分の一方または両方を含む。

【０２３０】

いくつかの局面において、CARは、TCR複合体の一次活性化を調節する一次細胞質シグナリング配列を含む。刺激性に作用する一次細胞質シグナリング配列は、免疫受容体チロシン活性化モチーフすなわちITAMとして公知のシグナリングモチーフを含有しうる。ITAM含有一次細胞質シグナリング配列の例は、TCRゼータ、FcRガンマ、FcRベータ、CD3ガンマ、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD8、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dに由来するものを含む。いくつかの態様において、CAR中の細胞質シグナリング分子は、CD3ゼータ由来の細胞質シグナリングドメイン、その一部分、または配列を含有する。

【０２３１】

いくつかの態様において、CARは、CD28、4-1BB、OX40、DAP10、またはICOS、またはCD27などの共刺激受容体のシグナリングドメインおよび/または膜貫通部分を含む。いくつかの局面では、同じCARが活性化構成成分と共刺激構成成分との両方を含む。

【０２３２】

いくつかの態様において、活性化ドメイン（例えばCD3ゼータ）は、1つのCAR内に含まれるが、共刺激構成成分（例えばCD28または4-1BB）は、別の抗原を認識する別のCARによって提供される。いくつかの態様において、CARは活性化CAR、すなわち刺激CAR、および共刺激CARを含み、両者は同じ細胞上に発現する（WO2014/055668参照）。いくつかの局面では、CD19ターゲティングCARが刺激CAR、すなわち活性化CARであり、他の局面では、それが共刺激CARである。いくつかの態様において、細胞はさらに、例えばCD19以外の抗原を認識するCARなどの阻害性CAR（iCAR、Fedorov et al., Sci. Transl. Medicine, 5（215）（December, 2013）参照）を含み、阻害性CARがそのリガンドに結合することによって、CD19ターゲティングCARから送達される活性化シグナルが削減または阻害されて、例えばオフターゲット効果を低減する。

【０２３３】

いくつかの態様において、CARなどの組換え受容体の細胞内シグナリング構成成分は、CD3ゼータ細胞内ドメインおよび共刺激シグナリング領域を含む。一定の態様において、細胞内シグナリングドメインは、CD3（例えばCD3-ゼータ）細胞内ドメインに連結されたCD28膜貫通およびシグナリングドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内シグナリングドメインは、CD3ゼータ細胞内ドメインに連結されたキメラCD28および/またはCD137（4-1BB、TNFRSF9）共刺激ドメインを含む。

【０２３４】

いくつかの態様において、CARは、細胞質部分に1つまたは複数の（例えば2つまたは3つの）共刺激ドメインおよび活性化ドメイン、例えば一次活性化ドメインを包含する。例示的CARは、CD3-ゼータ、CD28、および4-1BBの細胞内構成成分を含む。

【０２３５】

いくつかの態様において、CARまたは他の抗原受容体はさらに、受容体、例えば切断型の細胞表面受容体（切断型EGFR（tEGFR）など）を発現させるための細胞の形質導入または工学的改変を確認するために使用しうるマーカー、例えば細胞表面マーカーを含む。いくつかの局面において、マーカーは、CD34、NGFR、または上皮成長因子受容体（例えばtEGFR）もしくはその機能的変異体の全部または一部（例えば切断型）を含む。いくつかの

態様では、マーカーをコードする核酸が、リンカー配列（例えばT2Aなどの切断可能リンカー配列）をコードするポリヌクレオチドに、機能的に連結される。例えばマーカーおよび任意でリンカー配列は、特許出願公開番号WO2014031687に開示されているもののどれであってもよい。例えばマーカーは、任意でT2A切断可能リンカー配列などのリンカー配列に連結された、切断型EGFR（tEGFR）であることができる。切断型EGFR（例えばtEGFR）の例示的ポリペプチドは、SEQ ID NO:138に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:138に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む。例示的T2Aリンカー配列は、SEQ ID NO:137に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:137に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む。

【０２３６】

いくつかの態様において、マーカーは、T細胞上に天然には見いだされない分子またはT細胞の表面上に天然には見いだされない分子、例えば細胞表面タンパク質、またはその一部分である。

【０２３７】

いくつかの態様において、分子は非自己分子、例えば非自己タンパク質、すなわち細胞の養子移入を受ける宿主の免疫系によって「自己」と認識されないものである。

【０２３８】

いくつかの態様において、マーカーは、治療的機能を果たさず、かつ/または遺伝子光学用のマーカーとして、例えばうまく工学的に改変された細胞を選択するために使用されること以外の効果を生じない。別の態様において、マーカーは治療分子であるか、または他の形で何らかの望ましい効果を発揮する分子、例えばインビボで出会う細胞のリガンド、例えば養子移入されてリガンドと出会った時の細胞の応答を強化および/または減弱するための共刺激分子または免疫チェックポイント分子でありうる。

【０２３９】

場合により、CARは、第1、第2、および/または第3世代CARと呼ばれる。いくつかの局面において、第1世代CARは、抗原結合時にCD3鎖誘発性シグナルを与えるだけのものであり、いくつかの局面において、第2世代CARはそのようなシグナルと共シグナル、例えばCD28またはCD137など共刺激受容体からの細胞内シグナリングドメインとを与えるものであり、いくつかの局面において、第3世代CARは、いくつかの局面において、異なる共刺激受容体の複数の共刺激ドメインを含むものである。

【０２４０】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、本明細書に記載する抗体またはフラグメントを含有する細胞外部分を含む。いくつかの局面において、キメラ抗原受容体は、本明細書に記載する抗体またはフラグメントを含有する細胞外部分と細胞内シグナリングドメインとを含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、scFvとITAMを含有する細胞内ドメインとを含む。いくつかの局面において、細胞内シグナリングドメインは、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖のゼータ鎖のシグナリングドメインを含む。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、細胞外ドメインと細胞内シグナリングドメインとを連結する膜貫通ドメインを含む。いくつかの局面において、膜貫通ドメインは、CD28の膜貫通部分を含有する。細胞外ドメインと膜貫通ドメインは直接的または間接的に連結することができる。いくつかの態様において、細胞外ドメインと膜貫通部は、スペーサー（例えば本明細書に記載するスペーサーのいずれか）によって連結される。いくつかの態様において、受容体は、膜貫通ドメインが由来する分子の細胞外部分、例えばCD28細胞外部分を含有する。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、T細胞共刺激分子に由来する細胞内ドメインまたはその機能的変異体を、膜貫通ドメインと細胞内シグナリングドメインとの間に含有する。いくつかの局面において、T細胞共刺激分子はCD28または41BBである。

【０２４１】
例えばいくつかの態様において、CARは、ここに提供する抗体、例えば抗体フラグメント、CD28の膜貫通部分またはその機能的変異体であるかそれを含有する膜貫通ドメイン、ならびにCD28のシグナリング部分またはその機能的変異体およびCD3ゼータのシグナリング部分またはその機能的変異体を含有する細胞内シグナリングドメインを含有する。いくつかの態様において、CARは、ここに提供する抗体、例えば抗体フラグメント、CD28の膜貫通部分またはその機能的変異体であるかそれを含有する膜貫通ドメイン、ならびに4-1BBのシグナリング部分またはその機能的変異体およびCD3ゼータのシグナリング部分またはその機能的変異体を含有する細胞内シグナリングドメインを含有する。いくつかのそのような態様において、受容体は、Ig分子（ヒトIg分子など）の一部分、例えばIgヒンジ（例えばIgG4ヒンジ）を含有するスペーサー、例えばヒンジのみのスペーサーを、さらに含む。

【０２４２】
いくつかの態様において、組換え受容体（例えばCAR）の膜貫通ドメインは、ヒトCD28（例えばアクセッション番号P01747.1）の膜貫通ドメインまたはその変異体、例えばSEQ ID NO:129に示すアミノ酸の配列を含むかSEQ ID NO:129に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む膜貫通ドメインであるか、またはそれを含み、いくつかの態様において、組換え受容体の膜貫通ドメイン含有部分は、SEQ ID NO:130に示すアミノ酸の配列を含むかそれに対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上またはその前後の配列同一性を有するアミノ酸の配列を含む。

【０２４３】
いくつかの態様において、組換え受容体（例えばCAR）の細胞内シグナリング構成成分は、ヒトCD28の細胞内共刺激シグナリングドメインまたはその機能的変異体もしくは一部分、例えばネイティブCD28タンパク質の位置186～187にLL→GG置換を持つドメインを含有する。例えば、細胞内シグナリングドメインは、SEQ ID NO:131もしくは132に示すアミノ酸の配列を含むか、SEQ ID NO:131もしくは132に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％またはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含むことができる。いくつかの態様において、細胞内ドメインは、4-1BB（例えば、アクセッション番号Q07011.1）の細胞内共刺激シグナリングドメインを含むか、その機能的変異体またはその一部分、例えばSEQ ID NO:133に示すアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:133に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む。

【０２４４】
いくつかの態様において、組換え受容体（例えばCAR）の細胞内シグナリングドメインは、ヒトCD3ゼータ刺激シグナリングドメインまたはその機能的変異体、例えばヒトCD3ζのアイソフォーム3（アクセッション番号P20963.2）の112AA細胞質ドメインまたは米国特許第7,446,190号もしくは米国特許第8,911,993号に記載のCD3ゼータシグナリングドメインを含む。例えば、いくつかの態様において、細胞内シグナリングドメインは、アミノ酸の配列134、135、または136またはSEQ ID NO:134、135、もしくは136に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む。

【０２４５】
いくつかの局面において、スペーサーは、IgGのヒンジ領域だけ、例えばIgG4またはIgG1のヒンジだけ、例えばSEQ ID NO:124に示すヒンジのみのスペーサーを含有する。別の態様では、スペーサーは、任意でCH2および/またはCH3ドメインに連結されているIgヒンジ（例えばIgG4由来のヒンジ）であるか、それを含有する。いくつかの態様において、スペーサーは、CH2およびCH3ドメインに連結されたIgヒンジ（例えばIgG4ヒンジ）、例えばSE

Q ID NO:127に示すものである。いくつかの態様において、スペーサーは、CH3ドメインのみに連結されたIgヒンジ（例えばIgG4ヒンジ）、例えばSEQ ID NO:126に示すものである。いくつかの態様において、スペーサーは、グリシン-セリンリッチ配列または他の柔軟なリンカー、例えば公知の柔軟なリンカーであるか、それを含む。

【０２４６】

例えば、いくつかの態様において、CARは、抗CD19抗体フラグメントなどの抗CD19抗体、例えばここに提供するヒト抗CD19抗体のいずれか、例えば本明細書に記載するscFvを含む一本鎖抗体、スペーサー、例えば免疫グロブリン分子の一部分（例えばヒンジ領域および/または重鎖分子の1つもしくは複数の定常領域）を含有するスペーサー、例えばIg-ヒンジ含有スペーサー、CD28由来の膜貫通ドメインの全部または一部を含有する膜貫通ドメイン、CD28由来の細胞内シグナリングドメイン、およびCD3ゼータシグナリングドメインを含む。いくつかの態様において、CARは、抗CD19抗体またはフラグメント、例えば本明細書に記載するscFvを含むヒト抗CD19抗体のいずれか、スペーサー、例えばIgヒンジ含有スペーサーのいずれか、CD28由来の膜貫通ドメイン、4-1BB由来の細胞内シグナリングドメイン、およびCD3ゼータ由来のシグナリングドメインを含む。

【０２４７】

いくつかの態様において、前述のCARコンストラクトはさらに、T2Aリボソームスキップ要素および/またはtEGFR配列、例えばSEQ ID NO:137および/または138にそれぞれ示すもの、またはSEQ ID NO:137もしくは138に対して少なくとも85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を、例えばCARの下流に含む。

【０２４８】

C.工学的に改変された細胞

細胞、細胞集団、および細胞を含有する組成物、例えば工学的に改変された細胞、例えば工学的に改変された抗原受容体（例えば本明細書に記載する抗CD19抗体またはフラグメントを含む細胞外ドメインを含有するもの）を含有するものも提供する。本組成物には、例えば養子細胞療法のための薬学的組成物および投与のための製剤が含まれる。また、対象（例えば患者）に細胞および組成物を投与するための治療方法も提供する。

【０２４９】

したがって、抗体を含有する組換え受容体を発現する遺伝子改変細胞、例えばCARを含有する細胞も提供する。細胞は一般に、哺乳動物細胞などの真核細胞であり、典型的にはヒト細胞である。いくつかの態様において、細胞は血液、骨髄、リンパ、またはリンパ器官に由来し、免疫系の細胞、例えば自然免疫または適応免疫の細胞、例えばリンパ球を含む骨髄系細胞またはリンパ系細胞、典型的にはT細胞および/またはNK細胞である。他の例示的細胞として、幹細胞、例えば誘導多能性幹細胞s（iPSC）を含む複能性幹細胞および多能性幹細胞が挙げられる。細胞は典型的には初代細胞、例えば対象から直接単離されたものおよび/または対象から単離され凍結されたものである。いくつかの態様において、細胞は、T細胞または他の細胞タイプの1つまたは複数のサブセット、例えば全T細胞集団、CD4＋ 細胞、CD8＋ 細胞、およびそれらの亜集団、例えば活性化状態、成熟度、分化能、増殖能、再循環能、局在能、および/または存続能、抗原特異性、抗原受容体のタイプ、特定器官または特定コンパートメントにおける存在、マーカーまたはサイトカイン分泌プロファイル、および/または分化度によって規定されるものを含む。処置しようとする対象に関して、細胞は同種異系および/または自家である。本方法には既製（off-the-shelf）の方法が含まれる。いくつかの局面において、例えば既製技術に関して、細胞は多能性および/または複能性であり、例えば幹細胞、例えば誘導多能性幹細胞（iPSC）である。いくつかの態様において、本方法は、対象から細胞を単離し、調製し、処理し、培養し、かつ/または本明細書に記載するようにそれらを工学的に改変し、それらを凍結保存せずに、または凍結保存後に、患者に再導入する工程を含む。

【０２５０】

T細胞ならびに/またはCD4＋および/もしくはCD8＋ T細胞のサブタイプおよび亜集団に

は、ナイーブT（$T_N$）細胞、エフェクターT細胞（$T_{EFF}$）、メモリーT細胞およびそのサブタイプ、例えば幹細胞メモリーT（$T_{SCM}$）、中枢メモリーT（$T_{CM}$）、エフェクターメモリーT（$T_{EM}$）、または最終分化エフェクターメモリーT細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、未熟T細胞、成熟T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、粘膜関連不変T（MAIT）細胞、天然および適応制御性T（Treg）細胞、ヘルパーT細胞、例えばTH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾胞ヘルパーT細胞、アルファ/ベータT細胞、およびデルタ/ガンマT細胞がある。

【０２５１】

いくつかの態様において、細胞はナチュラルキラー（NK）細胞である。いくつかの態様において、細胞は単球または顆粒球、例えば骨髄性細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、肥満細胞、好酸球、および/または好塩基球である。

【０２５２】

いくつかの態様において、細胞は、遺伝子改変によって導入される1つまたは複数の核酸を含み、その結果、そのような核酸の組換え産物または遺伝子改変産物を発現する。いくつかの態様において、核酸は異種、すなわち細胞中または細胞から得られる試料中に通常は存在しないもの、例えば別の生物または細胞から得られるものであって、例えば工学的に改変される細胞および/またはそのような細胞の由来源である生物には通常見いだされないものである。いくつかの態様において、核酸は天然ではなく、例えば自然界には見いだされない核酸、例えば複数の異なる細胞タイプからのさまざまなドメインをコードする核酸のキメラ組み合わせを含むものである。

【０２５３】

ベクターおよび遺伝子改変の方法

また、抗体を含む受容体などの結合分子を発現させるための、そしてまた、そのような結合分子を発現する遺伝子改変細胞を生産するための方法、核酸、組成物、およびキットも提供する。遺伝子改変では、一般に、組換え構成成分または工学的に改変された構成成分をコードする核酸が、レトロウイルス形質導入、トランスフェクション、または形質転換などによって、細胞に導入される。

【０２５４】

いくつかの態様において、遺伝子導入は、細胞を、例えばサイトカインまたは活性化マーカーの発現によって測定される増殖、生存、および/または活性化などの応答を誘発する刺激と混合することなどによって、まず細胞を刺激してから、活性化された細胞の形質導入、臨床応用に十分な数への拡大培養を行うことによって達成される。

【０２５５】

状況によっては、刺激因子（例えばリンホカインまたはサイトカイン）の過剰発現は対象にとって毒性でありうる。したがって状況によっては、工学的に改変された細胞は、例えば養子免疫療法において投与された時に、細胞がインビボで陰性選択を受けうるようにする遺伝子セグメントを含む。例えば、いくつかの局面において、細胞は、それらが投与された患者のインビボ条件の変化の結果として排除されうるように、工学的に改変される。陰性選択可能表現型は、投与される作用物質、例えば化合物への感受性を付与する遺伝子の挿入に起因しうる。陰性選択可能遺伝子には、ガンシクロビル感受性を付与する単純ヘルペスウイルスI型チミジンキナーゼ（HSV-I TK）遺伝子（Wigler et al., Cell II :223, 1977）;細胞ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HPRT）遺伝子、細胞アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（APRT）遺伝子、細菌シトシンデアミナーゼ（Mullen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:33（1992））などがある。

【０２５６】

いくつかの局面において、細胞はさらに、サイトカインまたは他の因子の発現を促進するように工学的に改変される。遺伝子改変構成成分、例えば抗原受容体、例えばCARを導入するためのさまざまな方法は周知であり、ここに提供する方法および組成物に使用しうる。例示的方法には、ウイルス（例えばレトロウイルスまたはレンチウイルス）形質導入、トランスポゾン、およびエレクトロポレーションによる方法などといった、受容体をコ

ードする核酸を導入するための方法がある。

【０２５７】

いくつかの態様において、組換え核酸は、例えばシミアンウイルス40（SV40）、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（AAV）由来のベクターなどの組換え感染性ウイルス粒子を使って細胞に導入される。いくつかの態様において、組換え核酸は、組換えレンチウイルスベクターまたはレトロウイルスベクター、例えばガンマ-レトロウイルスベクターを使って、T細胞に導入される（例えばKoste et al.（2014）Gene Therapy 2014 Apr 3. doi:10.1038/gt.2014.25; Carlens et al.（2000）Exp Hematol 28（10）:1137-46; Alonso-Camino et al.（2013）Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park et al., Trends Biotechnol. 2011 November 29（11）:550-557を参照されたい）。

【０２５８】

いくつかの態様において、例えばモロニーマウス白血病ウイルス（MoMLV）、骨髄増殖性肉腫ウイルス（MPSV）、マウス胚性幹細胞ウイルス（MESV）、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）、脾フォーカス形成ウイルス（SFFV）、またはアデノ随伴ウイルス（AAV）由来のレトロウイルスベクターなど、レトロウイルスベクターは、長末端反復配列（LTR）を有する。大半のレトロウイルスベクターはマウスレトロウイルスに由来する。いくつかの態様において、レトロウイルスには、任意の鳥類細胞または哺乳動物細胞供給源に由来するものが包含される。レトロウイルスは典型的にはアンホトロピックである。つまり、それらは、ヒトを含む複数種の宿主細胞に感染する能力を有する。一態様では、発現させようとする遺伝子でレトロウイルスgag、polおよび/またはenv配列を置き換える。実例となるレトロウイルス系がいくつか記述されている（例えば米国特許第5,219,740号;同第6,207,453号;同第5,219,740号;Miller and Rosman（1989）BioTechniques 7:980-990; Miller, A.D.（1990）Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa et al.（1991）Virology 180:849-852; Burns et al.（1993）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037;およびBoris-Lawrie and Temin（1993）Cur. Opin. Genet. Develop. 3: 102-109）。

【０２５９】

レンチウイルス形質導入の方法は公知である。例示的方法は、例えばWang et al.（2012）J. Immunother. 35（9）:689-701; Cooper et al.（2003）Blood. 101: 1637-1644; Verhoeyen et al.（2009）Methods Mol Biol. 506:97-114;およびCavalieri et al.（2003）Blood. 102（2）:497-505に記載されている。

【０２６０】

いくつかの態様において、組換え核酸は、エレクトロポレーションによってT細胞に導入される（例えばChicaybam et al,（2013）PLoS ONE 8（3）:e60298およびVan Tedeloo et al.（2000）Gene Therapy 7（16）:1431-1437）。いくつかの態様において、組換え核酸は、転移（transposition）によってT細胞に導入される（例えばManuri et al.（2010）Hum Gene Ther 21（4）: 427-437; Sharma et al.（2013）Molec Ther Nucl Acids 2, e74; and Huang et al.（2009）Methods Mol Biol 506: 115-126を参照されたい）。免疫細胞における遺伝物質の導入および発現の方法には、他にも、リン酸カルシウムトランスフェクション（例えばCurrent Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, N.Y.に記載されているもの）、プロトプラスト融合、カチオン性リポソームによるトランスフェクション、タングステン粒子によるマイクロパーティクルボンバードメント（Johnston, Nature, 346: 776-777（1990））、およびリン酸ストロンチウムDNA共沈殿（Brash et al., Mol. Cell Biol., 7:2031-2034（1987））などがある。

【０２６１】

組換え産物をコードする核酸を導入するための他のアプローチおよびベクターは、例えば国際特許出願公開番号WO2014055668および米国特許第7,446,190号に記載されているものである。

【０２６２】

追加の核酸、例えば導入用遺伝子には、治療の効力を、例えば移植された細胞の生存性および/または機能を促進することなどによって改良するもの、細胞の選択用および/また

は評価用の遺伝子マーカーを提供するための（例えばインビボでの生存または局在化を評価するための）遺伝子、例えばLupton S.D. et al., Mol. and Cell Biol., 11:6（1991）およびRiddell et al., Human Gene Therapy 3:319-338（1992）に記載されているように細胞をインビボでの陰性選択を受けうるようにすることなどによって、安全性を改良するための遺伝子が含まれる。また、優性陽性選択可能マーカーを陰性選択可能マーカーと融合することによって得られる二官能性選択可能融合遺伝子の使用を記載しているLuptonらによるPCT/US91/08442およびPCT/US94/05601の公開公報も参照されたい。例えばRiddellらの米国特許第6,040,177号の第14～17欄を参照されたい。

【０２６３】

工学的改変用の細胞の調製

いくつかの態様において、工学的に改変された細胞の調製は、1つまたは複数の培養および/または調製工程を含む。CD19結合分子、例えばCARを導入するための細胞は、生物学的試料などの試料、例えば対象から得られるものまたは対象に由来するものから単離しうる。いくつかの態様において、細胞の単離源となる対象は、疾患または状態を有する者、または細胞療法の必要がある者、または細胞療法が施行される予定である者である。対象は、いくつかの態様において、特定の治療的介入を必要とするヒト、例えばその治療のために細胞が単離され、処理され、かつ/または工学的に改変されている養子細胞療法を必要とするヒトである。

【０２６４】

したがって細胞は、いくつかの態様において、初代細胞、例えば初代ヒト細胞である。試料としては、対象から直接採取された組織、体液、および他の試料、ならびに例えば分離、遠心分離、遺伝子改変（例えばウイルスベクターによる形質導入）、洗浄、および/またはインキュベーションなどといった1つまたは複数の処理工程の結果として得られる試料が挙げられる。生物学的試料は、生物学的供給源から直接的に得られる試料であるか、処理された試料であることができる。生物学的試料としては、血液、血漿、血清、脳脊髄液、滑液、尿および汗などの体液試料、組織試料および器官試料（それらに由来する処理済み試料を含む）が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。

【０２６５】

いくつかの局面において、細胞の由来源または単離源となる試料は、血液または血液由来の試料であるか、アフェレーシスまたは白血球アフェレーシス産物であるか、またはそれに由来する。例示的試料として、全血、末梢血単核球（PBMC）、白血球、骨髄、胸腺、組織生検、腫瘍、白血病、リンパ腫、リンパ節、腸管関連リンパ組織、粘膜関連リンパ組織、脾臓、他のリンパ組織、肝臓、肺、胃、腸、大腸、腎臓、膵臓、乳房、骨、前立腺、子宮頸、精巣、卵巣、扁桃、もしくは他の器官、および/またはそれらに由来する細胞が挙げられる。細胞療法、例えば養子細胞療法との関連において、試料には、自家供給源および同種異系供給源からの試料が包含される。

【０２６６】

いくつかの態様において、細胞は、細胞株、例えばT細胞株に由来する。細胞は、いくつかの態様において、異種供給源、例えばマウス、ラット、非ヒト霊長類、およびブタから得られる。

【０２６７】

いくつかの態様において、細胞の単離は、1つまたは複数の調製工程および/または非アフィニティー系細胞分離工程を含む。いくつかの例では、例えば不要な構成成分を除去し、所望の構成成分を濃縮し、特定の試薬に対して感受性である細胞を溶解または除去するために、1つまたは複数の試薬の存在下で、細胞を洗浄し、遠心分離し、かつ/またはインキュベートする。いくつかの例では、細胞が、1つまたは複数の性質、例えば密度、付着性、サイズ、特定の構成成分に対する感受性および/または耐性に基づいて単離される。

【０２６８】

いくつかの例では、対象の循環血からの細胞が、例えばアフェレーシスまたは白血球アフェレーシスによって得られる。試料は、いくつかの局面において、リンパ球、例えばT

細胞、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球、赤血球および/または血小板を含有し、いくつかの局面において、赤血球および血小板以外の細胞を含有する。

【０２６９】

いくつかの態様では、例えば血漿画分を除去したり、後続の処理工程に適した緩衝液または培地に細胞を入れたりするために、対象から収集した血球を洗浄する。いくつかの態様では、細胞をリン酸緩衝食塩水（PBS）で洗浄する。いくつかの態様では、洗浄溶液がカルシウムおよび/またはマグネシウムおよび/または多くのもしくはすべての二価カチオンを欠く。いくつかの局面では、洗浄工程が半自動「フロースルー」遠心分離機（例えばCobe2991細胞処理装置、Baxter）により、製造者の指示に従って達成される。いくつかの局面では、洗浄工程がタンジェンシャルフロー濾過（TFF）により、製造者の指示に従って達成される。いくつかの態様では、洗浄後に、例えば$Ca^{++}/Mg^{++}$非含有PBSなどのさまざまな生物適合性緩衝液に、細胞を再懸濁する。一定の態様では、血球試料の構成成分を取り出し、細胞を培養培地に直接再懸濁する。

【０２７０】

いくつかの態様において、本方法は、密度に基づく細胞分離方法、例えば赤血球の溶解およびPercollまたはFicoll勾配での遠心分離による末梢血からの白血球の調製を含む。

【０２７１】

いくつかの態様において、単離方法は、細胞における1つまたは複数の特異的分子、例えば表面マーカー、例えば表面タンパク質、細胞内マーカー、または核酸の発現または存在に基づく、異なる細胞タイプの分離を含む。いくつかの態様では、そのようなマーカーに基づいて分離するための任意の公知方法を使用しうる。いくつかの態様では、分離がアフィニティーまたはイムノアフィニティーに基づく分離である。例えば単離は、いくつかの局面において、例えば細胞をそのようなマーカーに特異的に結合する抗体または結合パートナーと共にインキュベートし、続いて一般に洗浄工程を行い、抗体または結合パートナーに結合した細胞を抗体または結合パートナーに結合しなかった細胞から分離することなどによる、1つまたは複数のマーカー（典型的には細胞表面マーカー）の細胞発現または発現レベルに基づく細胞および細胞集団の分離を含む。

【０２７２】

そのような分離工程は、試薬に結合した細胞をその後の使用のためにとっておく陽性選択および/または抗体もしくは結合パートナーに結合しなかった細胞をとっておく陰性選択に基づくことができる。いくつかの例では、両方のフラクションをその後の使用のためにとっておく。いくつかの局面において、不均一な集団中の一細胞タイプを特異的に同定する抗体を利用できず、所望の集団以外の細胞が発現するマーカーに基づいて分離を実行することが最善である場合に、陰性選択は特に役立ちうる。

【０２７３】

分離が、特定マーカーを発現する特定の細胞集団または細胞の100％の濃縮または除去をもたらす必要はない。例えば、ある特定タイプの細胞（例えばあるマーカーを発現するもの）の陽性選択または濃縮とは、そのような細胞の数またはパーセンテージを増加させることを指し、当該マーカーを発現しない細胞が全く存在しない状態をもたらす必要はない。同様に、特定タイプの細胞（例えばあるマーカーを発現するもの）の陰性選択、除去、または枯渇とは、そのような細胞の数またはパーセンテージを減少させることを指し、すべてのそのような細胞の完全な除去をもたらす必要はない。

【０２７４】

いくつかの例では、分離工程を複数回実行し、1つの工程で陽性選択または陰性選択されたフラクションを別の分離工程（例えば後続の陽性選択または陰性選択）に供する。いくつかの例では、例えば陰性選択のための標的となるマーカーにそれぞれ特異的な複数の抗体または結合パートナーと共に細胞をインキュベートすることなどにより、単一の分離工程で、複数のマーカーを発現する細胞を同時に枯渇させることができる。同様に、さまざまな細胞タイプ上での発現物と複数の抗体または結合パートナーを共に細胞をインキュベートすることにより、複数の細胞タイプを同時に陽性選択することもできる。

【０２７５】
例えば、いくつかの局面では、T細胞の特定亜集団、例えば1つまたは複数の表面マーカーが陽性であるか高レベルに発現する細胞、例えばCD28$^+$、CD62L$^+$、CCR7$^+$、CD27$^+$、CD127$^+$、CD4$^+$、CD8$^+$、CD45RA$^+$、および/またはCD45RO$^+$ T細胞が、陽性選択技法または陰性選択技法によって単離される。
【０２７６】
例えば、CD3$^+$、CD28$^+$ T細胞は、CD3/CD28コンジュゲート磁気ビーズ（例えばDYNABEADS（登録商標）M-450 CD3/CD28 T Cell Expander）を使って、陽性選択することができる。
【０２７７】
いくつかの態様では、陽性選択で特定細胞集団を濃縮することによって、または陰性選択で特定細胞集団を枯渇させることによって、単離が実行される。いくつかの態様において、陽性選択または陰性選択は、それぞれ陽性選択または陰性選択される細胞上に発現しているか（マーカー$^+$）、比較的高レベルに発現している（マーカー$^{high}$）、1つまたは複数の表面マーカーに特異的に結合する1つまたは複数の抗体または他の結合作用物質と共に、細胞をインキュベートすることによって達成される。
【０２７８】
いくつかの態様において、T細胞は、B細胞、単球、または他の白血球などの非T細胞上に発現するマーカー（例えばCD14）の陰性選択によって、PBMC試料から分離される。いくつかの局面では、CD4$^+$ヘルパーT細胞とCD8$^+$細胞傷害性T細胞とを分離するために、CD4$^+$またはCD8$^+$選択工程が使用される。そのようなCD4$^+$集団およびCD8$^+$集団はさらに、1つまたは複数のナイーブT細胞亜集団、メモリーT細胞亜集団、および/またはエフェクターT細胞亜集団上に発現しているマーカーまたは比較的高度に発現しているマーカーに関する陽性選択または陰性選択によって亜集団に選別することができる。
【０２７９】
いくつかの態様では、CD8$^+$細胞を、ナイーブ細胞、中枢メモリー細胞、エフェクターメモリー細胞、および/または中枢メモリー幹細胞について、例えば各亜集団に関連する表面抗原に基づく陽性選択または陰性選択などによって、さらに濃縮するか、または枯渇させる。いくつかの態様では、効力を増加させるために、例えば投与後の長期生存、増殖および/または定着を改良するために、中枢メモリーT（$T_{CM}$）細胞の濃縮が実行される（いくつかの局面において、前記の性質はそのような亜集団では特にロバストである）。Terakuraら（2012）Blood.1:72-82; Wang et al.（2012）J Immunother. 35（9）:689-701参照。いくつかの態様では、$T_{CM}$濃縮CD8$^+$ T細胞およびCD4$^+$ T細胞を組み合わせることによって、効力がさらに強化される。
【０２８０】
諸態様において、メモリーT細胞は、CD8$^+$末梢血リンパ球のCD62L$^+$サブセットとCD62L$^-$サブセットの両方に存在する。抗CD8抗体および抗CD62L抗体を使用するなどして、PBMCを、CD62L$^-$CD8$^+$フラクションおよび/またはCD62L$^+$CD8$^+$フラクションについて、濃縮し、または枯渇させることができる。
【０２８１】
中枢メモリーT（$T_{CM}$）細胞の濃縮は、いくつかの態様では、CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3、および/またはCD127の陽性発現または高表面発現に基づき、いくつかの局面では、CD45RAおよび/またはグランザイムBを発現または高度に発現する細胞の陰性選択に基づく。いくつかの局面において、$T_{CM}$細胞が濃縮されたCD8$^+$集団の単離は、CD4、CD14、CD45RAを発現する細胞の枯渇およびCD62Lを発現する細胞の陽性選択または濃縮によって実行される。一局面において、中枢メモリーT（$T_{CM}$）細胞の濃縮は、CD4発現に基づいて選択される細胞の陰性フラクションから出発して実行され、それが、CD14およびCD45RAの発現に基づく陰性選択およびCD62Lに基づく陽性選択に付される。そのような選択は、いくつかの局面では同時に実行され、別の局面では逐次的に、いずれかの順序で実行される。いくつかの局面では、CD8$^+$細胞集団または亜集団の調製に使用したものと同じCD4発現に基

づく選択工程を、$CD4^+$細胞集団または亜集団を作製するためにも使用することで、CD4に基づく分離からの陽性フラクションおよび陰性フラクションの両方をとっておき、任意で1つまたは複数のさらなる陽性選択工程または陰性選択工程後に、本方法の後続の工程において使用する。

【０２８２】

特定の一例では、PBMCの試料または他の白血球試料を$CD4^+$細胞の選択に付し、陰性フラクションと陽性フラクションの両方をとっておく。次に、陰性フラクションを、CD14およびCD45RAまたはCD19の発現に基づく陰性選択およびCD62LまたはCCR7などの中枢メモリーT細胞に特有のマーカーに基づく陽性選択に供する。この場合、前記陽性選択と陰性選択はいずれかの順序で行われる。

【０２８３】

細胞表面抗原を有する細胞集団を同定することによって、$CD4^+$ Tヘルパー細胞を、ナイーブ細胞、中枢メモリー細胞、およびエフェクター細胞に選別する。$CD4^+$リンパ球は標準的方法によって得ることができる。いくつかの態様において、ナイーブ$CD4^+$ Tリンパ球は、$CD45RO^-$、$CD45RA^+$、$CD62L^+$、$CD4^+$ T細胞である。いくつかの態様において、中枢メモリー$CD4^+$細胞は$CD62L^+$かつ$CD45RO^+$である。いくつかの態様において、エフェクター$CD4^+$細胞は$CD62L^-$かつ$CD45RO^-$である。

【０２８４】

一例では、$CD4^+$細胞を陰性選択によって濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルが、典型的には、CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、およびCD8に対する抗体を含む。いくつかの態様では、陽性選択および/または陰性選択のための細胞の分離に備えて、抗体または結合パートナーを磁気ビーズまたは常磁性ビーズなどの固形支持体またはマトリックスに結合させる。例えば、いくつかの態様では、免疫磁気（またはアフィニティー磁気）分離技法を使って、細胞および細胞集団が分離または単離される（Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S.A. Brooks and U. Schumacher（c）Humana Press Inc., Totowa, NJに概説されている）。

【０２８５】

いくつかの局面では、分離しようとする細胞の試料または組成物を、小さな磁化可能材料または磁気応答材料、常磁性ビーズなどの磁気応答粒子または微粒子（例えばDynalビーズまたはMACSビーズなど）と共にインキュベートする。磁気応答材料、例えば粒子は、一般に、分離することが望まれる（例えば陰性選択または陽性選択することが望まれる）1つまたは複数の細胞または細胞の集団上に存在する分子（例えば表面マーカー）に特異的に結合する結合パートナー（例えば抗体）に、直接的または間接的に取り付けられる。

【０２８６】

いくつかの態様において、磁気粒子または磁気ビーズは、抗体または他の結合パートナーなどの特異的結合構成要素に結合した磁気応答材料を含む。磁気分離法において使用される周知の磁気応答材料は数多くある。適切な磁気粒子には、Moldayの米国特許第4,452,773号および欧州特許明細書EP452342Bに記載されているものがあり、これらの文献は参照により本明細書に組み入れられる。他の例には、コロイドサイズの粒子、例えばOwenの米国特許第4,795,698号およびLibertiらの米国特許第5,200,084号に記載されているものがある。

【０２８７】

インキュベーションは一般に、抗体もしくは結合パートナー、またはそのような抗体もしくは結合パートナーに特異的に結合する分子、例えば二次抗体または他の試薬であって、磁気粒子または磁気ビーズに取り付けられているものが、細胞表面分子に（それがもし試料内の細胞上に存在するのであれば）特異的に結合するような条件下で実行される。

【０２８８】

いくつかの局面において、試料を磁場に入れると、磁気応答粒子または磁化可能粒子が取り付けられている細胞は磁石に引きつけられ、非標識細胞から分離されるであろう。陽

性選択の場合は、磁石に引きつけられた細胞をとっておき、陰性選択の場合は、磁石に引きつけられなかった細胞（非標識細胞）をとっておく。いくつかの局面では、同じ選択工程中に陽性選択と陰性選択との組み合わせを実施して、陽性フラクションと陰性フラクションとをとっておいて、さらに処理するか、さらなる分離工程に供する。

【０２８９】

一定の態様において、磁気応答粒子は、一次抗体もしくは他の結合パートナー、二次抗体、レクチン、酵素、またはストレプトアビジンで被覆される。一定の態様において、磁気粒子は、1つまたは複数のマーカーに特異的な一次抗体のコーティングを介して細胞に取り付けられる。一定の態様では、ビーズではなく細胞を一次抗体または結合パートナーで標識してから、細胞タイプ特異的二次抗体被覆磁気ビーズまたは他の結合パートナー（例えばストレプトアビジン）被覆磁気ビーズを加える。一定の態様では、ストレプトアビジン被覆磁気ビーズをビオチン化一次または二次抗体と共に使用する。

【０２９０】

いくつかの態様では、磁気応答粒子を細胞に取り付けたままにしておき、その細胞を引き続いてインキュベートし、培養し、かつ/または工学的に改変する。また、いくつかの局面では、患者に投与するために粒子を細胞に取り付けたままにしておく。いくつかの態様では、磁化可能粒子または磁気応答粒子を細胞から取り除く。磁化可能粒子を細胞から取り除くための方法は公知であり、例えば競合非標識抗体の使用、切断可能なリンカーにコンジュゲートされた磁化可能粒子または抗体などがある。いくつかの態様において、磁化可能粒子は生分解性である。

【０２９１】

いくつかの態様において、アフィニティーに基づく選択は、磁気活性化細胞選別法（magnetic-activated cell sorting: MACS）（Miltenyi Biotech、カリフォルニア州オーバン）による。磁気活性化細胞選別（MACS）システムでは、磁気粒子が取り付けられている細胞の高純度選択が可能である。一定の態様において、MACSは、外部磁場の適用後に非ターゲット種とターゲット種とが逐次的に溶出するモードで作動する。すなわち、磁化粒子に取り付けられた細胞はその場に保持され、一方、取り付けられていない種は溶出する。次に、この第1溶出工程が完了した後に、磁場に捕らわれて溶出が妨げられていた種が、溶出して回収されうるような何らかの方法で解放される。一定の態様では、非ターゲット細胞を標識して、不均一な細胞集団から枯渇させる。

【０２９２】

一定の態様では、単離または分離が、本方法の単離、細胞調製、分離、処理、インキュベーション、培養、および/または製剤工程のうちの1つまたは複数を実行するシステム、デバイス、または装置を使って実行される。いくつかの局面では、例えばエラー、ユーザー操作および/または汚染を最小限に抑えるために、システムを使って、閉鎖環境または無菌環境においてこれらの工程のそれぞれを実行する。一例において、システムは、国際特許出願公開番号WO2009/072003またはUS20110003380A1に記載のシステムである。

【０２９３】

いくつかの態様では、システムまたは装置が、単離、処理、工学的改変、および製剤化工程のうちの1つまたは複数、例えば全てを、統合型システムまたは自己完結型システムにおいて、かつ/または自動化されたもしくはプログラム可能な形で実行する。いくつかの局面において、システムまたは装置は、システムまたは装置と通信するコンピュータおよび/またはコンピュータプログラムであって、ユーザーが処理工程、単離工程、工学的改変工程、および製剤化工程のさまざまな局面をプログラムし、制御し、その成果を評価し、かつ/または調節することを可能にするものを含む。

【０２９４】

いくつかの局面において、分離工程および/または他の工程は、例えば閉鎖された無菌系における臨床スケールレベルでの細胞の自動分離のために、CliniMACSシステム（Miltenyi Biotic）を使って実行される。構成部品には、組み込みマイクロコンピュータ、磁気分離ユニット、蠕動ポンプ、およびさまざまなピンチ弁が含まれうる。組み込みコンピュ

ータは、いくつかの局面において、計器のすべての構成部品を制御し、標準化されたシーケンスで反復手順を行うようにシステムに指示する。磁気分離ユニットは、いくつかの局面において、可動永久磁石および選択カラム用の保持具を含む。蠕動ポンプは管系セット全体の流速を制御し、ピンチ弁と共に、システムを通る緩衝液の制御された流れと細胞の絶え間ない懸濁とを保証する。

【０２９５】

CliniMACSシステムは、いくつかの局面において、無菌非発熱性溶液に入れて供給される抗体カップリング磁化可能粒子を使用する。いくつかの態様では、磁気粒子による細胞の標識化後に、細胞を洗浄して過剰の粒子を除去する。次に、細胞調製バッグを管系セットに接続し、そしてその管系セットを緩衝液を含有するバッグおよび細胞収集バッグに接続する。管系セットは組み立て済みの無菌管系（プレカラムおよび分離カラムを含む）からなり、1回限りの使い捨て用である。分離プログラムの開始後に、システムは自動で細胞試料を分離カラムに適用する。標識細胞はカラム内に保持され、一方、非標識細胞は一連の洗浄工程によって除去される。いくつかの態様では、本明細書に記載する方法で使用するための細胞集団が標識されておらず、カラム中に保持されない。いくつかの態様では、本明細書に記載する方法で使用するための細胞集団が標識されており、カラム中に保持される。いくつかの態様では、磁場の除去後に、本明細書に記載する方法で使用するための細胞集団をカラムから溶出させて、細胞収集バッグ内に収集する。

【０２９６】

一定の態様では、CliniMACS Prodigyシステム（Miltenyi Biotec）を使って、分離および/または他の工程が実行される。CliniMACS Prodigyシステムは、いくつかの局面において、遠心分離による細胞の自動洗浄および分画を可能にする細胞処理ユニット（cell processing unity）を装備している。CliniMACS Prodigyシステムは、ソース細胞産物（source cell product）の肉眼的層を識別することによって最適な細胞分画終点を決定する内蔵カメラおよび画像認識ソフトウェアも含むことができる。例えば末梢血は、赤血球、白血球および血漿層へと自動的に分離される。CliniMACS Prodigyシステムは、例えば細胞の分化および増殖、抗原負荷、および長期細胞培養などの細胞培養プロトコールを遂行する組み込み細胞培養チャンバーも含むことができる。投入口は、培地の無菌的取り出しおよび補充を可能にすることができ、組み込み顕微鏡を使って細胞を監視することができる。例えばKlebanoff et al.（2012）J Immunother. 35（9）:651-660、Terakura et al.（2012）Blood.1:72-82、およびWang et al.（2012）J Immunother. 35（9）:689-701を参照されたい。

【０２９７】

いくつかの態様では、複数種の細胞表面マーカーについて染色された細胞が流体流にのせて運ばれるフローサイトメトリーによって本明細書に記載する細胞集団が収集され、濃縮（または枯渇）される。いくつかの態様では、調製用（FACS）選別法によって、本明細書に記載する細胞集団が収集され、濃縮（または枯渇）される。一定の態様では、微小電気機械システム（MEMS）チップをFACSベースの検出システムと併用することによって、本明細書に記載する細胞集団が収集され、濃縮（または枯渇）される（例えばWO 2010/033140、Cho et al.（2010）Lab Chip 10, 1567-1573、およびGodin et al.（2008）J Biophoton. 1（5）:355-376を参照されたい）。どちらの場合も、細胞を複数種のマーカーで標識して、高純度の明確なT細胞サブセットの単離を可能にすることができる。

【０２９８】

いくつかの態様では、陽性選択および/または陰性選択のための分離が容易になるように、抗体または結合パートナーが、1つまたは複数の検出可能マーカーで標識される。例えば分離は蛍光標識抗体への結合に基づきうる。いくつかの例では、1つまたは複数の細胞表面マーカーに特異的な抗体または他の結合パートナーの結合に基づく細胞の分離が、流体流中で、例えば蛍光活性化細胞選別法（FACS）（例えばフローサイトメトリー検出システムと組み合わせされた分取用（FACS）および/または微小電気機械システム（MEMS）チップを含む）によって行われる。そのような方法により、複数種のマーカーに基づく陽

性選択および陰性選択が同時に可能になる。

【０２９９】

いくつかの態様において、調製方法は、単離、インキュベーション、および/または工学的改変の前または後に、細胞を凍結するための方法、例えば冷凍保存するための方法を含む。いくつかの態様では、凍結とそれに続く融解の工程によって、細胞集団中の顆粒球が除去され、ある程度は単球も除去される。いくつかの態様では、例えば血漿および血小板を除去するための洗浄工程後に、細胞が凍結溶液に懸濁される。さまざまな公知の凍結溶液およびパラメータはどれでも、いくつかの局面において使用しうる。一例では、20%DMSOおよび8%ヒト血清アルブミン（HSA）を含有するPBSまたは他の適切な細胞凍結培地が使用される。次に、DMSOおよびHSAの最終濃度がそれぞれ10%および4%になるように、これを培地で1:1希釈する。次に細胞を、毎分1°の速度で-80℃まで凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相中で保存する。

【０３００】

いくつかの態様において、ここに提供する方法は、培養（cultivation）、インキュベーション、培養（culture）、および/または遺伝子改変工程を含む。例えば、いくつかの態様では、枯渇処理した細胞集団および培養開始組成物をインキュベートしかつ/または工学的に改変する方法が提供される。

【０３０１】

したがって、いくつかの態様では、細胞集団を培養開始組成物中でインキュベートする。インキュベーションおよび/または工学的改変は、ユニット、チャンバー、ウェル、カラム、チューブ、管系セット、バルブ、バイアル、培養ディッシュ、バッグ、または他の培養物用もしくは細胞培養用容器などの培養槽中で実行しうる。

【０３０２】

いくつかの態様では、遺伝子改変の前に、または遺伝子改変との関連において、細胞をインキュベートし、かつ/または培養する。インキュベーション工程は、培養（culture）、培養（cultivation）、刺激、活性化、および/または増殖を含むことができる。いくつかの態様では、組成物または細胞を、刺激条件または刺激作用物質の存在下でインキュベートする。そのような条件には、集団中の細胞の増殖（proliferation）、増殖（expansion）、活性化、および/または生存を誘発し、抗原ばく露を模倣し、かつ/または遺伝子改変のために（例えば組換え抗原受容体を導入するために）細胞をプライミングするように意図されたものが含まれる。

【０３０３】

条件は、特定の培地、温度、酸素含量、二酸化炭素含量、時間、作用物質、例えば栄養素、アミノ酸、抗生物質、イオン、および/または刺激因子、例えばサイトカイン、ケモカイン、抗原、結合パートナー、融合タンパク質、組換え可溶性受容体、および細胞を活性化することを意図した他の任意の作用物質の1つまたは複数を含むことができる。

【０３０４】

いくつかの態様において、刺激条件または刺激作用物質は、TCR複合体の細胞内シグナリングドメインを活性化する能力を有する1つまたは複数の作用物質、例えばリガンドを含む。いくつかの局面では、作用物質が、T細胞におけるTCR/CD3細胞内シグナリングカスケードを作動させる、すなわち開始させる。そのような作用物質は、抗体、例えばTCR構成成分および/または共刺激受容体に特異的なもの、例えば抗CD3、抗CD28（例えばビーズなどの固形支持体に結合したもの）、および/または1つまたは複数のサイトカインを含みうる。任意で、増殖方法は、抗CD3および/または抗CD28抗体を培養培地に（例えば少なくとも約0.5ng/mlの濃度で）加える工程をさらに含みうる。いくつかの態様において、刺激作用物質は、IL-2および/またはIL-15、例えば少なくとも約10単位/mLの濃度のIL-2を含む。

【０３０５】

いくつかの局面では、インキュベーションが、Riddellらの米国特許第6,040,177号、Klebanoff et al.（2012）J Immunother. 35（9）:651-660、Terakuraら（2012）Blood.1:7

2-82、および/またはWang et al.（2012）J Immunother. 35（9）:689-701に記載されている技法などの技法に従って実行される。

【０３０６】

いくつかの態様では、培養開始組成物に非分裂末梢血単核球（PBMC）などのフィーダー細胞を（例えば結果として生じる細胞の集団が、増殖される開始集団中の各Tリンパ球につき少なくとも約5、10、20、もしくは40またはそれ以上のPBMCフィーダー細胞を含有するように）加え、その培養物を（例えばT細胞の数を増加させるのに十分な時間にわたって）インキュベートすることによって、T細胞を増殖させる。いくつかの局面において、非分裂フィーダー細胞は、ガンマ照射PBMCフィーダー細胞を含むことができる。いくつかの態様では、細胞分裂を防止するために、約3000～3600ラドの範囲のガンマ線をPBMCに照射する。いくつかの局面では、T細胞の集団を加える前に、フィーダー細胞を培養培地に加える。

【０３０７】

いくつかの態様において、刺激条件には、ヒトTリンパ球の成長に適した温度、例えば少なくとも摂氏約25度、一般的には少なくとも約30度、一般的には摂氏37度またはその前後が含まれる。任意で、インキュベーションは、非分裂EBV形質転換リンパ芽球様細胞（LCL）をフィーダー細胞として加えることをさらに含みうる。LCLは、約6000～10,000ラドの範囲のガンマ線で照射することができる。LCLフィーダー細胞は、いくつかの局面において、少なくとも約10:1のLCLフィーダー細胞対初期Tリンパ球の比など、任意の適切な量で与えることができる。

【０３０８】

諸態様では、ナイーブTリンパ球または抗原特異的Tリンパ球を抗原で刺激することによって、抗原特異的CD4＋および/またはCD8＋ T細胞などの抗原特異的T細胞を得る。例えば、サイトメガロウイルス抗原に対しては、感染対象からT細胞を単離し、インビトロでその細胞を同じ抗原で刺激することによって、抗原特異的T細胞株または抗原特異的T細胞クローンを作製することができる。

【０３０９】

II.組成物、方法および使用

また、CD19結合分子および工学的に改変された細胞を含む組成物（薬学的組成物および薬学的製剤を含む）、CD19が発現する疾患、状態、および障害の処置などにおける、前記分子および前記組成物の使用方法、ならびに前記分子および前記組成物の使用、ならびに/または検出、診断、および予後方法も提供する。

【０３１０】

A.薬学的組成物および薬学的製剤

CD19結合分子、例えば抗体もしくはキメラ受容体、および/または前記分子を発現する工学的に改変された細胞を含む薬学的製剤が提供される。薬学的組成物および製剤は一般に、1つまたは複数の随意の薬学的に許容される担体または賦形剤を含む。いくつかの態様において、組成物は、少なくとも1つの追加治療作用物質を含む。

【０３１１】

「薬学的製剤」という用語は、そこに含有される活性成分の生物学的活性が有効であることを許すような形態にあって、その製剤が投与されるであろう対象にとって許容できないほどに毒性な追加の構成成分を含有しない調製物を指す。

【０３１２】

「薬学的に許容される担体」とは、対象にとって非毒性である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤、または保存剤が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【０３１３】

いくつかの局面において、担体の選択は、一つには、その特定の細胞、結合分子、および/または抗体によって、かつ/または投与の方法によって決まる。したがって適切な製剤はさまざまである。例えば、薬学的組成物は保存剤を含むことができる。適切な保存剤と

しては、例えばメチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、および塩化ベンザルコニウムを挙げることができる。いくつかの局面では、2つ以上の保存剤の混合物が使用される。保存剤またはその混合物は、典型的には、組成物全体の約0.0001～約2重量％の量で存在する。担体は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.（1980）によって記載されている。薬学的に許容される担体は使用する投薬量および濃度において一般に受容者にとって非毒性であり、これには例えば、リン酸、クエン酸および他の有機酸などの緩衝剤;酸化防止剤、例えばアスコルビン酸およびメチオニン;保存剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド;塩化ヘキサメトニウム;塩化ベンザルコニウム;塩化ベンゼトニウム;フェノール、ブチルアルコール、またはベンジルアルコール;メチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン;カテコール;レゾルシノール;シクロヘキサノール;3-ペンタノール;およびm-クレゾール）;低分子量（約10残基未満）のポリペプチド;血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質;ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー;グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸;単糖、二糖、および他の糖質、例えばグルコース、マンノース、またはデキストリン;EDTAなどのキレート剤;スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖類;ナトリウムなどの塩形成対イオン;金属錯体（例えばZn-タンパク質複合体）;および/またはポリエチレングリコール（PEG）などのノニオン界面活性剤があるが、それらに限定されるわけではない。

【０３１４】

いくつかの局面では、緩衝作用物質が組成物に含まれる。適切な緩衝作用物質には、例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、リン酸、リン酸カリウム、および他のさまざまな酸および塩がある。いくつかの局面では、2種以上の緩衝作用物質の混合物を使用する。緩衝作用物質またはその混合物は、典型的には組成物全体の約0.001～約4重量％の量で存在する。投与可能な薬学的組成物を調製するための方法は公知である。例示的方法は、例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed.（May 1, 2005）に詳述されている。

【０３１５】

抗体の製剤として、凍結乾燥製剤および水溶液を挙げることができる。

【０３１６】

製剤または組成物は、当該結合分子または細胞で処置されるその特定適応症、疾患、または状態に有用な2種以上の他の活性成分、好ましくは当該結合分子または細胞に対して相補的な活性を持ち、それぞれの活性が互いに有害な影響を及ぼさないものも含有しうる。そのような活性成分は意図した目的に有効な量で組み合わせされて適切に存在する。したがって、いくつかの態様において、薬学的組成物は、他の薬学的に活性な作用物質または薬物、例えば化学療法剤、例えばアスパラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、メトトレキサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンブラスチン、ビンクリスチンなどを、さらに含む。いくつかの態様において、細胞または抗体は、塩の形態、例えば薬学的に許容される塩の形態で投与される。適切な薬学的に許容される酸付加塩には、塩酸、臭化水素酸、リン酸、メタリン酸、硝酸、および硫酸などの鉱酸、および酒石酸、酢酸、クエン酸、リンゴ酸、乳酸、フマル酸、安息香酸、グリコール酸、グルコン酸、コハク酸、およびアリールスルホン酸、例えばp-トルエンスルホン酸などの有機酸から誘導されるものがある。

【０３１７】

活性成分は、マイクロカプセル、コロイド状薬物送達システム（例えばリポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子およびナノカプセル）またはマクロエマルションに封入してもよい。一定の態様では、薬学的組成物が、シクロデキストリン包接複合体などの包接複合体として、またはリポソームとして、製剤化される。リポソームは、宿主細胞（例えばT細胞またはNK細胞）を特定組織に誘導するのに役立ち

うる。リポソームの調製には、例えばSzoka et al., Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9: 467（1980）および米国特許第4,235,871号、第4,501,728号、第4,837,028号、および第5,019,369号に記載されているものなど、数多くの方法を利用することができる。

【０３１８】

組成物の送達が、処置しようとする部位の増感に先だって、その増感を引き起こすのに十分な時間で起こるように、薬学的組成物は、いくつかの局面において、持効性送達システム、遅延放出性送達システム、および徐放性送達システムを使用することができる。数多くのタイプの放出送達システムを利用することができ、それらは公知である。そのようなシステムは、組成物の反復投与を回避し、よって対象および医師の利便性を増加させることができる。

【０３１９】

薬学的組成物は、いくつかの態様において、疾患または状態を処置または防止するのに有効な量で、例えば治療有効量で、または予防有効量で、結合分子および/または細胞を含有する。治療効力または予防効力は、いくつかの態様において、処置された対象の周期的評価によって監視される。状態に依存して数日またはそれ以上にわたる繰り返し投与の場合、疾患症状の望ましい抑制が起こるまで、処置を繰り返す。しかし、他の用量用法が役立つ場合もあり、他の用量用法を決定することができる。望ましい投薬量は、組成物の単回ボーラス投与によって、または組成物の複数回ボーラス投与によって、または組成物の持続注入投与によって送達することができる。

【０３２０】

一定の態様において、結合分子を含有する遺伝子改変細胞との関連では、対象には、約100万～約1000億個の範囲の細胞、例えば100万～約500億個（例えば約500万個、約2500万個、約5億個、約10億個、約50億個、約200億個、約300億個、約400億個、または前述の値のうちのいずれか2つによって規定される範囲）の細胞、例えば約1000万～約1000億個（例えば約2000万個、約3000万個、約4000万個、約6000万個、約7000万個、約8000万個、約9000万個、約100億個、約250億個、約500億個、約750億個、約900億個、または前述の値のうちのいずれか2つによって規定される範囲）の細胞、また場合によっては約1億個～約500億個（例えば約1億2000万個、約2億5000万個、約3億5000万個、約4億5000万個、約6億5000万個、約8億個、約9億個、約30億個、約300億個、約450億個）もしくはこれらの範囲の間の任意の値の細胞、および/または対象の体重1キログラムにつきそのような数の細胞が投与される。

【０３２１】

組成物または細胞は、標準的な投与技法、製剤、および/またはデバイスを使って投与しうる。組成物の貯蔵および投与のために、シリンジおよびバイアルなどの製剤およびデバイスが提供される。細胞の投与は、自家投与であるか、異種投与であることができる。例えば免疫応答細胞または前駆細胞を対象から得て、それを同じ対象または異なる適合対象に投与することができる。末梢血由来免疫応答細胞またはそれらの子孫（例えばインビボ、エクスビボまたはインビトロ派生物）は、限局的注射（カテーテル投与を含む）、全身注射、限局的注射、静脈内注射、または非経口投与によって投与することができる。治療用組成物（例えば遺伝子修飾免疫応答細胞を含有する薬学的組成物）を投与する場合、治療組成物は一般に注射可能な単位剤形（溶液、懸濁液、エマルション）に製剤化されるであろう。

【０３２２】

製剤には、経口投与用、静脈内投与用、腹腔内投与用、皮下投与用、肺投与用、経皮投与用、筋肉内投与用、鼻腔内投与用、口腔粘膜投与用、舌下投与用、または坐剤投与用のものが含まれる。いくつかの態様において、細胞集団は非経口投与される。本明細書において使用する「非経口」という用語は、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、直腸投与、腟投与、および腹腔内投与を包含する。いくつかの態様では、細胞集団が、静脈内注射、腹腔内注射、または皮下注射による末梢全身送達を使って対象に投与される。

【０３２３】

組成物は、いくつかの態様において、無菌液状調製物として、例えば等張性水溶液、懸濁液、エマルション、分散液、または粘性組成物として提供され、それらは、いくつかの局面において、選択されたpHに緩衝化されている。液状調製物は、通常、ゲル、他の粘性組成物、および固形組成物よりも調製が容易である。加えて、液状組成物は、投与（特に注射によって投与）するのに多少便利である。一方、粘性組成物は、特定組織との接触期間が長くなるように、適当な粘度範囲内で製剤化することができる。液状組成物または粘性組成物は担体を含むことができ、それらは、例えば水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、ポリオール（polyoi）（例えばグリセロール、プロピレングリコール、液状ポリエチレングリコール）およびそれらの適切な混合物などを含有する溶媒または分散媒であることができる。

【０３２４】

無菌注射可能溶液は、結合分子を溶媒に組み入れることによって、例えば無菌水、生理食塩水、グルコース、デキストロースなどの適切な担体、希釈剤、または賦形剤と混合して調製することができる。組成物は凍結乾燥することもできる。組成物は、投与経路および所望の調製物に依存して、湿潤剤、分散剤、または乳化剤（例えばメチルセルロース）、pH緩衝作用物質、ゲル化または増粘性添加剤、保存剤、香味剤、着色剤などの補助物質を含有することができる。いくつかの局面では、標準的な教本を参照することで、適切な調製物を調製することができる。

【０３２５】

抗微生物保存剤、酸化防止剤、キレート剤、および緩衝剤など、組成物の安定性および無菌性を強化するさまざまな添加剤を加えることができる。微生物作用の防止は、さまざまな抗細菌および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などによって確保することができる。注射可能な薬学的形態の長時間にわたる吸収は、吸収を遅延させる作用物質、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの使用によって引き起こすことができる。

【０３２６】

徐放性調製物を調製してもよい。徐放性調製物の好適例は、造形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形態にある、抗体を含有する固形疎水性ポリマーの半透過性マトリックスを含む。

【０３２７】

インビボ投与に使用される製剤は一般に無菌である。無菌性は例えば無菌濾過膜による濾過などによって容易に達成されうる。

【０３２８】

B.治療的および予防的な方法および使用

また、CD19結合分子（抗CD19抗体、例えば抗体フラグメントを含む）および/または組換え受容体を発現する工学的に改変された細胞を使用するための方法およびそれらの使用も提供する。そのような方法および使用には、例えば、CD19を発現するかCD19発現に関連する疾患、状態または障害を有し、かつ/または細胞もしくは組織がCD19を発現する対象に、分子、細胞またはそれらを含む組成物を投与することを伴う治療的方法および治療的使用が含まれる。いくつかの態様において、分子、細胞、および/または組成物は、疾患または障害の処置を達成するために、有効量で投与される。使用には、前述の方法および処置における抗体および細胞の使用、前述の治療方法を実行するための医薬の調製における抗体および細胞の使用が含まれる。いくつかの態様において、方法は、疾患または状態を有するか、それらを有すると疑われる対象に、抗体もしくは細胞またはそれらを含む組成物を投与することによって実行される。いくつかの態様において、本方法は、それによって、対象における疾患または状態または障害を処置する。

【０３２９】

本明細書にいう「処置」（およびその文法上の変形、例えば「処置する」または「処置すること」）は、疾患もしくは状態もしくは障害、またはそれに伴う症状、有害作用もしくはアウトカム、もしくは表現型の完全なまたは部分的な改善または低減を指す。処置の

望ましい効果には、疾患の発生または再発の防止、症状の軽減、疾患の何らかの直接的または間接的な病理学的結果の減縮、転移の防止、疾患進行速度の減少、疾患状態の改善または緩和、ならびに寛解または予後の改良などがあるが、それらに限定されるわけではない。これらの用語は、疾患の完全な治癒も、何らかの症状またはすべての症状もしくはアウトカムに対する何らかの効果の完全な排除も含意しない。

【０３３０】

本明細書において「疾患の発達を遅延させる」とは、疾患（例えばがん）の発達を延期し、妨げ、減速し、遅延させ、安定化し、抑制し、かつ/または先延ばしにすることを意味する。この遅延は、処置される疾患および/または個体の履歴に依存して、さまざまな長さの期間であることができる。当業者には明白であるように、十分な遅延または著しい遅延は、その個体では疾患が発達しないという点で、実際上、防止を包含することができる。例えば末期がん（転移の発達など）を遅延させうる。

【０３３１】

本明細書にいう「防止する」には、ある疾患に対する素因を有しうるがまだその疾患とは診断されていない対象における当該疾患の発生または再発に関して、予防が含まれる。いくつかの態様において、ここに提供する分子および組成物は、疾患の発達を遅延させるためまたは疾患の発達を遅くするために使用される。

【０３３２】

本明細書において使用する場合、機能または活性を「抑制する」とは、関心対象の条件またはパラメータを除く他の点では同じ条件と比較して、あるいは別の条件と比較して、その機能または活性を低減することである。例えば、腫瘍成長を抑制する抗体または組成物または細胞は、その抗体または組成物または細胞が存在しない場合の腫瘍の成長速度と比較して、腫瘍の成長速度を低減する。

【０３３３】

投与との関連において、作用物質、例えば薬学的製剤、結合分子、抗体、もしくは細胞、または組成物の「有効量」とは、所望の結果、例えば治療結果または予防結果を達成するのに、必要な投薬量/量および期間において、有効な量を指す。

【０３３４】

作用物質、例えば薬学的製剤、抗体、または細胞の「治療有効量」とは、例えば疾患、状態または障害の処置に関して所望の治療結果、および/または処置の薬物動態的もしくは薬力学的効果を達成するのに、必要な投薬量および期間において、有効な量を指す。治療有効量は、対象の疾患状態、年齢、性別、および体重、ならびに投与される細胞集団などの因子に応じて変動しうる。いくつかの態様において、ここに提供する方法は、分子、細胞、および/または組成物を有効量で、例えば治療有効量で投与することを伴う。

【０３３５】

「予防有効量」とは、所望の予防結果を達成するのに、必要な投薬量および期間において、有効な量を指す。予防用量は疾患に先だってまたは疾患の初期段階において対象に使用されるので、典型的には、予防有効量は治療有効量より少ないであろうが、必ずしもそうとは限らない。

【０３３６】

本明細書にいう「対象」は哺乳動物、例えばヒトまたは他の動物であり、典型的にはヒトである。疾患および障害には、B細胞悪性疾患、例えばB細胞白血病およびリンパ腫、例えばB細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ球性白血病（ALL）、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、コモン急性リンパ球性白血病、ヌル型急性リンパ芽球性白血病、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、脾性辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫が含まれる。疾患および状態には、自己免疫および炎症性疾患、例えば不適当なまたは増大したB細胞の数および/または活性化に関連するものも含まれる。例示的な疾患および状態には、多発性硬化症、関節リウマチ、および全身性エリテマトーデス（SLE）が含まれる。

【０３３７】
いくつかの態様において、対象は、例えば別のCD19特異的抗体による処置および/またはCD19ターゲティングキメラ受容体を発現する細胞による処置ならびに/または化学療法、放射線および/もしくは造血幹細胞移植（HSCT）、例えば同種異系HSCTを含む他の治療法による処置後に、持続する疾患または再燃した疾患を有する。いくつかの態様において、本投与は、対象が別のCD19標的治療法に対して抵抗性になっているにもかかわらず、対象を効果的に処置する。いくつかの態様において、対象は再燃していないが、再燃のリスクがある（例えば再燃のリスクが高い）と決定され、したがって、例えば再燃の可能性を低減し、または再燃を防止するために、本化合物または組成物が予防的に投与される。
【０３３８】
いくつかの態様において、本処置は、治療に対する対象による免疫応答を誘発せず、かつ/または疾患もしくは状態の効果的な処置を妨げるほどにはそのような応答を誘発しない。いくつかの局面において、免疫原性および/または移植片対宿主応答の程度は、異なる処置だが比較しうる処置で観察されるものより低い。例えば、ここに提供する抗CD19抗体を含むCARを発現する細胞を用いる養子細胞療法の場合、免疫原性の程度は、類似する（例えばオーバーラップする）エピトープに結合しかつ/またはCD19への結合に関してここに提供する抗体と競合する異なる抗体（例えばマウス抗体）を含むCARと比較して、低減する。
【０３３９】
いくつかの態様において、本方法は、ここに提供する抗CD19含有受容体（例えばCD19標的CAR）を発現する遺伝子改変細胞が対象に投与される養子細胞療法を含む。そのような投与は、疾患または障害の細胞が破壊の標的となるように、CD19を標的とする形で、細胞の活性化（例えばT細胞活性化）を促進することができる。
【０３４０】
したがって、ここに提供する方法および使用は、養子細胞療法のための方法および使用を含む。いくつかの態様において、本方法は、対象、組織、または細胞、例えば疾患、状態もしくは障害を有するもの、または疾患、状態もしくは障害のリスクがあるもの、または疾患、状態もしくは障害を有すると疑われるものへの、細胞または細胞を含む組成物の投与を含む。いくつかの態様では、細胞、集団、および組成物を、例えば養子T細胞療法などの養子細胞療法によって処置しようとする特定の疾患または状態を有する対象に投与する。いくつかの態様では、細胞または組成物を対象に（例えば疾患または状態を有する対象または疾患もしくは状態のリスクがある対象に）投与する。いくつかの局面において、本方法は、それにより、例えばCD19発現がんにおける腫瘍量を減らすことなどによって、疾患または状態の1つまたは複数の症状を処置（例えば改善）する。
【０３４１】
養子細胞療法のために細胞を投与する方法は公知であり、ここに提供する方法および組成物との関連において使用しうる。例えば養子T細胞療法は、Gruenberg et alの米国特許出願公開番号2003/0170238号;Rosenbergの米国特許第4,690,915号; Rosenberg（2011）Nat Rev Clin Oncol. 8（10）:577-85などに記載されている。例えばThemeli et al.（2013）Nat Biotechnol. 31（10）:928-933; Tsukahara et al.（2013）Biochem Biophys Res Commun 438（1）:84-9; Davila et al.（2013）PLoS ONE 8（4）:e61338を参照されたい。
【０３４２】
いくつかの態様において、細胞療法、例えば養子細胞療法、例えば養子T細胞療法は、細胞療法を受ける対象からまたはそのような対象に由来する試料から細胞を単離しかつ/または他の形で調製する自家移植によって実行される。したがって、いくつかの局面において、細胞は処置を必要としている対象、例えば患者に由来し、細胞は単離および処理後に同じ対象に投与される。
【０３４３】
いくつかの態様において、細胞療法、例えば養子細胞療法、例えば養子T細胞療法は、

細胞療法を受ける予定の対象または最終的に細胞療法を受ける対象とは異なる対象（例えば第1対象）から細胞を単離しかつ/または他の形で調製する同種異系移植によって実行される。そのような態様では、次に細胞が、同じ種の異なる対象（例えば第2対象）に投与される。いくつかの態様において、第1対象と第2対象は遺伝子的に同一である。いくつかの態様において、第1対象と第2対象は遺伝子的に類似している。いくつかの態様において、第2対象は第1対象と同じHLAクラスまたはスーパータイプを発現する。

【０３４４】

いくつかの態様において、細胞、細胞集団、または組成物の投与を受ける対象は、ヒトなどの霊長類である。いくつかの態様において、霊長類はサルまたは類人猿である。対象は男性または女性であることができ、幼児対象、若年対象、青年対象、成人対象、および老齢対象を含む任意の適切な年齢であることができる。いくつかの態様において、対象は、齧歯類などの非霊長類哺乳動物である。いくつかの例において、患者または対象は、疾患の、養子細胞療法の、および/またはサイトカイン放出症候群（CRS）などの毒性のアウトカムを評価するための、有効な動物モデルである。

【０３４５】

CD19結合分子、例えば抗体および抗体を含有するキメラ受容体、ならびにそれらを発現する細胞は、任意の適切な手段によって、例えば注射によって、例えば静脈内注射または皮下注射、眼内注射、眼周囲注射、網膜下注射、硝子体内注射、経中隔注射、強膜下注射、脈絡膜内注射、前房内注射、サブコンジェクトバル（subconjectval）注射、結膜下注射、テノン鞘下注射、眼球後注射、眼球周囲注射、または強膜近傍後部送達によって、投与することができる。いくつかの態様では、投与が非経口投与、肺内投与、および鼻腔内投与によって行われ、局所処置にとって望ましい場合には、病巣内投与によって行われる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬および投与は、一つには、投与が短期間であるか慢性であるかに依存しうる。さまざまな投薬計画には、単回またはさまざまな時点にわたる複数回投与、ボーラス投与、およびパルス注入が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【０３４６】

疾患の防止または処置にとって、結合分子または細胞の適当な投薬量は、処置しようとする疾患のタイプ、結合分子のタイプ、疾患の重症度および経過、結合分子が防止目的で投与されるか治療目的で投与されるか、それまでの治療法、患者の病歴および結合分子に対する応答、ならびに担当医の裁量に依存しうる。組成物および分子および細胞は、いくつかの態様において、一度にまたは一連の処置によって、患者に適切に投与される。

【０３４７】

抗体の投薬量としては、疾患のタイプおよび重症度に依存して、約1μg/kg～15mg/kg（例えば0.1mg/kg～10mg/kg）、約1μg/kg～100mg/kgまたはそれ以上、約0.05mg/kg～約10mg/kg、0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kgまたは10mg/kgを挙げることができる。間欠的に、例えば1週間ごとまたは3週間ごとに、複数回、投与を行ってもよい。最初は高い初回負荷量を投与し、続いて低用量を1回または複数回投与してもよい。

【０３４８】

一定の態様では、結合分子を含有する遺伝子改変細胞との関連において、約100万～約1000億個の範囲の細胞、および/または体重1キログラムにつきその量の細胞が、例えば100万～約500億個の細胞（例えば約500万個、約2500万個、約5億個、約10億個、約50億個、約200億個、約300億個、約400億個、または前述の値のうちのいずれか2つによって規定される範囲の細胞）、例えば約1000万～約1000億個の細胞（例えば約2000万個、約3000万個、約4000万個、約6000万個、約7000万個、約8000万個、約9000万個、約100億個、約250億個、約500億個、約750億個、約900億個、または前述の値のうちのいずれか2つによって規定される範囲の細胞）、そして場合によっては約1億個～約500億個の細胞（例えば約1億2000万個、約2億5000万個、約3億5000万個、約4億5000万個、約6億5000万個、約8億万個、約9億個、約30億個、約300億個、約450億個の細胞）またはこれらの範囲の間にある任意の値が、かつ/または体重1キログラムにつき、対象に投与される。ここでも、投薬量は、

疾患もしくは障害および/または患者および/または他の処置に特有の属性に依存して変動しうる。

【０３４９】

いくつかの態様において、細胞または抗体は併用処置の一部として、例えば別の治療的介入、例えば別の抗体または工学的に改変された細胞または受容体または作用物質、例えば細胞毒性剤または治療剤と同時に、または任意の順序で逐次的に、投与される。

【０３５０】

細胞または抗体は、いくつかの態様において、1つまたは複数の追加治療剤と、または別の治療的介入とともに、同時に、または任意の順序で逐次的に、共投与される。いくつかの状況下において、細胞は、細胞集団が1つまたは複数の追加治療剤の効果を強化するように、またはその逆になるように十分に近い時間間隔で、別の治療法と共投与される。いくつかの態様において、細胞または抗体は、1つまたは複数の追加治療剤に先だって投与される。いくつかの態様において、細胞または抗体は、1つまたは複数の追加治療剤の後に投与される。

【０３５１】

細胞を哺乳動物（例えばヒト）に投与したら、いくつかの局面では、工学的に改変された細胞の集団および/または抗体の生物学的活性を、いくつかある公知の方法のいずれかによって測定する。評価するパラメータには、例えばイメージングによるインビボでの、または例えばELISAもしくはフローサイトメトリーによるエクスビボでの、抗原に対する工学的に改変されたT細胞もしくは天然T細胞または他の免疫細胞の特異的結合が含まれる。一定の態様では、例えばKochenderfer et al., J. Immunotherapy, 32（7）:689-702（2009）およびHerman et al. J. Immunological Methods, 285（1）:25-40（2004）などに記載の細胞傷害性アッセイなど、当技術分野において公知である任意の適切な方法を使って、ターゲット細胞を破壊する工学的に改変された細胞の能力を測定することができる。一定の態様において、細胞の生物学的活性は、CD107a、IFNγ、IL-2、およびTNFなどといった一定のサイトカインの発現および/または分泌をアッセイすることによって測定することもできる。いくつかの局面において、生物学的活性は、腫瘍量または腫瘍負荷量の低減などといった臨床アウトカムを評価することによって測定される。

【０３５２】

一定の態様では、工学的に改変された細胞を、それらの治療的または予防的効力が増加するように、いくつかの方法で修飾する。例えば、その集団によって発現される工学的に改変されたCARまたはTCRは、ターゲティング部分に直接的に、またはリンカーを介して間接的に、コンジュゲートすることができる。化合物（例えばCARまたはTCR）をターゲティング部分にコンジュゲートする手法は当技術分野において公知である。例えばWadwa et al., J.Drug Targeting 3:111（1995）および米国特許第5,087,616号を参照されたい。

【０３５３】

C.診断方法および検出方法

また、CD19の検出および/または抗体が認識するそのエピトープの存在の検出などによる、検出、予後、診断、病期分類、1つまたは複数の組織または細胞タイプに対する特定処置の結合の決定、および/または対象における処置決定への情報提供のための、ここに提供する結合分子、例えば抗体（抗体フラグメントを含む）、および1つまたは複数のそのような抗体を含有する分子（コンジュゲートおよび複合体など）の使用を伴う方法も提供する。いくつかの態様において、本方法は、CD19発現疾患またはCD19発現状態と関連する診断および/または予後方法である。本方法は、いくつかの態様において、生物学的試料を抗体と共にインキュベートし、かつ/または生物学的試料を抗体でプローブし、かつ/または抗体を対象に投与する工程を含む。一定の態様において、生物学的試料は、細胞または組織もしくはその一部分、例えば腫瘍もしくはがん組織またはその生検もしくは切片を含む。一定の態様において、接触は、試料中に存在するCD19への抗CD19抗体の結合を許容する条件下で行われる。いくつかの態様において、本方法はさらに、抗CD19抗体と試料中のCD19との間に複合体が形成されるかどうかを検出する工程、例えばそのような結合の

有無またはレベルを検出する工程を含む。そのような方法はインビトロ法またはインビボ法でありうる。一態様において、抗CD19抗体は、例えばCD19が患者を選択するためのバイオマーカーである場合に、抗CD19抗体または工学的に改変された抗原受容体による治療法に適格である対象を選択するために使用される。

【０３５４】

いくつかの態様では、試料、例えば細胞、組織試料、溶解物、組成物、またはそこから得られる他の試料を抗CD19抗体と接触させ、抗体と試料（例えば試料中のCD19）との間の結合または複合体の形成を決定または検出する。同じ組織タイプのリファレンス細胞と比較して試験試料における結合が実証または検出される場合、それは、関連する疾患または状態の存在を示し、かつ/またはその抗体（例えば抗体フラグメント）を含有する治療薬が、その試料が由来する組織もしくは細胞または他の生物学的材料と同じまたは同じタイプの組織または細胞に特異的に結合するであろうことを示しうる。いくつかの態様において、試料はヒト組織に由来し、例えば処置しようとする疾患または状態を有する対象の、および/またはそのような対象と種は同じであるが処置しようとする疾患または状態を有さない対象の、患部組織および/または正常組織に由来しうる。場合により、正常組織または細胞は、処置しようとする疾患または状態を有する対象に由来するが、それ自身は疾患細胞または疾患組織ではなく、例えば所与の対象中に存在する同じ器官またはがんとは異なる器官からの正常組織である。

【０３５５】

特異的抗体-抗原結合を検出するには、当技術分野において公知のさまざまな方法を使用することができる。例示的イムノアッセイには、蛍光偏光イムノアッセイ（FPIA）、蛍光イムノアッセイ（FIA）、酵素イムノアッセイ（EIA）、比濁阻害イムノアッセイ（NIA）、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、およびラジオイムノアッセイ（RIA）がある。対象抗体には指示薬部分またはラベル基を取り付けることができ、指示薬部分またはラベル基は、本方法のさまざまな使用の必要を満たすように選択され、それらは、アッセイ機器の入手可能性および適合するイムノアッセイ手順によって決まることが多い。例示的ラベルには、放射性核種（例えば$^{125}$I、$^{131}$I、$^{35}$S、$^{3}$H、または$^{32}$Pおよび/またはクロム（$^{51}$Cr）、コバルト（$^{57}$Co）、フッ素（$^{18}$F）、ガドリニウム（$^{153}$Gd、$^{159}$Gd）、ゲルマニウム（$^{68}$Ge）、ホルミウム（$^{166}$Ho）、インジウム（$^{115}$In、$^{113}$In、$^{112}$In、$^{111}$In）、ヨウ素（$^{125}$I、$^{123}$I、$^{121}$I）、ランタン（$^{140}$La）、ルテチウム（$^{177}$Lu）、マンガン（$^{54}$Mn）、モリブデン（$^{99}$Mo）、パラジウム（$^{103}$Pd）、リン（$^{32}$P）、プラセオジム（$^{142}$Pr）、プロメチウム（$^{149}$Pm）、レニウム（186Re、188Re）、ロジウム（105Rh）、ルテニウム（rutheroium）（97Ru）、サマリウム（$^{153}$Sm）、スカンジウム（$^{47}$Sc）、セレン（$^{75}$Se）、（$^{85}$Sr）、硫黄（$^{35}$S）、テクネチウム（$^{99}$Tc）、タリウム（$^{201}$Ti）、スズ（$^{113}$Sn、$^{117}$Sn）、トリチウム（3H）、キセノン（$^{133}$Xe）、イッテルビウム（$^{169}$Yb、$^{175}$Yb）、イットリウム（$^{90}$Y））、酵素（例えばアルカリホスファターゼ、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、またはβ-ガラクトシダーゼ（glactosidase））、蛍光部分または蛍光タンパク質（例えばフルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン、GFP、またはBFP）、または発光部分（例えばQuantum Dot Corporation（カリフォルニア州パロアルト）が供給するQdot（商標）ナノ粒子）がある。さまざまな上記イムノアッセイを実施する際に使用されるさまざまな一般技法が公知である。

【０３５６】

診断のために、抗体を検出可能部分、例えば限定するわけではないが当技術分野において公知の放射性同位体、蛍光ラベル、およびさまざまな酵素-基質ラベルで、標識することができる。抗体にラベルをコンジュゲートする方法は当技術分野において公知である。

【０３５７】

いくつかの態様では、抗体を標識する必要はなく、その存在は、抗体のいずれかに結合する標識抗体を使って検出することができる。

【０３５８】

ここに提供する抗体は、競合結合アッセイ、直接および間接サンドイッチアッセイ、な

らびに免疫沈降アッセイなど、任意の公知アッセイ方法において使用することができる。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.147-158（CRC Press, Inc. 1987）。

【０３５９】

本抗体およびポリペプチドは、インビボイメージングなどのインビボ診断アッセイにも使用することができる。一般に抗体は、対象への投与後に関心対象の細胞または組織の位置をインビボで特定することができるように、放射性核種（$^{111}$In、$^{99}$Tc、$^{14}$C、$^{131}$I、$^{125}$I、または$^{3}$Hなど）で標識される。

【０３６０】

本抗体は、病理学において、例えば公知の技法を使って、染色試薬としても使用しうる。

【０３６１】

III.製造品

また、ここに提供する結合分子、例えば抗体およびCAR、ならびに/または遺伝子改変細胞、ならびに/または組成物を含有する製造品も提供する。製造品は、容器、および容器上のまたは容器に付随するラベルまたは添付文書を含みうる。適切な容器として、例えば瓶、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなど、さまざまな素材で形成されうる。容器は、いくつかの態様では、単独の組成物、または前記状態を処置、防止および/もしくは診断するのに有効な別の組成物と組み合わせされた組成物を保持する。いくつかの態様において、容器は無菌アクセスポートを有する。例示的容器として、静脈内溶液バッグ、バイアル、例えば注射針で突き刺すことができる栓を有するものが挙げられる。ラベルまたは添付文書は、本組成物がCD19発現疾患もしくは状態またはCD19関連疾患もしくは状態を処置するために使用されることを示しうる。製造品は、（a）本抗体または工学的に改変された抗原受容体を含む組成物が入っている第1容器と、（b）細胞毒性剤または他の形の治療剤などのさらなる作用物質を含む組成物が入っている第2容器とを含みうる。製造品は、特定の状態を処置するために本組成物を使用できることを示す添付文書を、さらに含みうる。これに代えて、またはこれに加えて、製造品は、薬学的に許容される緩衝液を含む別の容器または同じ容器をさらに含みうる。製造品はさらに、他の材料、例えば他の緩衝液、希釈剤、フィルタ、針、および/またはシリンジなどを含みうる。

【０３６２】

本明細書にいう「対応する形態」の抗体とは、2つの抗体の性質または活性を比較する場合に、その性質が同じ形態の抗体を使って比較されることを意味する。例えば、ある抗体が、対応する形態の第1抗体と比較して高い活性を有するという場合、それは、その抗体のscFvなどの特定の形態が、第1抗体のscFv形と比較して高い活性を有することを意味する。

【０３６３】

本明細書において、ヌクレオチドまたはアミノ酸位置が、開示した（例えば配列表に示す）配列中のヌクレオチドまたはアミノ酸位置「に対応する」とは、GAPアルゴリズムなどの標準的アライメントアルゴリズムを使って一致が最大になるように開示の配列とアライメントした時に同定されるヌクレオチドまたはアミノ酸位置を指す。例えば、いくつかの態様において、ヒトCD19タンパク質などのCD19タンパク質の例示的対応残基は、配列をSEQ ID NO:92に示す例示的Vpx配列とアライメントすることによって同定することができる。配列をアライメントすることにより、当業者は、例えば保存されたアミノ酸残基および同一のアミノ酸残基をガイドとして使って、対応する残基を同定することができる。一般に、対応する位置を同定するには、最も高水準のマッチが得られるようにアミノ酸の配列をアライメントする（例えばComputational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed.,Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M.、およびGriffin, H.G., eds., Humana Press, New.

Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987;およびSequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo et al.（1988）SIAM J Applied Math 48: 1073を参照されたい）。

【０３６４】

「エフェクター機能」とは、抗体のFc領域に帰すことができる生物学的活性を指し、これは抗体アイソタイプによって異なる。抗体エフェクター機能の例には、C1q結合および補体依存性細胞傷害（CDC）；Fc受容体結合;抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）;貪食;細胞表面受容体（例えばB細胞受容体）のダウンレギュレーション;およびB細胞活性化がある。

【０３６５】

「Fc領域」という用語は、本明細書では、定常領域の少なくとも一部分を含有する免疫グロブリン重鎖のC末端領域を規定するために使用される。この用語は、ネイティブ配列Fc領域および変異体Fc領域を包含する。一態様において、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226またはPro230から重鎖のカルボキシル末端までにわたる。ただし、Fc領域のC末端リジン（Lys447）は存在しても存在しなくてもよい。本明細書において別段の指定がある場合を除き、Fc領域または定常領域におけるアミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載のEUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）による。

【０３６６】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」および「全抗体」という用語は、本明細書では、ネイティブ抗体構造に実質的に類似する構造を有する抗体または本明細書に規定するFc領域を含有する重鎖を有する抗体を指すために、可換的に使用される。

【０３６７】

「単離された」抗体は、その自然環境の構成成分から分離されたものである。いくつかの態様において、抗体は、例えば電気泳動（例えばSDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフィー（例えばイオン交換または逆相HPLC）による決定で、95％超または99％超の純度まで精製される。抗体純度の評価方法の概要については、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87（2007）を参照されたい。

【０３６８】

「単離された」核酸とは、その自然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸には、当該核酸分子を通常含有する細胞中に含まれている核酸分子であるが、その核酸分子が染色体外に存在するか、その自然の染色体位置とは異なる染色体位置にあるものが包含される。

【０３６９】

「抗CD19抗体をコードする単離された核酸」は、抗体重鎖および抗体軽鎖（またはそのフラグメント）をコードする1つまたは複数の核酸分子を指し、単一のベクターまたは別々のベクター中に存在するそのような核酸分子、および宿主細胞中の1つまたは複数の場所に存在するそのような核酸分子を包含する。

【０３７０】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」および「宿主細胞培養」という用語は可換的に使用され、外来核酸が導入されている細胞を指し、そのような細胞の子孫を包含する。宿主細胞は「形質転換体」および「形質転換細胞」を包含し、これには初代形質転換細胞とそこから派生する子孫が、継代数とは関係なく含まれる。子孫は、核酸の内容が親細胞と完全には同一ではなくて、突然変異を含有してもよい。元の形質転換細胞においてスクリーニングまたは選択の対象となったものと同じ機能または生物学的活性を有する突然変異形子孫は、ここに包含される。

【０３７１】

本明細書にいう「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」および「同一性パーセント」は、あるアミノ酸配列（リファレンスポリペプチド配列）に関して使用する場合、配列をアライメントし、保存的置換はいずれも配列同一性の一部とはみなさないで、最大の配列同一性パーセントが達成されるように、必要であればギャップを導入した後に、リファレンスポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列（例えば対象抗体またはフラグメント）中のアミノ酸残基のパーセンテージと定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアライメントは、当技術分野における技量の範囲内にあるさまざまな方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMegalign（DNASTAR）ソフトウェアなどの公に利用できるコンピュータソフトウェアを使って達成することができる。当業者は、配列をアライメントするための適当なパラメータ（比較される配列の全長にわたって最大のアライメントを達成するために必要なあらゆるアルゴリズムを含む）を、決定することができる。

【０３７２】

アミノ酸置換には、ポリペプチド中のあるアミノ酸の、別のアミノ酸による置き換えを含めることができる。例示的置換を表1に示す。結合分子、例えば関心対象の抗体中にアミノ酸置換を導入し、その産物を、保持された/改良された抗原結合性、減少した免疫原性、または改良されたADCCもしくはCDCなどの所望の活性について、スクリーニングすることができる。

【０３７３】

アミノ酸は、一般に、次に挙げる共通の側鎖特性に従ってグループ分けすることができる：

（1）疎水性:ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile;
（2）中性親水性: Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;
（3）酸性: Asp、Glu;
（4）塩基性: His、Lys、Arg;
（5）鎖の配向に影響を及ぼす残渣: Gly、Pro;
（6）芳香族: Trp、Tyr、Phe。

【０３７４】

非保存的アミノ酸置換では、これらのクラスのうちの一つを別のクラスと交換することになる。

【０３７５】

本明細書において使用する「ベクター」という用語は、それが連結された別の核酸を増殖させる能力を有する核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクターも、それが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターも包含する。一定のベクターは、それらが機能的に連結された核酸の発現を指示する能力を有する。そのようなベクターを本明細書では「発現ベクター」という。

【０３７６】

「添付文書」という用語は、治療製品の市販パッケージに通例含まれていて、適応症、使用法、用量、投与、併用療法、禁忌症に関する情報および/または前述の治療製品の使用に関する警告を含む説明書を指すために使用される。

【０３７７】

本明細書において使用する単数形「1つの（a）」、「1つの（an）」および「その（the）」は、文脈上そうでないことが明確である場合を除き、複数の指示対象を包含する。例えば「1つの（a）」または「1つの（an）」は、「少なくとも1つの」または「1つまたは複数の」を意味する。本明細書に記載する局面および変形は、局面および変形「からなる」ならびに/または局面および変形「から本質的になる」を包含すると理解される。

【０３７８】

この開示の全体を通して、特許請求の範囲に記載する内容のさまざまな局面は、範囲形式で提示される。範囲形式での記載は単に便宜上および簡潔化のためであり、特許請求の範囲に記載する内容に対する柔軟性のない限定として解釈すべきでないことを理解すべき

である。したがって範囲の記載は、可能な部分範囲およびその範囲内の個々の数値をすべて具体的に開示しているとみなすべきである。例えば、値の範囲が与えられた場合、その範囲の上限および下限と、他の任意の明示された値またはその明示された範囲内の中間値との間にある中間値は、特許請求の範囲の内容に包含される。これら小範囲の上端および下端は独立してその小範囲に含まれてよく、それらもまた、特許請求の範囲の内容に包含される。ただし、明示されたその範囲内にあって特に除外された端点はいずれも除く。明示された範囲が端点の一方または両方を含む場合、それら含まれた端点の一方または両方を除外した範囲も特許請求の範囲の内容に含まれる。これは範囲の幅とは無関係に適用される。

【０３７９】

本明細書において使用する「約」という用語は、当業者にとっては明白な、各値に関する通常の誤差範囲を指す。本明細書において「約」がつく値またはパラメータは、その値またはパラメータそのものに向けられた態様を包含する（そしてそのような態様を記載している）。例えば「約X」という記載は「X」の記載を包含する。

【０３８０】

本明細書にいう組成物とは、2種類以上の製品、物質、または化合物（細胞を含む）の任意の混合物を指す。これは溶液、懸濁液、液体、粉末、ペースト、水性、非水性、またはそれらの任意の組み合わせでありうる。

【０３８１】

本明細書において、ある細胞または細胞の集団がある特定マーカーに関して「陽性」であるとは、その細胞上またはその細胞中における特定マーカー（典型的には表面マーカー）の検出可能な存在を指す。表面マーカーに関する場合、この用語は、フローサイトメトリーによって（例えばマーカーに特異的に結合する抗体で染色し、該抗体を検出することによって）検出される表面発現の存在を指し、この場合、前記染色は、アイソタイプ対応対照を他の点では同一な条件下で使って同じ手順を実行することで検出される染色を実質的に上回るレベル、および/またはそのマーカーに関して陽性であることがわかっている細胞でのレベルと類似するレベルで、および/またはそのマーカーに関して陰性であることがわかっている細胞でのレベルより実質的に高いレベルで、フローサイトメトリーによって検出されうる。

【０３８２】

本明細書において、ある細胞または細胞の集団が特定マーカーに関して「陰性」であるとは、その細胞上またはその細胞中における特定マーカー（典型的には表面マーカー）の検出可能な実質的存在がないことを指す。表面マーカーに関する場合、この用語は、フローサイトメトリーによって（例えばマーカーに特異的に結合する抗体で染色し、該抗体を検出することによって）検出される表面発現の非存在を指し、この場合、前記染色は、アイソタイプ対応対照を他の点では同一な条件下で使って同じ手順を実行することで検出される染色を実質的に上回るレベル、および/またはそのマーカーに関して陽性であることがわかっている細胞でのレベルより実質的に低いレベル、および/またはそのマーカーに関して陰性であることがわかっている細胞でのレベルと比較して実質的に類似するレベルでは、フローサイトメトリーによって検出されない。

【０３８３】

別段の定義がある場合を除き、本明細書において使用する専門用語、表記ならびに他の技術用語および科学用語または用語法は、特許請求の範囲の内容が関係する技術分野の当業者に一般に理解されているものと同じ意味を有するものとする。場合により、一般に理解されている意味を持つ用語を、明快さのために、かつ/またはいつでも参照できるように、本明細書において定義するが、本明細書にそのような定義を含めることは、必ずしも、当技術分野において一般に理解されているものとの実質的な相違を表すと解釈すべきでない。

【０３８４】

本願において言及する刊行物は、特許文書、科学論文およびデータベースを含めてすべ

て、個々の刊行物が個別に参照により本明細書に組み入れられた場合と同じ程度に、参照によりその全体があらゆる目的で本明細書に組み入れられる。本明細書に示す定義が、参照により本明細書に組み入れられる特許、出願、出願公開および他の刊行物において示された定義に反するか、または他の形で一致しない場合は、本明細書に示す定義が、参照により本明細書に組み入れられる定義に優先する。

【０３８５】

本明細書において使用する項見出しには構成上の目的しかなく、記載する内容をそれらが限定するとみなしてはならない。

【０３８６】

IV.例示的態様

本明細書において提供する態様には、次に挙げるものがある。

1.

重鎖可変（VH）領域と軽鎖可変（VL）領域とを含む抗CD19抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、

該VH領域は、SEQ ID NO:20に示すアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）を含む；または

該VH領域は、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すVH領域アミノ酸配列に対して少なくとも90％の配列同一性を含む、抗CD19抗体またはその抗原結合性フラグメント。

2.

SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62に示すVH領域アミノ酸配列内に含まれるCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3;および/または

SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、65、64、66、70、69、67、90、または91に示す軽鎖可変（VL）領域アミノ酸配列内に含まれるCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含む軽鎖相補性決定領域1、2、および3（CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3）

を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

3.

SEQ ID NO:18のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO:81または82のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO:20に示すアミノ酸配列を含むCDR-H3;および/または

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$ (SEQ ID NO: 111)

のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$はT、Q、S、またはRであり；$X_2$はGまたはAであり；$X_3$はI、T、D、またはSであり；$X_4$はS、R、T、またはQであり；$X_5$はヌルまたはSであり；$X_6$はG、D、N、またはヌルであり；$X_7$はヌル、V、またはLであり；$X_8$はD、G、I、L、S、またはヌルであり；$X_9$はS、G、A、I、R、またはヌルであり；$X_{10}$はH、Y、F、S、またはNであり；$X_{11}$はR、N、D、H、またはYであり；$X_{12}$はY、F、D、またはWであり；$X_{13}$はV、A、またはLであり;かつ$X_{14}$はS、N、またはAである、CDR-L1;

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$（SEQ ID NO:112）

のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$はDまたはSであり；$X_2$はF、V、N、K、またはAであり；$X_3$はS、T、D、またはNであり；$X_4$はK、V、N、Q、またはRであり；$X_5$はR、V、またはLであり；$X_6$はP、K、A、またはEであり;かつ$X_7$はS、P、A、またはTである、CDR-L2;および

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 115)

のアミノ酸配列を含み、配列中、$X_1$はXであり；$X_2$はS、Q、A、またはTであり；$X_3$はY、S、W、Rであり；$X_4$はA、D、R、T、またはYであり；$X_5$はXであり；$X_6$はXであり；$X_7$はS、P、L、Y、Gであり；$X_8$はXまたはヌルであり；$X_9$はXまたはヌルであり；$X_{10}$はLまたはヌルであり；$X_{11}$はXであり;かつ$X_{12}$はV、T、またはLである、CDR-L3

を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

4.

CDR-L1において、$X_3$はI、T、またはSであり；$X_4$はS、T、またはQであり；$X_8$はD、G、I

、S、またはヌルであり; $X_9$はS、G、I、またはヌルであり; $X_{10}$はH、Y、S、またはNであり; $X_{11}$はR、N、D、またはHであり; $X_{12}$はYまたはDであり;かつ$X_{13}$はVまたはLであり;かつ/または

CDR-L2において、$X_1$はDであり; $X_4$はK、V、N、Q、またはRであり; $X_6$はP、K、またはAであり;かつ$X_7$はS、A、またはTであり;かつ/または

CDR-L3において、$X_1$はS、G、T、A、Q、C、またはNであり; $X_5$はA、S、P、G、N、またはDであり; $X_6$はI、S、G、T、A、L、H、R、またはNであり; $X_8$はP、T、S、Q、M、R、N、またはヌルであり; $X_9$はS、L、N、A、M、またはヌルであり;かつ$X_{11}$はY、W、F、V、A、またはLである、態様3の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

5.

CDR-L3において、$X_1$はS、G、Q、またはNであり; $X_2$はS、Q、またはTであり; $X_4$はA、D、T、またはYであり; $X_5$はA、S、またはGであり;かつ$X_6$はI、S、N、R、A、H、またはTである、態様3または態様4の抗体または抗原結合性フラグメント。

6.

CDR-H2が

SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)

に示すアミノ酸配列を含む;または

CDR-H2が

SEQ ID NO: 72 (GISWNSGSIGYADSVKG)

に示すアミノ酸配列を含む、態様1～5のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

7.

CDR-L1が、SEQ ID NO:80、77、74、73、75、79、78、76、21、25、28、または31に示すアミノ酸配列を含む、態様1～6のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

8.

CDR-L1が、SEQ ID NO:80、77、74、73、78、21、または28に示すアミノ酸配列を含む、態様7の抗体またはフラグメント。

9.

CDR-L2が、SEQ ID NO:100、97、94、93、95、99、98、96、22、26、29、または32に示すアミノ酸配列を含む、態様1～8のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

10.

CDR-L2が、SEQ ID NO:100、97、94、93、98、22、または29に示すアミノ酸配列を含む、態様9の抗体またはフラグメント。

11.

CDR-L3が、SEQ ID NO:109、106、103、101、104、108、107、105、102、23、24、27、30、または33に示すアミノ酸配列を含む、態様1～10のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

12.

CDR-L3が、SEQ ID NO:109、106、103、101、107、24、または30に示すアミノ酸配列を含む、態様11の抗体またはフラグメント。

13.

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および23の配列を含む;

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:21、22、および24の配列を含む;

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:25、26、および27の配列を含む;

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:28、29、および30の配列を含む;

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:31、32、および33の配列を含む;

CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:80、100、および109の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:77、97、および106の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:74、94、および103の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:73、93、および101の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:75、95、および104の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:79、99、および108の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:78、98、および107の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:76、96、および105の配列を含む；
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:73、93、および102の配列を含む；または
CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3が、それぞれSEQ ID NO:77、97、および106の配列を含む、態様1～12のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

14.
CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3が、それぞれSEQ ID NO:18、81、および20の配列を含む；
CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3が、それぞれSEQ ID NO:18、19、および20の配列を含む；
CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3が、それぞれSEQ ID NO:18、82、および20の配列を含む；または
CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3が、それぞれSEQ ID NO:18、72、および20の配列を含む、態様1～13のいずれか一つの抗体またはその抗原結合性フラグメント。

15.
抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO:11、12、60、61、63、または62のアミノ酸配列を含み;かつ/または
抗体もしくはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO:13、14、15、16、17、71、90、91、68、65、64、66、70、69、または67のアミノ酸配列を含む、態様1～14のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

16.
抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO:11、60、63、または62のアミノ酸配列を含み;かつ/または
抗体もしくはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO:14、16、71、90、65、64、または69のアミノ酸配列を含む、態様15の抗体またはフラグメント。

17.
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および17のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および15のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および13のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および16のア

ミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:62および68のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および65のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:61および66のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および70のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および67のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:12および91のアミノ酸配列を含む；または
抗体もしくはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含む、態様1～16のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

18.
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および14のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および16のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および71のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:11および65のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:60および64のアミノ酸配列を含む；
抗体またはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:62および69のアミノ酸配列を含む；または
抗体もしくはフラグメントのVH領域およびVL領域は、それぞれSEQ ID NO:63および90のアミノ酸配列を含む
態様17の抗体またはフラグメント。

19.
抗体がCD19に特異的に結合する、態様1～18のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

20.
抗体が、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択されるリファレンス抗CD19抗体によって特異的に結合されるエピトープと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合する、態様19の抗体またはフラグメント。

21.
抗体が、CD19への結合に関して、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体と競合する、態様19の抗体またはフラグメント。

22.
態様1～21のいずれか一つの抗体もしくはそのフラグメントであるリファレンス抗体またはFMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体であるリファレンス抗体に

よって特異的に結合されるエピトープと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合するヒト抗体フラグメントであって、FMC63およびSJ25C1中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含むヒト抗体フラグメント。

23.

CD19に特異的に結合し、CD19への結合に関して、態様1～21のいずれか一つの抗体もしくはフラグメントであるリファレンス抗体またはFMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体であるリファレンス抗体と競合するヒト抗体フラグメントであって、FMC63およびSJ25C1中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含むヒト抗体フラグメント。

24.

CD19に対し、リファレンス抗体が結合に関してそれ自身と競合するのと少なくとも同じ程度に、またはリファレンス抗体による競合の1.5分の1もしくは2分の1を下回らない競合の程度まで、結合に関してリファレンス抗体と競合する、態様21または23の抗体またはフラグメント。

25.

抗体が、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択されるリファレンス抗体のCD19に対する結合アフィニティーと同程度に高いか実質上同程度に高い結合アフィニティーを有する、態様1～24のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

26.

リファレンス抗体のEC50とほぼ同じかそれより低いEC50、またはリファレンス抗体のEC50の約1.5倍を上回らない、または約2倍を上回らない、3倍を上回らない、かつ/または10倍を上回らないEC50の結合アフィニティーを有する、態様25の抗体またはフラグメント。

27.

ヒトの抗体またはフラグメントである、態様1～26のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

28.

組換え体である、態様1～27のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

29.

モノクローナルである、態様1～28のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

30.

一本鎖フラグメントである、態様1～29のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

31.

柔軟な免疫グロブリンリンカーによって連結された抗体可変領域を含むフラグメントである、態様1～30のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

32.

フラグメントがscFvを含む、態様30または31の抗体またはフラグメント。

33.

scFvがSEQ ID NO:34に示す配列を含むリンカーを含む、態様32の抗体またはフラグメント。

34.

scFvが、SEQ ID NO:2、4、6、8、10、45、47、49、51、53、55、57、59、87、または89に示すアミノ酸配列を含む、態様32の抗体またはフラグメント。

35.

免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分をさらに含む、態様1～34のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

36.

免疫グロブリン定常領域の前記少なくとも一部分がFc領域を含む、態様35の抗体またはフラグメント。

37.

Fc領域がヒトIgGのFc領域である、態様36の抗体またはフラグメント。

38.
CD19がヒトCD19である、態様1～37のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
39.
態様1～38のいずれか一つの抗体またはフラグメントを含む細胞外部分と細胞内シグナリングドメインとを含むキメラ抗原受容体（CAR）。
40.
抗体またはフラグメントがscFvを含み、細胞内シグナリングドメインがITAMを含む、態様38のキメラ抗原受容体。
41.
細胞内シグナリングドメインが、CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖のゼータ鎖のシグナリングドメインを含む、態様39または40のキメラ抗原受容体。
42.
細胞外ドメインと細胞内シグナリングドメインとを連結する膜貫通ドメインをさらに含む、態様39～41のいずれか一つのキメラ抗原受容体。
43.
膜貫通ドメインがCD28の膜貫通部分を含む、態様42のキメラ抗原受容体。
44.
T細胞共刺激分子の細胞内シグナリングドメインをさらに含む、態様39～43のいずれか一つのキメラ抗原受容体。
45.
T細胞共刺激分子が、CD28および41BBからなる群より選択される、態様44のキメラ抗原受容体。
46.
態様39～45のいずれか一つのキメラ抗原受容体を発現する工学的に改変された細胞。
47.
T細胞である、態様46の工学的に改変された細胞。
48.
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に態様46または47の細胞を投与する工程を含む処置の方法。
49.
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に態様1～38のいずれか一つの抗体を投与する工程を含む処置の方法。
50.
疾患または障害がB細胞悪性疾患である、態様48または49の方法。
51.
B細胞悪性疾患が、B細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ球性白血病（ALL）、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、コモン急性リンパ球性白血病、ヌル型急性リンパ芽球性白血病、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、脾性辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、およびホジキンリンパ腫からなる群より選択される、態様50の方法。
52.
態様1～38のいずれか一つの抗体もしくはそのフラグメントまたは態様39～45のいずれか一つのキメラ抗原受容体をコードする核酸。
53.
態様1～38のいずれか一つの抗体またはそのフラグメント、態様39～45のいずれか一つのCAR、または態様46もしくは47の細胞を含む組成物。
54.
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に態様53の組成物を投与する工程を含む処置の方法。
55.

SEQ ID NO:11または12に示す重鎖可変（VH）領域アミノ酸配列内に含まれる重鎖相補性決定領域1、2、および3（CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3）配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-1、2、および3;ならびに

SEQ ID NO:13、14、15、16、または17に示す軽鎖可変（VL）領域アミノ酸配列内に含まれる軽鎖相補性決定領域1、2、および3（CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3）配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR1、2、および3

を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

56.

CDR-H1は

DYAMH（SEQ ID NO:18）

のアミノ酸配列を含み;

CDR-H2はアミノ酸配列

GISWNSGRIGY (SEQ ID NO: 35)

を含み;

CDR-H3はSEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含み;

CDR-L1はアミノ酸配列

$X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$ (SEQ ID NO: 36)

を含み、配列中、$X_1$はT、S、またはQであり、$X_3$はT、S、またはDであり、$X_4$はTまたはSであり、$X_5$はヌルまたはSであり、$X_6$はヌル、D、またはNであり、$X_7$はヌルまたはVであり、$X_8$はヌル、G、またはIであり、$X_9$はヌル、G、またはRであり、$X_{10}$はS、Y、またはNであり、$X_{11}$はDまたはNであり、$X_{12}$はDまたはYであり、$X_{13}$はVまたはAであり;

CDR-L2はアミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4$RPS（SEQ ID NO:37）

を含み、配列中、$X_1$はDまたはSであり、$X_2$はV、N、またはKであり、$X_3$はS、N、またはDであり、$X_4$はK、Q、またはNであり;かつ

CDR-L3はアミノ酸配列

$X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (SEQ ID NO: 38)

を含み、配列中、$X_1$はC、S、A、G、またはNであり、$X_2$はS、A、またはTであり、$X_3$はY、W、またはRであり、$X_4$はAまたはDであり、$X_5$はG、D、またはSであり、$X_6$はR、S、またはNであり、$X_7$はY、L、またはGであり、$X_8$はNまたはSであり、$X_9$はSまたはヌルであり、$X_{10}$はV、A、またはNであり、$X_{11}$はWまたはヌルであり、かつ$X_{12}$はLまたはVである、

態様55の抗体またはフラグメント。

57.

CDR-L1において、$X_1$はTまたはSであり、$X_3$はTまたはSであり、$X_{11}$はDまたはNであり、かつ$X_{13}$はVであり; CDR-L2において、$X_2$はVまたはNであり、かつ$X_4$はKまたはQであり;かつ/またはCDR-L3において、$X_1$はC、S、A、またはGであり、$X_3$はYまたはWであり、$X_5$はGまたはDであり、$X_7$はYまたはLであり、$X_{10}$はVまたはAであり、かつ$X_{11}$はヌルである、態様56の抗体またはフラグメント。

58.

CDR-H2が

SEQ ID NO: 19 (GISWNSGRIGYADSVKG)

に示すアミノ酸配列を含む、態様55～57のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

59.

CDR-L1が、SEQ ID NO:21、25、28、または31に示す配列を含む、態様55～58のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

60.

CDR-L2が、SEQ ID NO:22、26、29、または32に示す配列を含む、態様55～59のいずれか一つの抗体またはフラグメント。

61.

CDR-L3が、SEQ ID NO:23、24、27、30、または33に示す配列を含む、態様55～60のいず

れか一つの抗体またはフラグメント。
62.
CDRL1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21、22、および23の配列を含む;
CDRL1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:21、22、および24の配列を含む;
CDRL1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:25、26、および27の配列を含む;
CDRL1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:28、29、および30の配列を含む;または
CDRL1、CDR-L2、およびCDR-L3は、それぞれSEQ ID NO:31、32、および33の配列を含む、態様55～61のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
63.
SEQ ID NO:11または12のアミノ酸配列を含むVH領域;および
SEQ ID NO:13、14、15、16、または17のアミノ酸配列を含むVL領域
を含む、態様55～62のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
64.
VH領域がSEQ ID NO:11のアミノ酸配列を含む、態様63の抗体またはフラグメント。
65.
VH領域がSEQ ID NO:12のアミノ酸配列を含む、態様63の抗体またはフラグメント。
66.
抗体がCD19に特異的に結合する、態様55～65のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
67.
抗体が、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択されるリファレンス抗CD19抗体によって特異的に結合されるエピトープと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合する、態様66の抗体またはフラグメント。
68.
抗体が、CD19への結合に関して、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体と競合する、態様66の抗体またはフラグメント。
69.
態様55～68のいずれか一つの抗体またはそのフラグメントであるリファレンス抗体によってまたはFMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体によって特異的に結合されるエピトープと同じまたはオーバーラップするCD19のエピトープに特異的に結合するヒト抗体フラグメントであって、FMC63およびSJ25C1中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、ヒト抗体フラグメント。
70.
CD19に特異的に結合し、CD19への結合に関して、態様55～68のいずれか一つの抗体もしくはそのフラグメントであるリファレンス抗体またはFMC63およびSJ25C1からなる群より選択される抗CD19抗体であるリファレンス抗体と競合するヒト抗体フラグメントであって、FMC63およびSJ25C1中に存在するCDRとは異なる重鎖CDRおよび軽鎖CDRを含む、ヒト抗体フラグメント。
71.
CD19に対し、リファレンス抗体が結合に関してそれ自身と競合するのと少なくとも同じ程度に、またはリファレンス抗体による競合の1.5分の1もしくは2分の1を下回らない競合の程度まで、結合に関してリファレンス抗体と競合する、態様68または70の抗体。
72.
抗体が、FMC63およびSJ25C1からなる群より選択されるリファレンス抗体のCD19に対する結合アフィニティーと同程度に高いか実質上同程度に高い結合アフィニティーを有する、態様55～71のいずれか一つの抗体。

73.
リファレンス抗体の$EC_{50}$とほぼ同じかそれより低い$EC_{50}$、またはリファレンス抗体の$EC_{50}$の約1.5倍を上回らない、または約2倍を上回らない、3倍を上回らない、かつ/または10倍を上回らない$EC_{50}$の結合アフィニティーを有する、態様72の抗体。
74.
抗体がヒト抗体である、態様55～73のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
75.
抗体が組換え体である、態様55～74のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
76.
モノクローナルである、態様55～75のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
77.
一本鎖フラグメントである、態様55～76のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
78.
柔軟な免疫グロブリンリンカーによって連結された抗体可変領域を含むフラグメントである、態様55～77のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
79.
フラグメントがscFvを含む、態様77または78の抗体またはフラグメント。
80.
scFvがSEQ ID NO:34に示す配列を含むリンカーを含む、態様79の抗体またはフラグメント。
81.
scFvが、SEQ ID NO:2、4、6、8、または10に示すアミノ酸配列を含む、態様80の抗体またはフラグメント。
82.
免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分をさらに含む、態様55～81のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
83.
免疫グロブリン定常領域の前記少なくとも一部分がFc領域を含む、態様82の抗体またはフラグメント。
84.
Fc領域がヒトIgGのFc領域である、態様83の抗体またはフラグメント。
85.
CD19がヒトCD19である、態様55～84のいずれか一つの抗体またはフラグメント。
86.
態様55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメントを含む細胞外部分と細胞内シグナリングドメインとを含むキメラ抗原受容体。
87.
抗体またはフラグメントがscFvを含み、細胞内シグナリングドメインがITAMを含む、態様86のキメラ抗原受容体。
88.
細胞内シグナリングドメインが CD3-ゼータ（CD3ζ）鎖のゼータ鎖のシグナリングドメインを含む、態様87のキメラ抗原受容体。
89.
細胞外ドメインと細胞内シグナリングドメインとを連結する膜貫通ドメインをさらに含む、態様86～88のいずれか一つのキメラ抗原受容体。
90.
膜貫通ドメインがCD28の膜貫通部分を含む、態様89のキメラ抗原受容体。
91.
T細胞共刺激分子の細胞内シグナリングドメインをさらに含む、態様86～90のいずれか一つのキメラ抗原受容体。

92.
T細胞共刺激分子が、CD28および41BBからなる群より選択される、態様91のキメラ抗原受容体。
93.
態様86～92のいずれか一つのキメラ抗原受容体を発現する工学的に改変された細胞。
94.
T細胞である、態様93の工学的に改変された細胞。
95.
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に、態様93または94の細胞を投与する工程を含む、処置の方法。
96.
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に、態様55～85のいずれか一つの抗体を投与する工程を含む、処置の方法。
97.
疾患または障害がB細胞悪性疾患である、態様95または96の方法。
98.
B細胞悪性疾患が、B細胞慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ球性白血病（ALL）、前リンパ球性白血病、ヘアリー細胞白血病、コモン急性リンパ球性白血病、ヌル型急性リンパ芽球性白血病、非ホジキンリンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、多発性骨髄腫、濾胞性リンパ腫、脾性辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、緩徐進行性B細胞リンパ腫、およびホジキンリンパ腫からなる群より選択される、態様97の方法。
99.
態様55～85のいずれか一つの抗体または態様86～92のいずれか一つのキメラ抗原受容体をコードする核酸。
100.
態様55～85のいずれか一つの抗体、態様86～92のいずれか一つのキメラ抗原受容体、または態様93もしくは94の細胞を含む組成物。
101.
CD19に関連する疾患または障害を有する対象に態様100の組成物を投与する工程を含む、処置の方法。
102.
抗体またはフラグメントが、CD19の細胞外部分の一領域内の1つまたは複数のアミノ酸を含有するエピトープに特異的に結合する、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のいずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。
103.
抗体またはフラグメントが、CD19の細胞外部分の一領域内にあるエピトープに特異的に結合する、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のいずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。
103.
抗体またはフラグメントが、CD19の細胞外部分の領域からなるポリペプチド、もしくは本質的にCD19の細胞外部分の領域からなるポリペプチド、またはCD19の細胞外部分の前記領域を含むが、CD19の他の部分は全く含まないか、もしくは実質的に含まないポリペプチドに特異的に結合する、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のいずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。

104.
CD19の細胞外部分の前記領域が膜近位領域である、態様102～103のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
105.
CD19の細胞外部分の前記領域がCD19の第4エクソンによってコードされる部分またはSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置176～277に対応する部分である、態様102～104のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
106.
CD19の細胞外部分の前記領域が、CD19の細胞外部分の最も膜近位側100、90、80、75、70、65、60、55、50、45、44、43、43、41、または40アミノ酸部分からなるか、またはそれらを含む、態様102～105のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
107.
細胞外部分の領域が、CD19のIg様ドメイン1、CD19の第2エクソンによってコードされる部分、および/またはSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置20～117に対応する部分からなるか、またはそれらを含む、態様102～106のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
108.
任意で、態様105～107のいずれか一つで述べた細胞外領域の一部分のいずれかである、態様102～106のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
109.
抗体またはフラグメントが、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の残基218～249に対応するCD19の部分内の1つまたは複数のアミノ酸を含有するCD19のエピトープ、またはSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の残基218～249に対応するCD19の部分内にあるCD19のエピトープ、またはSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の残基218～249に対応するCD19の部分を含むCD19のエピトープに特異的に結合する、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のいずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。
110.
前記部分がSEQ ID NO:143に示す配列を含む、態様109の抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
111.
抗体またはフラグメントが、位置218のヒスチジン（H）、位置236のアラニン（A）、位置242のメチオニン（M）、位置243のグルタミン酸（E）、位置249のプロリン（P）、ならびに/または位置223および位置224のリジン（K）および/もしくはセリン（S）からなる群より選択されるSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置に対応する位置のアミノ酸およびそれらの組み合わせを含有するCD19のエピトープに特異的に結合する、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のいずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。
112.
位置218のヒスチジン（H）、位置236のアラニン（A）、位置242のメチオニン（M）、位置243のグルタミン酸（E）、位置249のプロリン（P）、ならびに/または位置223および位置224のリジン（K）および/もしくはセリン（S）からなる群より選択されるSEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の位置に対応する位置のアミノ酸およびそれらの組み合わせが、ヒトCD19に対する抗体の結合にとって必要または重要である、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のい

ずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。
113.
前記アミノ酸がSEQ ID NO:92中の対応する位置に存在するアミノ酸と同一である、態様111または112の抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
114.
前記アミノ酸が、ヒトCD19の位置218のヒスチジンに対応する位置のアミノ酸であるか、または当該アミノ酸を含み、任意で、該位置のアミノ酸がヒスチジンである、態様111～113のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
115.
前記アミノ酸が、ヒトCD19配列の位置236のアラニンに対応する位置のアミノ酸であるか、または当該アミノ酸を含み、任意で、該位置のアミノ酸がアラニンである、態様111～114のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
116.
前記アミノ酸が、ヒトCD19の位置242のメチオニンに対応する位置のアミノ酸であるか、または当該アミノ酸を含み、任意で、該位置のアミノ酸がメチオニンである、態様111～115のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
117.
前記アミノ酸が、ヒトCD19の位置243のグルタミン酸に対応する位置のアミノ酸であるか、または当該アミノ酸を含み、任意で、該位置のアミノ酸がグルタミン酸である、態様111～116のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
118.
前記アミノ酸が、ヒトCD19の位置249のプロリンに対応する位置のアミノ酸であるか、または当該アミノ酸を含み、任意で、該位置のアミノ酸がプロリンである、態様111～117のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
119.
前記アミノ酸が、ヒトCD19の位置223および224のリジンおよび/またはセリンに対応する位置の一方もしくは両方のアミノ酸であるか、または当該アミノ酸を含む、態様111～118のいずれか一つの抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
120.
抗体またはフラグメントが、リファレンス抗体によって特異的に結合されるエピトープとオーバーラップするエピトープ、またはリファレンス抗体によって特異的に結合されるエピトープと同一であるエピトープ、またはリファレンス抗体によって特異的に結合されるエピトープを含むエピトープに特異的に結合し、前記オーバーラップする部分が、（a）SEQ ID NO:143を含むCD19の部分、（b）SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の残基218～249に対応するCD19の部分、または（c）ヒトCD19のエクソン4によってコードされるCD19の領域に対応するCD19の部分を含むか、前記（a）～（c）内にあるか、または（d）ヒトCD19の75個または80個の最も膜近位の残基に対応する部分内にある、態様1～38または55～85のいずれか一つの抗体またはフラグメント、態様39～45または86～92のいずれか一つのCAR、態様46、47、93、および94のいずれか一つの細胞、項48～51、54、95～98、および101のいずれか一項記載の方法、態様52または99の核酸、または項53および100のいずれか一項記載の組成物。
121.
リファレンス抗体がFMC63であるか、リファレンス抗体がSJ25C1である、態様120の抗体、フラグメント、細胞、方法、核酸、または組成物。
【実施例】
【０３８７】
V.実施例
以下の実施例は、例示を目的として含めるのであって、発明の範囲を限定しようとするものではない。

【０３８８】

実施例1:抗CD19抗体の作製および評価

マウス抗CD19リファレンス抗体と類似する結合特性でCD19発現細胞に特異的に結合し、かつ/または結合に関してマウス抗CD19リファレンス抗体と競合する、例示的抗CD19抗体を作製し評価した。

【０３８９】

1A.ライブラリー選択、抗体作製

無細胞系でディスプレイさせたdsDNAコードヒトナイーブ抗体ライブラリー上で一連の選択工程を実行することによって、例示的抗CD19抗体（scFv）を作製した。$V_H$ライブラリーの構成要素を、生細胞への結合について、連続する3ラウンドで選択し、安定トランスフェクトCD19発現HEK293細胞に特異的に結合するが、CD19を発現しない親HEK293細胞および/またはCHOK1細胞には特異的に結合しない構成要素を濃縮した。各選択ラウンドの最後に、（a）標的細胞から結合物質を回収するための表面ストリッピング、（b）マウス抗CD19抗体FMC63 IgGを使った競合溶出、および（c）別のマウス抗CD19抗体SJ25C1を使った競合溶出（（b）および（c）は、CD19への結合に関してFMC63および/またはSJ25C1と競合する結合物質を濃縮するために実行した）によって、3つの別々の溶出プールを作製した。

【０３９０】

3ラウンドの選択が終わったら、次に、濃縮されたこれらの$V_H$ライブラリーを、これら各プールの$V_H$構成要素とナイーブヒト$V_L$ライブラリーの構成要素とを$V_H$-（G4S）$_3$-$V_L$フォーマットでシャフリングすることによって、scFvライブラリーに変換した。結果として得られたscFvライブラリーを4ラウンド目に付して、CD19発現HEK293細胞には特異的に結合し、親細胞には特異的に結合しない構成要素について濃縮した後、表面ストリッピングを行った。

【０３９１】

他のCD19発現細胞（CD19/K562）に結合する構成要素をさらに濃縮するために、第5ラウンドを実行した。選択後に、（a）表面ストリッピング、（b）FMC63競合溶出、または（c）SJ25C1競合溶出を使って、別々の溶出プールを作製した。第6ラウンドでは、これら3つのプールを個別に、親細胞（HEK293、2回、K562）に結合しない構成要素の陰性選択と、それに続くCD19発現HEK293細胞に結合する構成要素の陽性選択、およびHEK293細胞上に発現したCD19上のC末端タグを認識する抗Myc抗体による免疫沈降によって、さらに濃縮した。

【０３９２】

ある研究では、得られた3つのR6 scFvプールのそれぞれから48個のクローンを、フォワードプライマーおよびリバースプライマーを使って配列決定することで、アミノ酸配列を決定した。決定されたscFv配列のうち130個は完全長の読み取りを示した。配列間に収れんが観察された。130個のscFv配列の中に18のレプリケートが同定された（130個のクローンのうちの46個に相当）。この研究では、CDR1～3およびFR1～3を含有する1つの$V_H$部分配列が、異なるプールのうちの2つに14回検出され（一方のプールからの10コピーおよび他方のプールからの4コピー）、それらは5つの異なる$V_L$とペアになっていた。別のレプリケートは異なるプール中に2～5回同定され、その他は単一コピーの配列であった。別の研究では、さらなるCD19結合クローンが同定され、配列決定された。それらには同じ$V_H$部分が異なる$V_L$配列を伴って見いだされた。

【０３９３】

1B.CD19発現細胞への特異的結合

配列決定したクローンの、CD19発現HEK293細胞および対照HEK293細胞への結合を、CD19を発現しない細胞との比較で、インビトロ翻訳粗細胞溶解物または細菌産生上清のどちらかを使って、フローサイトメトリーによって評価した。簡単に述べると、各クローンのRNAを標準化し、C末端FLAGタグを持つ粗scFvとしてインビトロ翻訳した。アッセイではCD19発現HEK293細胞および対照（モックトランスフェクト）HEK293細胞を使用した。CD19細胞および対照細胞への個々のscFvの結合を、二次抗FLAG-Alexa647コンジュゲートを使って

測定した。あるいは、scFv結合プールを大腸菌（E.coli）発現ベクターにクローニングし、HISタグ付きscFvとして生産し、それをフローサイトメトリーアッセイにおいて抗HIS-Alexa647コンジュゲートで検出した。マウス抗CD19抗体（FMC63 scFvおよびFMC63 IgG）を陽性対照として使用し、対照scFvも使用した。フローサイトメトリーによって平均蛍光強度（MFI）を評価した。結果を図1Aおよび図1Bに示す。これらの図は、同定されたクローンのCD19発現細胞への結合を実証している。評価したクローンの中に、CD19陰性細胞と比較してCD19発現細胞に対して明白な結合選好を呈するクローン5、17、18（インビトロ翻訳溶解物で同定された）および76（細菌上清で同定された）を含むscFvがあった。

【０３９４】

図1Aおよび図1Bに示すように、いくつかのクローンについては、CD19非発現細胞と比較して、CD19発現細胞に対して、検出される結合の程度の倍率変化（この場合は平均蛍光強度によって測定されるもの）が、陽性対照リファレンス抗体であるマウス抗CD19抗体FMC63 scFvおよび/またはFMC63 IgGについて観察される倍率変化と比較して、ほぼ同じくらい大きいか、少なくとも同じくらい大きいか、またはそれより大きかった。場合により、CD19発現細胞に対する観察された結合の総合的程度は、陽性対照リファレンス抗体の1つまたは複数について観察されるものと比較して、およそ同じであるか、少なくとも同じくらい大きいか、またはそれより大きかった。

【０３９５】

CD19非発現細胞に比べてCD19発現細胞に対して明白な結合選好を呈した4種類のscFvクローン（「クローン18」、「クローン17」、「クローン5」、および「クローン76」）をさらに解析した。配列決定により、これらのクローンはそれぞれの$V_H$配列内に共通するCDR配列を有し、$V_L$配列およびCDR-Lは異なることが明らかになった。前記4種類のクローンについて、例示的scFv、$V_H$、$V_L$、およびCDR（Kabat）アミノ酸配列、およびコードしているヌクレオチドscFv配列を含む配列に対応する配列識別子を、表2に列挙する。Kabat位置89におけるシステイン（C）からセリン（S）への置換によって、クローン18の生殖細胞系変異体（「クローン18B」とみなす）を作製した。このクローンの配列も表2に列挙する。これらのクローンのそれぞれは$V_H$3鎖配列を持っていた。クローン18は、Vλ2配列由来の軽鎖フレームワークを含んでいた（クローン18BはVλ2生殖細胞系フレームワーク配列を有する）;クローン17およびクローン76はVλ1配列を有し、クローン5はVλ3配列を含んでいた。クローン18およびクローン17は、$V_H$-$V_L$シャフリングおよびscFvを含む複数のブランチおよびライブラリーから得られた。クローン76は$V_H$-$V_L$ SJ25C1競合溶出（第6ラウンド）から得られた。クローン5は$V_H$-$V_L$ FMC63競合溶出（第6ラウンド）から得られた。

【０３９６】

（表２）例示的クローンの配列（SEQ ID NO:）

| クローン番号 | 重鎖可変(VH)領域(アミノ酸) | 軽鎖可変(VL)領域(アミノ酸) | scFv配列(アミノ酸、ヌクレオチド) | CDR-H (1, 2, 3) (Kabat)(アミノ酸) | CDR-L (1, 2, 3) (Kabat)(アミノ酸) |
|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 12 | 17 | 10 | 18, 19, 20 | 31, 32, 33 |
| 17 | 12 | 15 | 6 | 18, 19, 20 | 25, 26, 27 |
| 18 | 11 | 13 | 2 | 18, 19, 20 | 21, 22, 23 |
| 18B | 11 | 14 | 4 | 18, 19, 20 | 21, 22, 24 |
| 76 | 11 | 16 | 8 | 18, 19, 20 | 28, 29, 30 |

【０３９７】

1C.結合アフィニティー、リファレンス抗体との競合

クローン5、17、18、18B、および76を一段階精製によって精製し、精製をSDSゲルによって評価した。例示的研究からのゲルを図2に示す（レーン1および2＝クローン5、非還元、還元;レーン3および4＝クローン17、非還元、還元;レーン5および6＝クローン18、非還元および還元;レーン7および8＝クローン76、非還元および還元）。この研究において、等電点は、クローン5、17、18、および76について、それぞれ5.36、5.32、7.11、および5.32と測定された。

【０３９８】

BioTad CFX96計器を使って、温度を漸増させながらシプロオレンジ（sypro orange）タンパク質の組み込を分析することによって、融解温度（$T_m$）測定を行ったところ、リファレンス抗体FMC63 scFvで観察されるものと類似する$T_m$値が明らかになった。結果を表3に提示する。

【０３９９】

（表３）$T_m$の評価

| クローン、条件 | $T_m$ (°C) |
|---|---|
| 5,イミダゾール | 53 |
| 5, pH 6 | 61 |
| 5, pH 7 | 57 |
| 5, pH 8 | 57 |
| 17 | 51 |
| 18 | 59 |
| 18B | 59 |
| FMC63 scFv | 56 |

【０４００】

クローンをタイトレートして、CD19発現K562細胞に対するそれらの結合アフィニティー（$EC_{50}$）をフローサイトメトリーによって評価した。ここではリファレンスマウスCD19抗体FMC63 scFvを陽性対照として使用した。3回の独立したアッセイ（これらは、それぞれがクローン18の結合アフィニティーを含むと共に、他の結合アフィニティーをクローン18のものと比較している）からの結果を、図3A～3Cに示す。

【０４０１】

図3Aに結果を示すアッセイでは、クローン18、クローン17、この研究によって同定された別のクローン（クローン192とみなす;表6の配列を参照のこと）およびリファレンス抗体（FMC63 scFv）の$EC_{50}$値が、それぞれ3.79nM、14.86nM、12.80nM、および7.37nMと測定された。図3Bに結果を示すアッセイでは、クローン18、クローン18B、およびクローン76の$EC_{50}$値が、それぞれ7.1nMおよび9.3nMおよび7.9nMと測定された。図3Cに結果を示すアッセイでは、クローン18およびクローン76の$EC_{50}$値が、それぞれ4.1nMおよび8.8nMと測定された。

【０４０２】

このように、アッセイしたクローンのそれぞれは、リファレンス抗体のアフィニティーに類似するアフィニティーで、CD19発現細胞に特異的に結合し、例えばリファレンス抗体のEC50とほぼ同じもしくはそれより低いか、またはリファレンス抗体の$EC_{50}$の約1.5倍以下、または約2倍以下、または約3倍以下の$EC_{50}$を有した。

【０４０３】

別のアッセイでは、クローン18、5、17、同定された別のクローン（161、170、1（表6の配列情報参照））、および陽性対照リファレンス抗体FMC63 scFv（1枚のプレート）、ならびにクローン18、同定された別のクローン（177、184、192、198）、および陽性対照リファレンス抗体FMC63 scFv（もう1枚のプレート）を、同じアッセイによって評価した。結果を図4に提示する。前記2枚のプレートで観察された$EC_{50}$値を表4Aおよび4Bに提示する。ここに示すように、クローンは、リファレンス抗体の結合アフィニティーに匹敵する結合アフィニティーを有することがわかった。

【０４０４】

（表４Ａ）

| | クローン18 | クローン5 | クローン17 | 例示的追加クローン (クローン161, 170, 1) | FMC63 scFv |
|---|---|---|---|---|---|
| $EC_{50}$(nM) | 4.79 | 15.84 | 8.32 | 52.26, 96.68, 213.80 | 5.06 |

（表４Ｂ）

| | クローン18 | 例示的追加クローン<br>(クローン177, 184, 192, 198) | FMC63 scFv |
|---|---|---|---|
| $EC_{50}$(nM) | 3.11 | 53.33, 113.90, 12.02, 13.21 | 5.83 |

【０４０５】

CD19発現細胞への結合に関するさまざまな抗体の競合を評価するために、競合結合アッセイを行った。あるアッセイでは、Ramos細胞への0.5nM（約$EC_{50}$）のFITC標識SJ25C1の結合を、さまざまな濃度の非コンジュゲート競合物質FMC63 IgGまたは対照IgGの存在下または非存在下で評価した。ここでは結合をフローサイトメトリー（平均蛍光強度）によって評価した。結果を図5Aに示す。この図は、この研究ではFMC63 IgGがCD19への結合に関してSJ25C1 IgG1と競合することを示しており、SJ25C1とFMC63とはオーバーラップするCD19のエピトープ、例えば共通するエピトープに結合したことが示唆される。別のアッセイでは、CD19発現細胞を、さまざまな濃度のクローン18 scFv、FMC63 scFv（陽性対照）および対照scFv（陰性対照）の存在下（または非存在下）で、標識FMC63 IgGと共にインキュベートした。結果を図5Bに示す。図示するように、クローン18 scFvとFMC63 scFvはどちらもCD19発現細胞への結合に関して、同等の$IC_{50}$値（それぞれ24.0nMおよび19.8nM）で、FMC63 IgGと競合する（しかし陰性対照scFvは競合しない）ことがわかった。これはクローン18が、FMC63によって認識されるエピトープとオーバーラップするCD19のエピトープに結合し、結合に関してリファレンス抗体と同程度に競合したことを示している。

【０４０６】

別のアッセイでは、10nM（$EC_{50}$）のAlexa647標識FMC63 scFvを、さまざまな濃度のクローン18 scFv、クローン18B scFv、クローン17 scFv、クローン76 scFv、リファレンス抗体（FMC63 scFv）および陰性対照抗体（R12）の存在下または非存在下で、CD19発現K562細胞と共にインキュベートした。結果を図6に提示する。クローンおよびリファレンス抗体は、CD19への結合に関してFMC63 scFvとの競合を呈したが、陰性対照抗体は呈さず、リファレンス抗体による自身との競合は、試験したクローンについて観察された競合と類似していた。

【０４０７】

総合すると、いくつかの研究において、表5に列挙するとおり、以下の$EC_{50}$（結合アフィニティー）値および$IC_{50}$（競合）値がさまざまなクローンについて観察された。ここに示すように、同定されたヒトCD19抗体には、リファレンス抗体自身と比較して、CD19に対して類似する程度の結合アフィニティーとマウス抗CD19リファレンス抗体に対して類似する程度の競合阻害とを有するもの、例えばほぼ同じか、それより低いか、または1.5倍、2倍、もしくは3倍以下の$EC_{50}$および/または$IC_{50}$を有するものがあった。

【０４０８】

（表５）例示的結合研究からのデータの要約

| クローン/抗体 | $EC_{50}$ (CD19-発現細胞)<br>(nM) | $IC_{50}$ (nM)<br>(結合に関するFMC63との競合) |
|---|---|---|
| クローン 18 | 4.1 ± .57 (n=7) | 20.1 ± 9.8 (n=3) |
| クローン 18B | 5.4 ± 1.3 (n=5) | 28 (n=1) |
| クローン 76 | 8.04 ± 0.3 | 18.2 ± 1.5 (n=2) |
| クローン 17 | 11.7 ± 1.9 | 35.4 ± 3.9 (n=2) |
| クローン 5 | 15.8 (n=1) | 50 (n=1) |
| FMC63 | 6.1 ± 1.2 (n=6) | 20.5 ± 6.7 (n=3) |

【０４０９】

1D.サイズ排除クロマトグラフィー

クローン18Bの生物物理学的性質をサイズ排除クロマトグラフィーによって評価した。HiLoad 16/600 Superdex 200カラムを較正し、Bio-Radゲル濾過標準150～1901kDaタンパク質を注入し、1.5mL/分でフラクションを収集することにより、リファレンスを作成した。770μgのクローン18B scFvをカラムに注入し、同じ条件下でフラクションを収集した。結

果を図7に示す（図7A＝標準;図7B＝クローン18B）。クローン18B scFvに関する結果は単一ピークを示し、観察された大サイズ凝集物はごくわずかだった。

【０４１０】

実施例2:さらなる抗CD19抗体の作製および評価

マウス抗CD19リファレンス抗体に類似する結合特性を有する（かつ/または結合に関してマウス抗CD19リファレンス抗体と競合する）さらなる例示的抗CD19抗体（scFvフラグメント）を作製し、評価した。

【０４１１】

2A.ライブラリー選択、抗体作製

それぞれが無細胞系でディスプレイされたdsDNAコードヒト抗体ライブラリーで実行される一連の選択工程を伴う2つの異なる選択アプローチによって、さらなる例示的抗CD19 scFvを作製した。

【０４１２】

一方のアプローチ（「クローン18 CDR3移植」とみなす）では、実施例1で同定されたクローン中に存在する重鎖CDR3（CDR-H3）配列

(SEQ ID NO: 20, DQGYHYYDSAEHAFDI)

を、ヒトナイーブ$V_H$ライブラリーフレームワーク中に移植した。その結果生じたCDR3移植$V_H$ライブラリーの構成要素をナイーブヒト$V_L$ライブラリーの構成要素とシャフリングすることで、$V_H$-（G4S）3-$V_L$フォーマットとしてscFvライブラリーを作製した。その結果生じたscFvライブラリーを、CD19発現HEK293細胞に特異的に結合し親細胞には特異的に結合しない構成要素を濃縮するために、3ラウンドの選択に付し、次いで第1ラウンド（R1）については表面ストリッピングを行い、第2ラウンド（R2）については免疫沈降およびオフレート（off-rate）を行った。

【０４１３】

別のアプローチ（「FMC63ガイド選択」とみなす）では、2つの初期scFvライブラリーを、それぞれ、（a）ナイーブ$V_H$ライブラリーの構成要素をFMC63の$V_L$領域とシャフリングすることによって、および（b）ナイーブ$V_L$ライブラリーの構成要素をFMC63の$V_H$領域とシャフリングすることによって作製した。（a）および（b）からのライブラリー構成要素を、親FMC63 $V_H$または$V_L$のガイダンスの下に、CD19結合性について濃縮するために、それぞれ2ラウンドおよび3ラウンドの選択を行った後、結合分子を表面ストリッピングによってCD19/HEK293細胞から溶離させ（R1）、FMC63溶出によってCD19/K562細胞から溶出させた（R2およびR3）。（a）における選択からの$V_H$配列を（b）における選択から得られた$V_L$配列とシャフリングすることによって、第3のscFvライブラリーを作製した。さらに3ラウンドの選択を、CD19/HEK293細胞で実行して表面ストリッピングを行い（R1）、次にCD19/K562細胞で実行してFMC63溶出を行い（R2）、さらにCD19/HEK293細胞で実行して免疫沈降を行った（R3）。選択されたscFvクローンによるCD19発現細胞への結合を、細菌が生産した上清を使って、フローサイトメトリーによって確認した。選択されたscFvプールを大腸菌発現ベクター中にクローニングし、HISタグ付きscFvとして生産した。抗HIS-Alexa647コンジュゲートを使用し、フローサイトメトリーによって、CD19トランスフェクトHEK293細胞への個々のクローンの結合を検出した。クローン18またはクローン18Bを陽性対照として、さまざまな陰性対照と共に使用した。結果を図8A～Cに示す（MFI＝平均蛍光強度）。

【０４１４】

図8Dに示す結果は、例示的な23のヒット（図8A～Cにおいてアスタリスクで印をつけたもの。CDR3移植アプローチによって同定された4つのヒットと、FMC63ガイド選択による19のヒットを表す）によるCD19特異的結合を確証している。インビトロ翻訳されたFLAGタグ付きscFvのCD19発現K562細胞への結合を、対照（擬似トランスフェクト）K562細胞と比較して、実施例1で述べたようにフローサイトメトリーによって評価した。ここに示すように、これらのクローンはCD19発現細胞に特異的に結合した。

【０４１５】

実施例1および実施例2の選択アプローチによって作製されたこれらおよび追加のCD19特

異的scFvクローンを、さらに評価した。配列決定により、さまざまな異なる軽鎖配列を有し、実施例1で述べたscFv中にも存在する共通のCDR-H3配列（SEQ ID NO:20）を持つ、数種類のCD19特異的結合抗体（scFv）が明らかになった。追加のCD19結合性scFvのさまざまな配列に対応する配列識別子を、scFv、$V_H$、$V_L$、およびCDR（Kabat）アミノ酸配列（およびコードしているscFvヌクレオチド配列）を含めて、表6に列挙する。CD19特異的scFvクローンの中には、数種類の異なる軽鎖可変配列およびCDR配列を有するものがあり、それらの一部はSEQ ID NO:11中に存在するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3、SEQ ID NO:18、19、および/もしくは20の配列を有するCDR-H1、CDR-H2、および/またはCDR-H3、ならびに/または18、72、および20の配列を有するCDR-H1、CDR-H2、および/もしくはCDR-H3を有していた。表6に列挙したクローンのそれぞれはヒト$V_H$3フレームワークに由来した（クローンが由来するカッパおよびラムダ遺伝子Vセグメントを示す）。

【０４１６】

（表６）例示的クローンの配列（SEQ ID NO:）

| クローン番号 | 重鎖可変($V_H$)領域（アミノ酸） | 軽鎖可変($V_L$)領域（アミノ酸） | scFv配列（アミノ酸,ヌクレオチド） | CDR-H (1, 2, 3) (Kabat)（アミノ酸） | CDR-L (1, 2, 3) (Kabat)（アミノ酸） | 軽鎖フレームワークの由来源 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 488 | 63 | 71 | 45, 44 | 18, 72, 20 | 80, 100, 109 | Vκ3 |
| 1304 | 62 | 68 | 47, 46 | 18, 72, 20 | 77, 97, 106 | Vκ1 |
| 285 | 11 | 65 | 49, 48 | 18, 19, 20 | 74, 94, 103 | Vλ2 |
| 192B | 60 | 64 | 51, 50 | 18, 19, 20 | 73, 93, 101 | Vλ2 |
| 328 | 61 | 66 | 53, 52 | 18, 19, 20 | 75, 95, 104 | Vλ2 |
| 227 | 63 | 70 | 55, 54 | 18, 72, 20 | 79, 99, 108 | Vκ1 |
| 1300 | 62 | 69 | 57, 56 | 18, 72, 20 | 78, 98, 107 | Vκ1 |
| 1 | 12 | 67 | 59, 58 | 18, 19, 20 | 76, 96, 105 | Vλ1 |
| 192 | 12 | 91 | 87, 86 | 18, 19, 20 | 73, 93, 102 | Vλ2 |
| 241 | 63 | 90 | 89, 88 | 18, 72, 20 | 77, 97, 106 | Vκ1 |

【０４１７】

2B.精製および評価

上述のクローンを、表6に列挙したクローンおよび/または実施例1で述べたクローンを含めて、一段階精製で精製し、精製をSDSゲルによって評価した。結果を図9に提示する（レーン1＝MWマーカー;レーン2、9、および10＝クローン5（1530、2880、1130μg/mL）;レーン3＝クローン18B（660μg/mL）;レーン4、11、12、および13＝クローン17（300、1060、180、1440μg/mL）;レーン5＝クローン192B（1580μg/mL）;レーン6および14＝クローン76（1340、3220μg/mL）;レーン7＝クローン835（470μg/mL）;レーン8＝クローン488（340μg/mL））。実施例1で述べたように融解温度（$T_m$）測定を行ったところ、リファレンス抗体および実施例1のクローンについて観測されたものと類似する$T_m$値が明らかになった（表7）。

【０４１８】

（表７）$T_m$の評価

| クローン | $T_m$ (°C) |
|---|---|
| 5 | 58 |
| 18B | 57 |
| 17 | 52 |
| 192B | 64 |
| 76 | 51/59 |
| 488 | 63 |
| 285 | 68 |
| 227 | 60 |

【０４１９】

さまざまなクローンをタイトレートして、さまざまなCD19発現細胞に対するそれらの結

合アフィニティー（EC50）を、フローサイトメトリーによって評価した。FMC63 scFvリファレンス抗体を陽性対照として使用した。さまざまなCD19特異的scFvクローンについて結合アフィニティーを評価する5回の独立したアッセイからの結果を図10A～10Eに示す。図に示すように、選択は、さまざまな結合アフィニティーと、ある範囲の可飽和結合活性とを持ついくつかのCD19特異的scFvクローンをもたらした。

【０４２０】

実施例1で述べたように競合結合アッセイを行って、同定されたさまざまな抗体（scFvクローン）の、CD19発現細胞への結合に関してマウスリファレンス抗体と競合する能力を評価した。ある例では、CD19発現細胞を、さまざまな濃度の、異なる軽鎖配列を有し共通する重鎖CDR3を持つ表示のscFvクローン（またはFMC63 scFv（陽性対照））の存在下で、10nM標識FMC63 scFvと共にインキュベートした。図11に示す結果から、これらのクローンはCD19発現細胞への結合に関してFMC63 scFvとさまざまな$IC_{50}$値で競合することが実証された。同様の研究を実行して、実施例1および実施例2で述べたスクリーニングアプローチにおいて同定された他のクローンの性質を評価した。さまざまなCD19結合抗体（scFv）について観測された$EC_{50}$（結合アフィニティー）値および$IC_{50}$（競合）値を表8に列挙する。クローン79、835、184、505、506、および305のCDR-L3配列を、それぞれSEQ ID NO:116、117、118、119、120、および121として示す。

【０４２１】

（表８）さまざまな結合アッセイおよび競合アッセイの結果

| クローン/抗体 | $EC_{50}$ (CD19-発現細胞) (nM) | $IC_{50}$ (nM) (結合に関するFMC63との競合) |
|---|---|---|
| クローン 18B | 4.9 ± 0.8 (n=7) | 32.9± 3.2 (n=3) |
| クローン 17 | 11.6 ± 1.1 (n=5) | 35.4 ± 3.9 (n=2) |
| クローン 76 | 7.0 ± 1.4 (n=5) | 18.2 ± 1.5 (n=2) |
| クローン 5 | 15.8 (n=1) | 50 (n=1) |
| クローン 192B | 7.7 ± 1.4 (n=3) | 15.7 ± 2.5 (n=3) |
| クローン 488 | 2.9 ± 0.4 (n=4) | 6.1 ± 0.7 (n=6) |
| クローン 79 | 65.7 (n=1) | 102.5 (n=1) |
| クローン 835 | 71.8 (n=1) | >200 |
| クローン 184 | 113.9 (n=1) | N/A |
| クローン 505 | 138.9 (n=1) | N/A |
| クローン 506 | 179.3 (n=1) | N/A |
| クローン 1 | 213.8 (n=1) | N/A |
| クローン 241 | 5.2 ± 0.1 (n=2) | 14.6 ± 2.7 (n=3) |
| 1300 | 1.3 ± 0.1 (n=3) | 3.9 ± 0.5 (n=2) |
| 227 | 31.8 ± 5.3 (n=3) | 56.1 ± 3.9 (n=2) |
| 285 | 2.5 ± 0.5 (n=4) | 9.4 ± 1.4 (n=3) |
| 305 | 32.2 ± 6.9 (n=2) | > 500 (n=2) |
| 328 | 10.9 ± 4.6 (n=4) | 32.9 (n=1) |
| FMC63 | 6.0 ± 0.8 (n=9) | 15.0 ± 2.8 (n=10) |

【０４２２】

同定されたヒトCD19抗体（scFvフラグメント）のうちの多くが、マウス抗CD19リファレンス抗体FMC63と比べて類似するまたはより高度の、CD19に対する結合アフィニティー（例えば類似するまたは低い$EC_{50}$値）を示した。多くが、自分自身と競合するリファレンス抗体の能力と比較して類似するまたはより高度の、CD19結合に関するマウス抗CD19リファレンス抗体との競合（例えば類似するまたは低い$IC_{50}$値）も示した。

【０４２３】

例えば、クローンでは、リファレンス抗体の$EC_{50}$値と比較して低いか、ほぼ同じであるか、1.5倍以下、2倍以下、もしくは3倍以下またはその前後である$EC_{50}$値が観察された。同様に、同定された抗CD19抗体（scFv）のうちのいくつかは、CD19発現細胞への結合に関して、FMC63 scFvで観測される$IC_{50}$値より低い$IC_{50}$値、FMC63で観測される$IC_{50}$値とほぼ同じ$IC_{50}$値、または1.5倍以下もしくは2倍以下もしくは3倍以下である$IC_{50}$値（例えばリ

ファレンス抗体による競合の1.5分の1以上または2分の1以上または3分の1以上である競合の程度）で、標識FMC63 scFvと競合することがわかった。これらの結果から、これらの研究では、FMC63によって特異的に結合されるエピトープとオーバーラップするCD19のエピトープに結合する抗体が複数同定されたことが示された。

【０４２４】

実施例3:CD19に対するキメラ抗原受容体（CAR）の作製およびそのようなCARを発現する細胞の工学的作製

実施例1で述べたヒト抗CD19 scFvを含有する抗原結合領域を持つさまざまな例示的キメラ抗原受容体（CAR）を作製した。具体的には、以下のクローンに由来しかつ表示の配列識別子に示すアミノ酸配列を有するscFvを（VH-VLフォーマットで）持つCARをコードする核酸分子を作製した:クローン18（SEQ ID NO:2）、クローン18B（SEQ ID NO:4）、クローン17（SEQ ID NO:6）、クローン76（SEQ ID NO:8）、およびクローン5（SEQ ID NO:10）。加えて、各クローンについて、同じVH配列およびVL配列であるが逆の配向（VL-VH）で存在するものを有するCARをコードするコンストラクトも作製した。FMC63由来の（VH-VL配向の）マウス抗CD19 scFvを含有するCARを対照として使用した。各CARはさらに、Ig由来のスペーサー;ヒトCD28由来の膜貫通ドメイン;ヒト4-1BB由来の細胞内シグナリングドメイン;およびヒトCD3ゼータ由来のシグナリングドメイン、自己切断性T2A配列によってCAR配列から分離された、形質導入マーカーとして使用するための切断型EGFR（EGFRt）配列を含んでいた。

【０４２５】

さまざまなCARを発現する初代ヒトT細胞集団を作製した。各CARをコードする核酸分子をレンチウイルスベクター中に個別にクローニングし、それを使って、健常ドナーから得たヒトPBMC試料から単離された集団中のCD4＋およびCD8 T細胞に形質導入した（本質的にYam et al.（2002）Mol. Ther. 5:479、WO2015/095895に記載のとおり）。

【０４２６】

形質導入および増殖後に、抗EGFR抗体による染色を使って、フローサイトメトリーにより、CD4＋およびCD8＋ T細胞の表面におけるEGFRt形質導入マーカーの発現を検証した。図12AはCD8＋ 細胞におけるさまざまなCARの発現に関する代表的結果であり、類似する結果がCD4＋ 細胞にも観察された。抗CD247（CD3ゼータ）抗体（いずれの場合も、これによって、CARに相当する約50kDのバンドと、細胞中に存在する内在性CD3ゼータ鎖に相当する約18kDaのバンドとが検出された）を用いるウェスタンブロッティングによってCARタンパク質発現を確認した（図12B）。これらの結果により、さまざまなヒトscFv含有CARコンストラクト（VH-VL配向およびVL-VH配向を含む）および対照（マウス、FMC63由来）CARコンストラクトのそれぞれについて、初代T細胞集団における同等な形質導入およびCARタンパク質発現の程度が実証された。形質導入に付さなかった細胞ではEGFRt発現は検出されなかった。ウェスタンブロッティングの結果から、VH-VL配向であるクローン76由来のCARは、異なるグリコシル化型で存在することが確認された。

【０４２７】

図12Aに示すように、T細胞集団は、Yam et al. (2002) Mol. Ther. 5:479; WO2015/095895に本質的に記載されているように、抗EGFR抗体による染色、フローサイトメーターでの選別、およびCD19＋ B-リンパ芽球様細胞株（B-LCL）由来の照射（8,000ラド）細胞の存在下での刺激により、形質導入細胞がうまく濃縮された（100％EGFRt＋またはそれに近いとフローサイトメトリーによって確認された）。

【０４２８】

実施例4:抗CD19キメラ抗原受容体（CAR）を発現するように工学的に改変されたT細胞のエフェクター機能のインビトロでの評価

実施例3で述べたように生産された、ヒト抗CD19 scFvを含有するさまざまなCARを発現する遺伝子改変ヒトT細胞（CD8＋またはCD4＋）を、CD19発現細胞と共培養した後のさまざまな応答について評価した。

【０４２９】

A.細胞溶解活性

CD19発現ターゲット細胞を、さまざまなCARを発現するCD8＋ T細胞と共に、また別個にEGFRtのみを形質導入した細胞（陰性対照）と共に、インキュベートした。インキュベーション後に、ターゲット細胞の溶解をモニタリングした。具体的には、CD19形質導入K562細胞（K562/CD19）、Raji（CD19＋ B細胞リンパ腫株）細胞、および非形質導入K562対照細胞（陰性対照）（図13A）ならびに初代ヒト慢性リンパ球性白血病細胞（CLL;図13B）の溶解を試験した。

【０４３０】

ターゲット細胞（K562/CD19、Raji、非形質導入K562対照細胞またはCLL）を$^{51}$Crで一晩標識した。標識された細胞を洗浄し、三つ組で、エフェクターT細胞（CAR発現CD8＋ 細胞および陰性対照CD8＋ 細胞）と共に、30:1のエフェクター対ターゲット（E:T）比でインキュベートした。自発的溶解を測定するためにターゲット細胞を等体積の培地と共にエフェクター細胞なしでインキュベートした。また、ターゲット細胞を完全に溶解するためにターゲット細胞を洗剤と共にインキュベートした後に、最大溶解を決定した。4時間のインキュベーション後にγ計数のために上清を収穫した。その実験条件での特異的溶解率（％）を、

［（実験的放出-自発的放出）/（最大放出-自発的放出）］×100

として算出した。

【０４３１】

結果を図13Aおよび図13Bに示す。図13Aに示すように、さまざまなヒト抗CD19 scFv含有CARを発現する工学的に改変されたCD8＋ T細胞は、CD19＋細胞に対する抗原特異的細胞溶解活性を、マウス抗CD19（FMC63）scFvを含有するCARを発現する細胞と同等程度に呈した。この細胞傷害活性は、CD19を発現しない対照K562細胞に対しては観察されなかった。ヒトscFvをVH-VL配向（HL）で持つCARを発現する細胞で観察される細胞溶解活性の程度は、マウスscFv含有CARを発現する細胞で観察されたものと同等か、それ以上であることがわかった。所与のヒトscFvをVH-VL（HL）配向で持つCARを発現する細胞で観察される細胞溶解活性の程度は、対応するscFvを逆のVL-VH配向（LH）で持つCARを発現する細胞で観察されるものより、一般に大きかった。図13Bに示すように、結果は、さまざまなヒト抗CD19 scFv含有CAR（VH-VL配向）を発現する工学的に改変されたCD8＋ 細胞による、初代ヒトCLL細胞に対する抗原特異的細胞溶解活性も観察されることを示した。

【０４３２】

B.サイトカイン放出

CAR発現細胞を抗原発現ターゲット細胞および対照ターゲット細胞と共にインキュベートした後に、サイトカイン放出を評価した。形質導入されたCD8＋およびCD4＋ T細胞を、三つ組で、ターゲット細胞（K562、K562/CD19、Raji）と2:1のエフェクター対ターゲット（E:T）比で共培養した。形質導入CD8＋ 細胞を初代ヒト慢性リンパ急性白血病細胞（CLL）と共培養した後のサイトカイン分泌も、同様に試験した。共培養細胞を約24時間インキュベートし、次に、マルチプレックスサイトカインイムノアッセイ（Luminex（登録商標））を使ってIFN-γ（CD8＋ 細胞）またはIFN-γ、TNF-α、もしくはIL-2（CD4＋ 細胞）を測定するために、上清を収集した。

【０４３３】

CD8＋ 細胞に関する結果を図14Aおよび図14Bに示す。さまざまなヒト抗CD19 scFv含有CARを発現する工学的に改変されたCD8＋ T細胞は、CD19＋細胞とのインキュベーション後に、IFN-γを、マウス抗CD19（FMC63）scFvを含有するCARを発現する細胞で観察されるものと同等程度に、抗原特異的に分泌することがわかった。このサイトカイン分泌は、CD19を発現しない対照K562細胞とのインキュベーション後には観察されなかった。試験したVH-VL配向のヒト抗CD19 scFvを持つCARを発現する細胞で観察されたサイトカイン分泌のレベルは、マウス抗CD19 scFv含有CARを発現する細胞で観察されるものと同等か、場合によってはそれより高かった。所与のヒトscFvをVH-VL配向で持つCARを発現する細胞で観察されるIFNγ分泌の程度は、対応するscFvを逆の（VL-VH）配向で持つCARを発現する細胞で

観察されるものより一般に高かった。図14Bに示すように、さまざまなヒト抗CD19 scFv含有CAR（VH-VL配向）を発現する工学的に改変されたCD8＋ T細胞による抗原特異的サイトカイン分泌は、CLL細胞との共培養後にも観察された。

【０４３４】

CD4＋ CAR発現T細胞での結果を図15に示す。さまざまなヒト抗CD19 scFv含有CAR（VH-VL配向）を発現する工学的に改変されたCD4＋ T細胞は、CD19＋ターゲット細胞とのインキュベーション後にサイトカインを、マウスscFv（FMC63）含有CARを発現する細胞で観察されるものと同等のレベルで、そして一般的には、より高いレベルで、抗原特異的に分泌することが観察された。このサイトカイン分泌はCD19陰性対照細胞との後には観察されなかった。

【０４３５】

C．T細胞増殖

CD19発現ターゲット細胞と共にインキュベートした後のさまざまなCAR発現T細胞の増殖をフローサイトメトリーによって評価した。CD8＋またはCD4＋ CAR発現T細胞を0.2μMカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル（CFSE）で標識した。細胞を洗浄し、三つ組で、ターゲット細胞（K562、K562/CD19またはRaji）と共に、外因性サイトカインを含まない血清含有培地中で72時間インキュベートした。生T細胞の分裂は、フローサイトメトリーで評価されるCFSE希釈によって示された。

【０４３６】

結果を、CD8＋ CAR発現T細胞およびCD4＋ CAR発現T細胞について、それぞれ図16Aおよび図16Bに示す。図16Aに示すように、試験したヒト抗CD19 scFv含有CARコンストラクトのそれぞれを発現するCD8＋ T細胞は、CD19発現K562/CD19またはRajiターゲット細胞との共培養後に増殖したが、K562対照細胞との共培養後には一般に増殖しなかった。

【０４３７】

試験したヒト抗CD19 scFvを持つCARを発現するT細胞で観察された増殖の程度は、マウス抗CD19 scFv含有CARを発現する細胞で観察されるものと同等だった。所与のヒトscFvをVH-VL配向で持つCARを発現する細胞の増殖の程度は、一般に、対応するscFvを逆の（VL-VH）配向で持つCARを発現する細胞で観察されるものより大きいことがわかった。

【０４３８】

CAR発現T細胞の抗原特異的増殖はCD4＋ 細胞でも観察された。図16Bに示すように、試験したヒト抗CD19 scFv含有CARコンストラクトのそれぞれを発現するCD4＋ T細胞は、CD19発現K562/CD19またはRajiターゲット細胞との共培養後に増殖した。試験したヒト抗CD19 scFvを持つCARを発現するCD4＋ T細胞で観察された増殖の程度は、マウス抗CD19 scFv含有CARを発現する細胞で観察されるものと同等だった。

【０４３９】

実施例5:インビボでの養子移植後のCAR発現T細胞の抗腫瘍効果

患者由来異種移植片（PDX）腫瘍モデル動物対象への細胞の養子移植後に、腫瘍をモニタリングすることにより、CARを発現する工学的に改変された初代ヒトT細胞の抗腫瘍効果を評価した。6～8週齢雌NOD.Cg.Prkdc$^{scid}$IL2rg$^{tm1Wjl}$/SzJ（NSG）マウスに、ホタルルシフェラーゼがトランスフェクトされたRajiリンパ腫腫瘍細胞（Raji-ffluc）0.5×10$^6$個を、静脈内（i.v.）注射した。腫瘍を6日間定着させ、生物発光イメージングを使って検証した。7日目に、実施例3に記載のさまざまな工学的に改変された初代ヒトT細胞（CD8＋細胞のみ（図17A）または1:1の比で混合したCD4＋ 細胞とCD8＋ 細胞（図17B））の最適未満用量（この研究では1×10$^6$個のCAR発現T細胞）をマウスに単回静脈内（i.v.）注射した。対照として、EGFRtだけが形質導入された細胞（陰性対照）をマウスに投与した。抗腫瘍効果の相違をより良く視覚化するために、最適未満用量を使用した。

【０４４０】

養子移植されたCAR発現細胞の抗腫瘍活性を、6日目、9日目、13日目、20日目、27日目および34日目に、生物発光イメージングによってモニタリングした。生物発光イメージングのために、PBSに再懸濁したルシフェリン基質（CaliperLife Sciences,マサチューセッ

ツ州ホプキントン）をマウスに腹腔内（i.p.）注射した（15μg/g体重）。本質的にWO2015/095895に記載されているように、マウスを麻酔し、イメージングした。平均放射輝度（p/s/cm$^2$/sr）を決定した。

【０４４１】

図17Aおよび図17Bに示すように、対照マウス中の腫瘍は、対照T細胞（EGFRtだけが形質導入された、CD8＋ 細胞のみ（図17A）またはCD4＋ 細胞とCD8＋ 細胞との組み合わせ（図17B））の養子移植後も、この研究の間は成長し続けた。対照マウスと比較して、試験したさまざまな抗CD19 scFv含有CARのそれぞれを発現する工学的に改変されたT細胞の養子移植が施行されたマウスは、生物発光シグナルの程度が低いことがわかり、経時的な腫瘍サイズの低減および/または処置された動物における腫瘍成長の程度の低下が示された。一般に、図17Aに示すように、試験したヒト抗CD19 scFv CARを発現するCD8＋ T細胞のみの養子移植は、マウス抗CD19 scFv（FMC63）を含有するCARを発現する細胞の養子移植と少なくとも同じ程度への腫瘍サイズの低減につながった。図17Bに示すように、試験したヒト抗CD19 CARを発現するCD8＋ T細胞とCD4＋ T細胞との組み合わせの養子移植は、経時的に腫瘍サイズを低減することがわかった。そのようなヒト抗CD19 CAR発現細胞の養子移植後の腫瘍サイズ（生物発光シグナルによって示されるもの）は、マウス-scFv由来のCARを発現する細胞の養子移植後に検出されるものより、かなり小さいことがわかった。

【０４４２】

実施例6:抗CD19抗体によって認識されるヒトCD19中の領域の同定

実施例1で述べた一定の抗CD19抗体（scFv）またはマウス抗CD19（FMC63）scFvを含有するCARを、さまざまなCD19分子への結合について評価した。（a）ヒトCD19（SEQ ID NO:92に示すアミノ酸配列を有するもの）、（b）マカカ・ムラタ（リーサスマカク（アカゲザル））CD19（SEQ ID NO:139に示すアミノ酸配列を有するもの;アクセッション番号F7F486）、または（c）図18Aに図示する配列を有する膜近位領域を含有する3つの異なるヒト/アカゲザルキメラCD19分子V1、V2、およびV3のうちの1つを発現するように、K562細胞を工学的に改変した。図18Aに図示した領域を除けば、各キメラ分子の残りの領域は、アカゲザルCD19の対応する領域と配列が同一である。

【０４４３】

キメラCD19 V1: V1と名付けたキメラ分子の図18Aに図示する74アミノ酸膜近位領域はSEQ ID NO:140に示すアミノ酸配列を有しており、これは、SEQ ID NO:92に示す配列を有するヒトCD19分子の対応する領域（残基218～219）の配列と同一であった。

【０４４４】

キメラCD19 V2: V2と名付けたキメラCD19分子の図18Aに図示する75アミノ酸膜近位領域は、SEQ ID NO:141に示すアミノ酸配列を有した。この領域内で、27アミノ酸膜近位部分はヒトCD19の対応部分（残基265～291）と配列が同一であった。表示した配列の残りの部分は、SEQ ID NO:139に示すアカゲザルCD19配列の対応部分と配列が同一であった。この残りの部分中で、対応するヒト配列と比較して置換または挿入を有する位置には、下線が付されている。

【０４４５】

キメラCD19 V3: V3と名付けたキメラCD19分子の図18Aに図示する74アミノ酸領域は、SEQ ID NO:142に示すアミノ酸配列を有していた。図示したこの領域内で、47アミノ酸部分は、SEQ ID NO:92に示すヒトCD19配列の対応部分（残基218～264）と配列が同一であった。残りの27アミノ酸膜近位部分は、SEQ ID NO:139に示すアカゲザルCD19配列の対応部分と配列が同一であった。この残りの27アミノ酸部分中で、対応するヒト配列と比較して置換を有する位置には、下線が付されている。

【０４４６】

さまざまなヒト抗CD19 scFv含有CARまたはマウス抗CD19 scFv（FMC63）含有CARを発現する初代ヒトT細胞を実施例3で述べたように作製し、さまざまなCD19分子をコードする核酸分子をトランスフェクトしたさまざまなK562ターゲット細胞と共に、2:1のエフェクター対ターゲット（E:T）比で共培養した。細胞を24時間インキュベートし、ターゲット細

胞の表面上の各CD19分子への抗CD19 scFv含有CARによる機能的結合の指標として、サイトカインイムノアッセイを使ってIFN-γを測定するために、上清を収集した。結果を図18Bに示す。

【０４４７】

試験した抗CD19 CARのそれぞれは、ヒトCD19分子（それへの機能的結合を示すもの）を発現する細胞との共培養後に検出可能なレベルのサイトカインを呈したが、アカゲザルCD19を発現する細胞との共培養後は、そうではなかった。試験した抗CD19 CARのそれぞれについて、V1（ヒト由来の膜近位74アミノ酸領域全体）およびV3（アカゲザル由来の27アミノ酸膜近位部分）と名付けたアカゲザル/ヒトキメラ分子を発現する細胞との共培養後には、検出可能なレベルの分泌が観察されたが、V2（ヒト由来の27アミノ酸膜近位部分）と名付けたアカゲザル/ヒトキメラ分子を発現する細胞では、そうではなかった。

【０４４８】

これらの結果から、ヒトCD19分子の32アミノ酸部分（SEQ ID NO:143
(HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLP)
（SEQ ID NO:92の残基218～249に対応する）の少なくとも一部が、試験した抗CD19 CARのそれぞれによるCD19への機能的結合にとって重要であることが示された。具体的には、V1とV3のそれぞれがこの32アミノ酸配列（図18Aでは太字で示す）を含有するのに対し、V2の対応部分はSEQ ID NO:144に示す33残基アミノ酸配列
(RPKGPKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVDTGLLLT)
を含有していた。この33残基アミノ酸配列は、アカゲザルCD19分子の対応する部分と配列が同一であるが、対応するヒト配列と比較して5つのアミノ酸置換（SEQ ID NO:92のヒトCD19配列の位置218、236、242、243、および249）および1つの挿入（SEQ ID NO:92のヒトCD19配列の位置223と位置224との間）を含有していた。図18Aではそのそれぞれに下線を付す。したがって、前記の結果は、ヒト配列中のこれらの位置のうちの少なくとも1つ（SEQ ID NO:92の位置218、236、242、243、249および/または223～224）に存在するアミノ酸が、試験した各CARの、ヒトCD19に特異的に結合する能力にとって重要であったことを示している。したがって、これらの結果は、試験したヒトscFv含有CARのそれぞれが、マウスscFvであるFMC63を含有するCARと比較して、類似しかつ/またはオーバーラップするエピトープに結合するという結論を裏付けている。

【０４４９】

本発明は、その範囲を、開示した特定態様に限定しようとするものではなく、それら特定態様は、例えば本発明のさまざまな局面を例示するために提供するものである。記載した組成物および方法のさまざまな修飾態様は、本明細書の説明および教示から明白になるであろう。そのような変形は、本開示の真の範囲および思想から逸脱することなく実施することができ、本開示の範囲に包含されるものとする。

【０４５０】

配列

（表９）

| SEQ ID NO. | 配列 | 説明 |
|---|---|---|
| 1 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCC<br>GGCTTTCCTGGACAATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACCAGTGAT<br>GATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCCAACTTATGCT<br>TTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCCGGGGTCCCTCATCGCTTCTCTGGCTC<br>CAGGTCTGGCAGAGCGGCCTCCCTGATCATCTCTGGGCTCCAGACTGAGG<br>ATGAGGCTGATTATTTCTGCTGCTCATATGCAGGCCGATACAACTCTGTCC<br>TTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA | クローン18 scFv (nt) |
| 2 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPRSVSGFP<br>GQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGR<br>AASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL | クローン18 scFv (aa) |
| 3 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTCC<br>GGCTTTCCTGGACAATCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAACCACCAGTGAT<br>GATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCCAACTTATGCT<br>TTATGATGTCAGTAAGCGGCCCTCCGGGGTCCCTCATCGCTTCTCTGGCTC<br>CAGGTCTGGCAGAGCGGCCTCCCTGATCATCTCTGGGCTCCAGACTGAGG<br>ATGAGGCTGATTATTTCTGCAGCTCATATGCAGGCCGATACAACTCTGTCC<br>TTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA | クローン18B scFv (nt) |
| 4 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPRSVSGFP<br>GQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGR<br>AASLIISGLQTEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTVL | クローン18B scFv (aa) |

| | | |
|---|---|---|
| 5 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCT<br>GGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTTCTGCACTGGAACCAGCAGTGA<br>CGTTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGC<br>CCCCAAACTCCTCATCTATAGTAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTG<br>ACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTG<br>GGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGAC<br>AGCCTGAGTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTC | クローン17 scFv (nt) |
| 6 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITIFCTGTSSDVGGYNYVSWYQQLPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSG<br>SKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSVVFGGGTKLTVL | クローン17 scFv (aa) |
| 7 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTC<br>TGCGGCCCCAGGACAGGAGGTCACCATCTCCTGCTCTGGAAGCAGCTCCA<br>ACATTGGGAATAATTATGTATCCTGGTACCAGCAACTCCCAGGAACAGCC<br>CCCAAACTCCTCATTTATGACAATGATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGA<br>CCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCG<br>GACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATGGC<br>AATCTGAGTGCTGTATTCGGCGGAGGGACCAAGGTGACCGTCCTA | クローン 76 scFv (nt) |
| 8 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAA<br>PGQEVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNDKRPSGIPDRFSGSK<br>SGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTKVTVL | クローン 76 scFv (aa) |
| 9 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG | クローン 5 scFv (nt) |

| | | |
|---|---|---|
| | GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC TCTGGCGGTGGCGGATCGTCCTATGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCT GTGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAG AAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCCTGTAC TTGTCATCTATGATAAAAACAACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTC TCTGGCTCCAGCTCAGGAAACACAGCTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCA GGCGGAAGATGAGGCTGACTACTACTGCAACTCCCGGGACAGCAGTGGTA ACAATTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA | |
| 10 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQDPAVSVA LGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYDKNNRPSGIPDRFSGSSS GNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNNWVFGGGTKLTVL | クローン5 scFv (aa) |
| 11 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH (クローン18, 18B復帰変異, 76, 285) (aa) |
| 12 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS | VH (クローン17, 5, 1, 192) (aa) |
| 13 | QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVLFGGGTKLTV L | VL クローン18 (aa) |
| 14 | QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCSSYAGRYNSVLFGGGTKLTV L | VL, クローン18B (aa) |
| 15 | QSALTQPASVSGSPGQSITIFCTGTSSDVGGYNYVSWYQQLPGTAPKLLIYSN NQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSVVFGGGT KLTVL | VL, クローン17 (aa) |
| 16 | QSVLTQPPSVSAAPGQEVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDND KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDGNLSAVFGGGTK VTVL | VL, クローン76 (aa) |
| 17 | SYELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYDKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNNWVFGGGTKL TVL | VL, クローン5 (aa) |
| 18 | DYAMH | CDR-H1 (aa) |
| 19 | GISWNSGRIGYADSVKG | CDR-H2 (aa) |
| 20 | DQGYHYYDSAEHAFDI | CDR-H3 (aa) |
| 21 | TGTTSDDVS | クローン18, 18B CDR-L1 (aa) |
| 22 | DVSKRPS | クローン18, 18B CDR-L2 (aa) |
| 23 | CSYAGRYNSVL | クローン18 CDR-L3 (aa) |

| | | |
|---|---|---|
| 24 | SSYAGRYNSVL | クローン18B CDR-L3 (aa) |
| 25 | TGTSSDVGGYNYVS | クローン17 CDR-L1 (aa) |
| 26 | SNNQRPS | クローン17 CDR-L2 (aa) |
| 27 | AAWDDSLSVV | クローン17 CDR-L3 (aa) |
| 28 | SGSSSNIGNNYVS | クローン76 CDR-L1 (aa) |
| 29 | DNDKRPS | クローン76 CDR-L2 (aa) |
| 30 | GTWDGNLSAV | クローン76 CDR-L3 (aa) |
| 31 | QGDSLRSYYAS | クローン5 CDR-L1 (aa) |
| 32 | DKNNRPS | クローン5 CDR-L2 (aa) |
| 33 | NSRDSSGNNWV | クローン5 CDR-L3 (aa) |
| 34 | GGGGSGGGGSGGGGS | リンカー (aa) |
| 35 | GISWNSGRIGY | CDR-H2 |
| 36 | $X_1GX_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}S$<br>$X_1$ = T, S,またはQ; $X_3$=T, S, または D; $X_4$ = Tまたは S; $X_5$ = ヌルまたは S;<br>$X_6$ = ヌル, D, またはN; $X_7$ = ヌルまたはV; $X_8$ = ヌル, G,またはI; $X_9$ = ヌル, G,またはR;<br>$X_{10}$ = S, Y,またはN; $X_{11}$ = Dまたは N; $X_{12}$=Dまたは Y; $X_{13}$ = V または A | CDR-L1 コンセンサス |
| 37 | $X_1X_2X_3X_4$RPS<br>$X_1$ = Dまたは S; $X_2$ = V, N,またはK; $X_3$ = S, N,または D; $X_4$ = K, Q,またはN | CDR-L2 コンセンサス |
| 38 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$<br>$X_1$ = C, S, A, G,またはN; $X_2$ = S, A,またはT; $X_3$ = Y, W,または R; $X_4$ = Aまたは D;<br>$X_5$ = G, D,またはS; $X_6$ = R, S,またはN; $X_7$ = Y, L,または G; $X_8$ = Nまたは S;<br>$X_9$ = Sまたはヌル; $X_{10}$ = V, A,または N; $X_{11}$ = Wまたは ヌル;$X_{12}$ = Lまたは V. | CDR-L3 |
| 39 | EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIW GSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGS YAMDYWGQGTSVTVSS | FMC63 VH |
| 40 | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSR LHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT | FMC63VL |
| 41 | EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQI YPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISS VVDFYFDYWGQGTTVTVSS | SJ25C1VH |
| 42 | DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSAT YRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKL EI | SJ25C1 VL |
| 43 | GSTSGSGKPGSGEGSTKG | リンカー |
| 44 | GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC | クローン488 scFv |

| | | |
|---|---|---|
| | CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACCGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGCCACCCT<br>GTCTTTGTCTCCAGGGGAGACCGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA<br>GTATTAACCACTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCC<br>CGGCTCCTCATCTATGATGCCTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAG<br>GTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCC<br>TAGAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTCACC<br>CTCGAATGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAACTGGATATCAAA | (nt) |
| 45 | EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLS<br>PGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS<br>GTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLDIK | クローン 488<br>scFv (aa) |
| 46 | CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG<br>TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCGAGTCAGGA<br>CATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAGAGCCCCTA<br>AGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATGTGAAAGCAGGGGTCCCATCAAGG<br>TTCAGTGGGGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTG<br>CAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT<br>CAGGCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA | クローン1304<br>scFv (nt) |
| 47 | QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG<br>ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLSAS<br>VGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGG<br>GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLEIK | クローン 1304<br>scFv (aa) |
| 48 | GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG | クローン 285<br>scFv (nt) |

| | | |
|---|---|---|
| | GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCT<br>GGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGA<br>CCTTGGTGGTTACAATTATGTCTCCTGGTATCAACACCGCCCAGGCAAAGC<br>CCCCAAACTCATCATTTATGATGTCACTGTTCGGCCCTCAGGGGTTTCTGA<br>TCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGG<br>GCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCGGCTCATATACAAGCA<br>GTAGCACTCTTCTTTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTCACCGTCCTA | |
| 49 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | クローン285<br>scFv (aa) |
| 50 | CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTC<br>CGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAATCAGCAGTG<br>GTGTTGATAGTCATAGGTATGTCTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAAA<br>GCCCCCAAACTCATGATTTATGATTTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCT<br>GATCGTTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCT<br>GGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTACTATTGCAGCTCATATGCAGC<br>CATCTCCCCTAATTATGTCTTCGGAACTGGGACCAAGCTCACCGTCCTA | クローン192B<br>scFv (nt) |
| 51 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPRSVSGS<br>PGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMIYDFSKRPSGVPDRFSG<br>SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAAISPNYVFGTGTKLTVL | クローン 192B<br>scFv (aa) |
| 52 | CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCT<br>GGGTCTCCTGGACATTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGAAGTGA<br>CGTCGGTGGTTTTGATTATGTCTCCTGGTACCAGCATAACCCAGGCAAAGC<br>CCCCAAACTCATAATTTATGATGTCACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCTCTAA<br>TCGCTTCTCTGGCGCCAAGTCTGGCATCACGGCCTCCCTGACCATCTCTGG | クローン 328<br>scFv (nt) |

| | | |
|---|---|---|
| | GCTCCAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGCACCTCATATAGACCCG<br>GTCCAACATTTGTCTTCGGCACCGGGACCAAGCTCACCGTCCTA | |
| 53 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPGKAPKLIIYDVTKRPSGVSNRFSG<br>AKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLTVL | クローン328<br>scFv (aa) |
| 54 | GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGGACATCCAGTTGACCCAGTCTCCTTCCACCCTG<br>TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAG<br>TATTAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA<br>AGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATTTGGAAACAGGGGTCCCATCCAGG<br>TTCAGTGGAAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTTTCACCATCAGCAGCCTG<br>CAGCCTGAAGATATTGCAACATATTACTGTCAACAGTATGATAATCTCCCT<br>CTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA | クローン227<br>scFv (nt) |
| 55 | EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSTLSAS<br>VGDRVTITCRASQSISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGS<br>GTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK | クローン 227<br>scFv (aa) |
| 56 | CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTG<br>TCTGCATCTGTGGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAG<br>CATTAGTCACTACTTGGCCTGGTATCAACAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA<br>AGCTCCTGATCTTTGATGCCTCCCGTTTGGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGT<br>TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGC<br>AACCTGAAGATTTTGCGACATACTACTGTCAACAGAGTTACGGTGCCCCT<br>ATGTTCACTTTCGGCCCTGGGACCAGAGTGGATCTCAAA | クローン 1300<br>scFv (nt) |
| 57 | QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG<br>ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPSTLSAS<br>VGDRVTITCRASQSISHYLAWYQQKPGKAPKLLIFDASRLASGVPSRFSGSGS | クローン1300<br>scFv (aa) |

| | | |
|---|---|---|
| | GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDLK | |
| 58 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAATGGTCACAGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGTCTGCCCTGACTCAGCCCGCCTCCGTGTCT<br>GGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGGACCAGCAGTGA<br>CGTTGGTGCTTATAACTTTGTCTCCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACAGC<br>CCCCAAATTCCTCATTTATGACAATAATAAACGACCCCCAGGGATTCCTG<br>ACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACC<br>GGACTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGCAACATGGGATAG<br>CGGCCTGAGTGCTGTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTA | クローン1 scFv<br>(nt) |
| 59 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDVGAYNFVSWYQQLPGTAPKFLIYDNNKRPPGIPDRFSGS<br>KSGTSATLGITGLQTGDEADYYCATWDSGLSAVVFGGGTKLTVL | クローン1 scFv<br>(aa) |
| 60 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS | VH<br>クローン 192B<br>(aa) |
| 61 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン 328<br>(aa) |
| 62 | QMQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG<br>ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン 1304<br>クローン 1300<br>(aa) |
| 63 | EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン 227,<br>488, 241<br>(aa) |
| 64 | QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMIYDF<br>SKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYAAISPNYVFGTGT<br>KLTVL | VL<br>クローン 192B<br>(aa) |
| 65 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT<br>VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT<br>KLTVL | VL<br>クローン 285<br>(aa) |
| 66 | QSALTQPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPGKAPKLIIYDVT<br>KRPSGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLT<br>VL | VL<br>クローン 328<br>(aa) |
| 67 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGAYNFVSWYQQLPGTAPKFLIYDN<br>NKRPPGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCATWDSGLSAVVFGGGT | VL<br>クローン 1 |

| | | |
|---|---|---|
| | KLTVL | (aa) |
| 68 | AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDAS NVKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTK LEIK | VL クローン1304 (aa) |
| 69 | AIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISHYLAWYQQKPGKAPKLLIFDASRL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYGAPMFTFGPGTRVDL K | VL クローン1300 (aa) |
| 70 | DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISRWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQYDNLPLTFGGGTKVEIK | VL クローン227 (aa) |
| 71 | EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLDI K | VL クローン488 (aa) |
| 72 | GISWNSGSIGYADSVKG | CDR-H2 クローン1304 クローン1300 クローン227 クローン488 クローン241 (aa) |
| 73 | TGISSGVDSHRYVS | CDR-L1 クローン192B クローン192 (aa) |
| 74 | TGTSSDLGGYNYVS | CDR-L1 クローン285 (aa) |
| 75 | TGTRSDVGGFDYVS | CDR-L1 クローン328 (aa) |
| 76 | TGTSSDVGAYNFVS | CDR-L1 クローン1 (aa) |
| 77 | QASQDISNYLN | CDR-L1 クローン1304 クローン241 (aa) |
| 78 | RASQSISHYLA | CDR-L1 クローン1300 (aa) |
| 79 | RASQSISRWLA | CDR-L1 クローン227 (aa) |
| 80 | RASQSINHYLA | CDR-L1 クローン488 (aa) |

| | | |
|---|---|---|
| 81 | GISWNSGRIG | CDR-H2 |
| 82 | GISWNSGSIG | CDR-H2 |
| 83 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$<br>$X_1$=T,Q,またはR;$X_2$=GまたはA;$X_3$=I,T,またはS;$X_4$=S,R,またはQ;$X_5$=ヌルまたはS; $X_6$=ヌル,D,またはG;$X_7$=ヌル,V,またはL;$X_8$=D,G,またはS;$X_9$=S,G, A,またはI; $X_{10}$= H, Y, F, S, またはN; $X_{11}$= R,N,D,またはH; $X_{12}$=Y,F,またはW;$X_{13}$=VまたはL; $X_{14}$=S, N,またはA | CDR-L1<br>コンセンサス |
| 84 | $DX_2X_3X_4X_5X_6X_7$<br>$X_2$ = F,V,N,またはA;$X_3$=S, T,またはN;$X_4$=K,V, N,またはR;$X_5$=R,V,または L;$X_6$=P, K,A, またはE; $X_7$ = S, P, A,またはT | CDR-L2<br>コンセンサス |
| 85 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$<br>$X_1$=S,G,T,A,またはQ;$X_2$=S,T,またはQ;$X_3$=Y,W,または S; $X_4$ = A, T, R, D,またはY; $X_5$ = A,S,P,G,またはN;$X_6$=I,S,G,T,L,A,またはH;$X_7$=S, P,または L; $X_8$ = P, T, S, Q,M, R,またはヌル; $X_9$= N,L,A,M,またはヌル;$X_{10}$= LまたはヌルX$_{11}$=Y,W, F,V,またはL;$X_{12}$= VまたはT | CDR-L3<br>コンセンサス |
| 86 | GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGGATAGGCTATGCGGACTCTGTAAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTTTCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAATGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGCAGGCTGTGCTGACTCAGCCTCGCTCAGTGTC<br>CGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCACCATCTCCTGCACTGGAATCAGCAGTG<br>GTGTTGATAGTCATAGGTATGTCTCCTGGTACCAACACCACCCAGGCAAA<br>GCCCCCAAACTCATGATTTATGATTTCAGTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCT<br>GATCGTTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCT<br>GGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTACTATTGCTGCTCATATGCAGC<br>CATCTCCCCTAATTATGTCTTCGGAACTGGGACCAAGCTGACCGTCCTA | クローン192 scFv<br>(nt) |
| 87 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQAVLTQPRSVSGS<br>PGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMIYDFSKRPSGVPDRFSG<br>SKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAAISPNYVFGTGTKLTVL | クローン192 scFv<br>(aa) |
| 88 | GAAGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGCAGGTC<br>CCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGATGATTATGCCAT<br>GCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTA<br>TTAGTTGGAATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA<br>TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAA<br>CAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATCAGG<br>GGTATCATTACTATGATAGTGCCGAACATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAG<br>GGACAGTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGAGGTGGC<br>TCTGGCGGTGGCGGATCGGCCATCCGGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTG<br>TCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCGTCACTTGCCAGGCGAGTCAGGA<br>CATTAGCAACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAGAGCCCCTA<br>AGCTCCTGATCTACGATGCATCCAATGTGAAAGCAGGGGTCCCATCAAGG<br>TTCAGTGGGGGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTG | クローン241 scFv<br>(nt) |

| | | |
|---|---|---|
| | CAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCT CAGGCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGATATCAAA | |
| 89 | EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLSAS VGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGG GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK | クローン241 scFv (aa) |
| 90 | AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDAS NVKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTK LDIK | VL クローン241 (aa) |
| 91 | QAVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGISSGVDSHRYVSWYQHHPGKAPKLMIYDF SKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAAISPNYVFGTGT KLTVL | VL クローン192 |
| 92 | MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTW SRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKA WQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLY VWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVSR GPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKY YCHRGNLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGIL HLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGR AQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEEEEGEGYEEPDSE EDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDEEL TQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQP GPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR | CD19<br><br>アクセッション番号<br>P15391<br><br>ヒト<br>(Homo Sapiens) |
| 93 | DFSKRPS | CDR-L2 クローン192B, クローン192 |
| 94 | DVTVRPS | CDR-L2 クローン285 |
| 95 | DVTKRPS | CDR-L2 クローン328 |
| 96 | DNNKRPP | CDR-L2 クローン1 |
| 97 | DASNVKA | CDR-L2 クローン1304 クローン241 |
| 98 | DASRLAS | CDR-L2 クローン1300 |
| 99 | DASNLET | CDR-L2 クローン227 |
| 100 | DASNRAT | CDR-L2 クローン488 |
| 101 | SSYAAISPNYV | CDR-L3 |

| | | |
|---|---|---|
| | | クローン192B |
| 102 | CSYAAISPNYV | CDR-L3<br>クローン192 |
| 103 | GSYTSSSTLLWV | CDR-L3<br>クローン285 |
| 104 | TSYRPGPTFV | CDR-L3<br>クローン328 |
| 105 | ATWDSGLSAVV | CDR-L3<br>クローン1 |
| 106 | QQSYSTPQAYT | CDR-L3<br>クローン1304<br>クローン241 |
| 107 | QQSYGAPMFT | CDR-L3<br>クローン1300 |
| 108 | QQYDNLPLT | CDR-L3<br>クローン227 |
| 109 | QQSYSHPRMYT | CDR-L3<br>クローン488 |
| 110 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$<br>$X_1$ = T, Q, S, またはR;<br>$X_2$ = Gまたは A;<br>$X_3$ = I, T, D, または S;<br>$X_4$ = S, R, T, またはQ;<br>$X_5$ = ヌルまたはS;<br>$X_6$ = ヌル, D, D, またはG;<br>$X_7$ = ヌル, V, またはL;<br>$X_8$ = Xまたはヌル,<br>$X_9$ = Xまたはヌル,<br>$X_{10}$ = X;<br>$X_{11}$ = X;<br>$X_{12}$ = Y, F, D, または W;<br>$X_{13}$ = V, A, またはL;<br>$X_{14}$ = S, N, または A | CDR-L1<br>コンセンサス |
| 111 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}X_{14}$<br>$X_1$ = T, Q, S,またはR;<br>$X_2$ = GまたはA;<br>$X_3$ = I, T, D,またはS;<br>$X_4$ = S, R, T,またはQ;<br>$X_5$ = ヌルまたはS;<br>$X_6$ = G, D, N,またはヌル;<br>$X_7$ = ヌル, V,またはL;<br>$X_8$ = D, G, I, L, S,またはヌル;<br>$X_9$ = S, G, A, I, R,またはヌル;<br>$X_{10}$ = H, Y, F, S,またはN;<br>$X_{11}$ = R, N, D, H,またはY;<br>$X_{12}$ = Y, F, D,またはW; | CDR-L1<br>コンセンサス |

| | | |
|---|---|---|
| | $X_{13}$ = V, A,またはL;<br>$X_{14}$ = S, N,またはA | |
| 112 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$<br>$X_1$=DまたはS;<br>$X_2$ = F, V, N, K,またはA;<br>$X_3$ = S, T, D,またはN;<br>$X_4$ = K, V, N, Q,またはR;<br>$X_5$ =R, V,またはL;<br>$X_6$ = P, K, A,またはE;<br>$X_7$ = S, P, A,またはT | CDR-L2<br>コンセンサス |
| 113 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$<br>$X_1$ = C, S, A, G,またはN;<br>$X_2$ = S, A,またはT;<br>$X_3$ = Y, W,またはR;<br>$X_4$ = AまたはD;<br>$X_5$ = G, D,またはS;<br>$X_6$ = R, S,またはN;<br>$X_7$ = Y, L,または G;<br>$X_8$ = Nまたは S;<br>$X_9$ = S, N,またはヌル;<br>$X_{10}$ =ヌル;<br>$X_{11}$=V, A,またはW;<br>$X_{12}$ = LまたはV. | CDR-L3 |
| 114 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$<br>$X_1$= S, G, T, A, Q, C,またはN;<br>$X_2$= S, Q, A,またはT;<br>$X_3$= Y, S, W, R;<br>$X_4$= A, D, R, T,または Y;<br>$X_5$=A, S, P, G, N,またはD;<br>$X_6$= I, S, G, T, A, L, H, R, N;<br>$X_7$= S, P, L, Y, G;<br>$X_8$= P, T, S, Q, M, R, Nまたはヌル<br>$X_9$= S, L, N, A, Mまたはヌル;<br>$X_{10}$=Lまたはヌル;<br>$X_{11}$=Y, W, F, V, A,またはL;<br>$X_{12}$=V, T,またはL | CDR-L3<br>コンセンサス |
| 115 | $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$<br>$X_1$= X;<br>$X_2$= S, Q, A,またはT;<br>$X_3$= Y, S, W, R;<br>$X_4$= A, D, R, T,または Y;<br>$X_5$=X<br>$X_6$= X<br>$X_7$= S, P, L, Y, G;<br>$X_8$=Xまたはヌル<br>$X_9$= Xまたはヌル | CDR-L3<br>コンセンサス |

| | | |
|---|---|---|
| | $X_{10}$=Lまたは ヌル;<br>$X_{11}$=X<br>$X_{12}$=V, T,またはL | |
| 116 | GTWDISLRFGV | CDR-L3<br>クローン 79 |
| 117 | CSYEAPTHTYV | CDR-L3<br>クローン 835 |
| 118 | AAWDDSLNVV | CDR-L3<br>クローン 184 |
| 119 | CSYAGSYTFEV | CDR-L3<br>クローン 505 |
| 120 | CSFAGYYTYWL | CDR-L3<br>クローン 506 |
| 121 | SSXAGRKYV | CDR-L3<br>クローン 305 |
| 122 | GGGS | リンカー<br><br>人工 |
| 123 | GGGGS | リンカー<br><br>人工 |
| 124 | ESKYGPPCPPCP | スペーサー<br>(IgG4ヒンジ)<br>(aa)<br><br>ヒト |
| 125 | GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT | スペーサー<br>(IgG4ヒンジ)<br>(nt)<br><br>ヒト |
| 126 | ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW<br>ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH<br>NHYTQKSLSLSLGK | ヒンジ-CH3<br>スペーサー<br><br>ヒト |
| 127 | ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE<br>VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK<br>VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS<br>DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV<br>MHEALHNHYTQKSLSLSLGK | ヒンジ-CH2-<br>CH3 スペーサー<br><br>ヒト |
| 128 | RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEE<br>QEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHL<br>TWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSL<br>WNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWL<br>LCEVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAP<br>PSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH | IgD-ヒンジ-Fc<br><br>ヒト |

| | | |
|---|---|---|
| 129 | FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV | CD28<br>(アクセッション<br>番号P10747の<br>アミノ酸153～179)<br><br>ヒト |
| 130 | IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKP<br>FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV | CD28<br>(アクセッション<br>番号P10747の<br>アミノ酸114～179)<br><br>ヒト<br>ヒト |
| 131 | RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS | CD28<br>(P10747の<br>アミノ酸<br>180～220)<br>ヒト |
| 132 | RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS | CD28 (LL から<br>GG)<br><br>ヒト |
| 133 | KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL | 4-1BB<br>(Q07011.1の<br>アミノ酸<br>214～255)<br>ヒト |
| 134 | RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR<br>RKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY<br>QGLSTATKDTYDALHMQALP PR | CD3ゼータ<br><br>ヒト |
| 135 | RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR<br>KNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY<br>QGLSTATKDTYDALHMQALP PR | CD3 ゼータ<br><br>ヒト |
| 136 | RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPR<br>RKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY<br>QGLSTATKDTYDALHMQALP PR | CD3 ゼータ<br><br>ヒト |
| 137 | LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR | T2A<br><br>人工 |
| 138 | MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISG<br>DLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFE<br>NLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTIN<br>WKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRN<br>VSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQ<br>CAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGP<br>GLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM | tEGFR<br><br>人工 |

| | | |
|---|---|---|
| 139 | MPPPCLLFFLLFLTPMEVRPQEPLVVKVEEGDNAVLQCLEGTSDGPTQQLVW<br>CRDSPFEPFLNLSLGLPGMGIRMGPLGIWLLIFNVSNQTGGFYLCQPGLPSEKA<br>WQPGWTVSVEGSGELFRWNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLNSSQLY<br>VWAKDRPEMWEGEPVCGPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVPPDSVS<br>RGPLSWTHVRPKGPKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVDTGLLLTRATAQDAGK<br>YYCHRGNWTKSFYLEITARPALWHWLLRIGGWKVPAVTLTYLIFCLCSLVGI<br>LQLQRALVLRRKRKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLG<br>RAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQVDGAVGSRSPPGAGPEEEEGEGYEEPD<br>SEEGSEFYENDSNFGQDQLSQDGSGYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYENEDE<br>ELTQPVARTMDFLSPHGSAWDPSREATSLGSQSYEDMRGLLYAAPQLRTIRG<br>QPGPNHEEDADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSAR | アカゲザル<br>CD19<br><br>アクセッション<br>番号 F7F486 |
| 140 | HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLT<br>MSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWK | V1<br>キメラ/<br>アカゲザル<br>ヒト<br>ヒトCD19の<br>残基218～291に<br>対応 |
| 141 | RPKGPKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVDTGLLLTRATAQDAGKYYCHRGNLT<br>MSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWK | V2<br>キメラ/<br>アカゲザル<br>ヒト<br>ヒトCD19の<br>残基218～291に<br>対応 |
| 142 | HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNWT<br>KSFYLEITARPALWHWLLRIGGWK | V3<br>キメラ/<br>アカゲザル<br>ヒト<br>ヒトCD19の<br>残基218～291に<br>対応 |
| 143 | HPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVMETGLLLP | 人工 |
| 144 | RPKGPKSSLLSLELKDDRPDRDMWVVDTGLLLT | 人工 |
| 145 | DQGXHXYDSAEHAFXI | CDR-H3<br>クローン 305 |
| 146 | QASQDISNYLN | CDR-L1<br>クローン 255 |
| 147 | TGTGRDIGAYDYVS | CDR-L1<br>クローン 305 |
| 148 | TETSSDLGGYNYVS | CDR-L1<br>クローン 327 |
| 149 | TGASTDVGGYNYVS | CDR-L1<br>クローン 505 |
| 150 | TGASSDVGGYDHVS | CDR-L1<br>クローン 506 |

| | | |
|---|---|---|
| 151 | SGSSSNIGSNTVN | CDR-L1<br>クローン184 |
| 152 | TGPISGVGDYTSVS | CDR-L1<br>クローン835 |
| 153 | DNNKRPS | CDR-L2<br>クローン272 |
| 154 | GVNKRPS | CDR-L2<br>クローン305 |
| 155 | DVNKRPS | CDR-L2<br>クローン505 |
| 156 | DNNKRPS | CDR-L2<br>クローン79 |
| 157 | DVTQRPS | CDR-L2<br>クローン835 |
| 158 | GTWDSSLNRDWV | CDR-L3<br>クローン272 |
| 159 | CSYAGRYNSVP | CDR-L3<br>クローン508 |
| 160 | TSGVGVG | CDR-H1<br>クローン1265 |
| 161 | LIYWDDDKRYSPSLKS | CDR-H2<br>クローン1265 |
| 162 | IDYGSGSYSPRTSYYYYMSV | CDR-H3<br>クローン1265 |
| 163 | RASQGISSYLN | CDR-L1<br>クローン1265 |
| 164 | AASNLQS | CDR-L2<br>クローン1265 |
| 165 | QQGDAFPLT | CDR-L3<br>クローン1265 |
| 166 | QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPPGKALEWLALIY<br>WDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHIDYGSG<br>SYSPRTSYYYYMSVWGKGTTVTVSS | VH<br>クローン1265 |
| 167 | QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG<br>ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン213 |
| 168 | EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン255 |
| 169 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン272 |
| 170 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH<br>クローン283 |
| 171 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI | VH |

| | | |
|---|---|---|
| | SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | クローン302 |
| 172 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSXXGRXXISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAXYYCAXDQGX HXYDSAEHAFXIWGQGTVVTVSS | VH クローン305 |
| 173 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン314 |
| 174 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン379 |
| 175 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン324 |
| 176 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAXNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン327 |
| 177 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン336 |
| 178 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン440 |
| 179 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン448 |
| 180 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS | VH クローン505 |
| 181 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS | VH クローン506 |
| 182 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン508 |
| 183 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS | VH クローン184 |
| 184 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSS | VH クローン79 |
| 185 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRLAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAKDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSS | VH クローン835 |
| 186 | AIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLNWYQQRAGKAPELLIYAASNL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSVQPEDFATYFCQQGDAFPLTFGPGTKVTIR | VL クローン1265 |

| | | |
|---|---|---|
| 187 | EIVLTQSPATLSLSPGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNR ATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLEI K | VL クローン213 |
| 188 | AIRMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDAS NVKAGVPSRFSGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTK LDIK | VL クローン255 |
| 189 | QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLNRDWVFGGG TKLTVL | VL クローン272 |
| 190 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン283 |
| 191 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン302 |
| 192 | QSVLXXPXXASGSPGQSVTVSCTGTGRDIGAYDYVSWYQQHPGKAPKLLIYG VNKRPSGVPDRFSGSKSDNTASLTVSGLQVEDEADYYCSSXAGRKYVFGTGX KVTVL | VL クローン305 |
| 193 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン314 |
| 194 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン379 |
| 195 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン324 |
| 196 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTETSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVXDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン327 |
| 197 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLTVL | VL クローン336 |
| 198 | QSALTQPASVSGSPGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPGKAPKLIIYDVT KRPSGVSNRFSGAKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKL DIK | VL クローン440 |
| 199 | QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVT VRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGT KLDIK | VL クローン448 |
| 200 | QSVLTQPRSLSGSPGQSVTIACTGASTDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYD VNKRPSGVPDRFSGSKSGNTAFLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTFEVFGG GTKLTVL | VL クローン505 |
| 201 | QLVLTQPPSVSGSPGQSVTFSCTGASSDVGGYDHVSWYQHHPGKGPKLLIYD VSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSFAGYYTYWLFGG GTKVTVL | VL クローン506 |
| 202 | QSALTQPRSVSGFPGQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRP | VL |

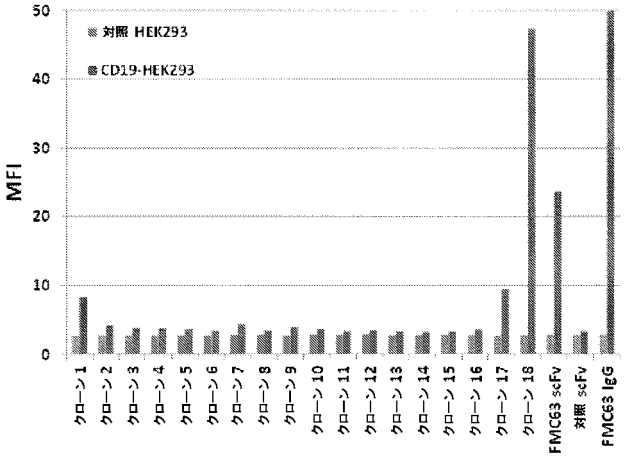
| | | |
|---|---|---|
| | SGVPHRFSGSRSGRAASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVPFGGGTKLTV L | クローン508 |
| 203 | SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQ RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLNVV | VL クローン184 |
| 204 | QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEGDYYCGTWDISLRFGVFGGGTK VTVL | VL クローン79 |
| 205 | QSVLTQPRSVSGSPGQSVTISCTGPISGVGDYTSVSWYQHYPGKTPKLIIYDVT QRPSGVPNRFSGSKSGNTASLTISGLQADDEADYYCCSYEAPTHTYVFGTGTK LTVL | VL クローン835 |
| 206 | QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSGVGVGWIRQPPGKALEWLALIY WDDDKRYSPSLKSRLTITKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCAHIDYGSG SYSPRTSYYYYMSVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIQLTQSPSFLS ASVGDRVTITCRASQGISSYLNWYQQRAGKAPELLIYAASNLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTITSVQPEDFATYFCQQGDAFPLTFGPGTKVTIR | scFv クローン1265 |
| 207 | QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLS PGETATLSCRASQSINHYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGS GTDFTLTISSLEPEDFATYYCQQSYSHPRMYTFGQGTKLEIK | scFv クローン213 |
| 208 | EVQLVQSGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSAIRMTQSPSSLSAS VGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQKPGRAPKLLIYDASNVKAGVPSRFSGG GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPQAYTFGQGTKLDIK | scFv クローン255 |
| 209 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAA PGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSK SGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLNRDWVFGGGTKLTVL | scFv クローン272 |
| 210 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | scFv クローン283 |
| 211 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | scFv クローン302 |
| 212 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI SWNSGRIGYADSXXGRXXISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAXYYCAXDQGX HXYDSAEHAFXIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLXXPXXASGS PGQSVTVSCTGTGRDIGAYDYVSWYQQHPGKAPKLLIYGVNKRPSGVPDRFS GSKSDNTASLTVSGLQVEDEADYYCSSXAGRKYVFGTGXKVTVL | scFv クローン305 |
| 213 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI | scFv |

| | | |
|---|---|---|
| | SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | クローン 314 |
| 214 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | scFv<br>クローン 379 |
| 215 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | scFv<br>クローン 324 |
| 216 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAXNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTETSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVXDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | scFv<br>クローン 327 |
| 217 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLTVL | scFv<br>クローン 336 |
| 218 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGHSITISCTGTRSDVGGFDYVSWYQHNPGKAPKLIIYDVTKRPSGVSNRFSG<br>AKSGITASLTISGLQAEDEADYYCTSYRPGPTFVFGTGTKLDIK | scFv<br>クローン 440 |
| 219 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPASVSGS<br>PGQSITISCTGTSSDLGGYNYVSWYQHRPGKAPKLIIYDVTVRPSGVSDRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGSYTSSSTLLWVFGGGTKLDIK | scFv<br>クローン 448 |
| 220 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSQSVLTQPRSLSGSPGQSVTIACTGASTDV<br>GGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNKRPSGVPDRFSGSKSGNTAFLTISGLQ<br>AEDEADYYCCSYAGSYTFEVFGGGTKLTVL | scFv<br>クローン 505 |
| 221 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQLVLTQPPSVSGS<br>PGQSVTFSCTGASSDVGGYDHVSWYQHHPGKGPKLLIYDVSKRPSGVPDRFS<br>GSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSFAGYYTYWLFGGGTKVTVL | scFv<br>クローン 506 |
| 222 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY | scFv<br>クローン 508 |

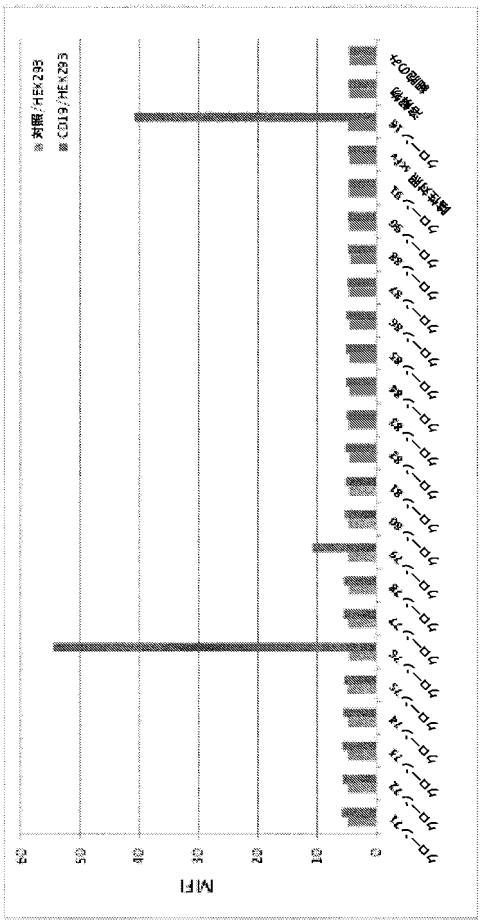
| | | |
|---|---|---|
| | HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSALTQPRSVSGFP<br>GQSVTISCTGTTSDDVSWYQQHPGKAPQLMLYDVSKRPSGVPHRFSGSRSGR<br>AASLIISGLQTEDEADYFCCSYAGRYNSVPFGGGTKLTVL | |
| 223 | QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSASGT<br>PGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVPDRFSGSK<br>SGTSASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLNVV | scFv<br>クローン 184 |
| 224 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAEDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTVVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAA<br>PGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSK<br>SGTSATLGITGLQTGDEGDYYCGTWDISLRFGVFGGGTKVTVL | scFv<br>クローン 79 |
| 225 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRLAPGKGLEWVSGI<br>SWNSGRIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRAKDTAVYYCARDQGY<br>HYYDSAEHAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQSVLTQPRSVSGS<br>PGQSVTISCTGPISGVGDYTSVSWYQHYPGKTPKLIIYDVTQRPSGVPNRFSGS<br>KSGNTASLTISGLQADDEADYYCCSYEAPTHTYVFGTGTKLTVL | scFv<br>クローン 835 |
| 226 | X1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11X12 X13X14<br>X1= T, Q, R,または S;<br>X2= G, A,または E;<br>X3= I, T, S, D, A,または P;<br>X4= S, R, Q, G,または I ;<br>X5=ヌル, S, R,または T;<br>X6= G, D, N,またはヌル;<br>X7= V, L,ヌル,または I;<br>X8= D, G, S, I, L,またはヌル;<br>X9= S, G, A, I,ヌル,または D;<br>X10= H, Y, F, S,または N;<br>X11= R, N, D, H, Y,または T;<br>X12= Y, F, W, D, H, T,または S;<br>X13= V, A,または L;<br>X14= S, N,または A | CDR-L1<br><br>コンセンサス |
| 227 | X1X2X3X4X5X6X7<br>X1= D, S,または G;<br>X2= F, V, N, K,またはA;<br>X3= S, T, N,またはD;<br>X4= K, V, N, R,またはQ;<br>X5= R, V,またはL;<br>X6= P, K, A,またはE;<br>X7= S, P, A,またはT | CDR-L2<br><br>コンセンサス |
| 228 | X1X2X3X4X5X6X7X8X9X10X11X12<br>X1= S, G, T, A, Q, C,または N;<br>X2= S, Q, A,またはT;<br>X3= Y, S, W,またはR;<br>X4= A, D, R, T,またはY; | CDR-L3<br><br>コンセンサス |

| | | |
|---|---|---|
| | X5= A, S, P, G, N,またはD;<br>X6= I, S, G, T, A, L, H, R,またはN;<br>X7= S, P, L, Y,またはG;<br>X8= P, T, S, Q, M, R,またはN;<br>X9= S, L, N, A, M,ヌル,またはR;<br>X10= L,ヌル,またはD;<br>X11= Y, W, F, V, A,またはL;<br>X12= V, T, L,またはP | |

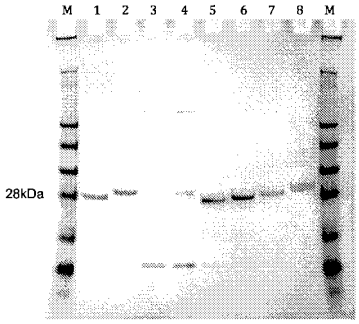
【図１Ａ】


対照 HEK293
CD19-HEK293
MFI
クローン1
クローン2
クローン3
クローン4
クローン5
クローン6
クローン7
クローン8
クローン9
クローン10
クローン11
クローン12
クローン13
クローン14
クローン15
クローン16
クローン17
クローン18
FMC63 scFv
対照 scFv
FMC63 IgG

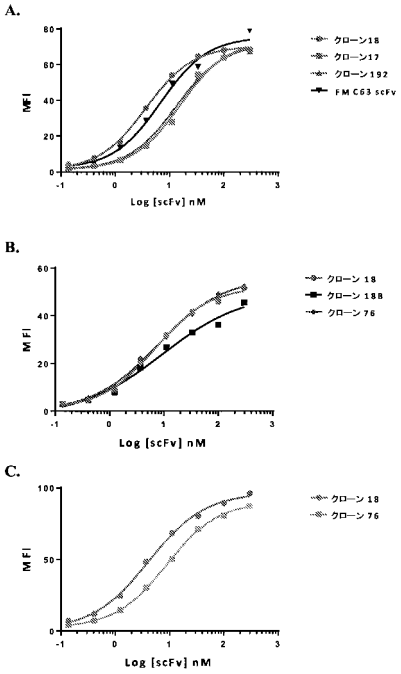
【図１Ｂ】


対照:HEK293
CD19:HEK293
MFI

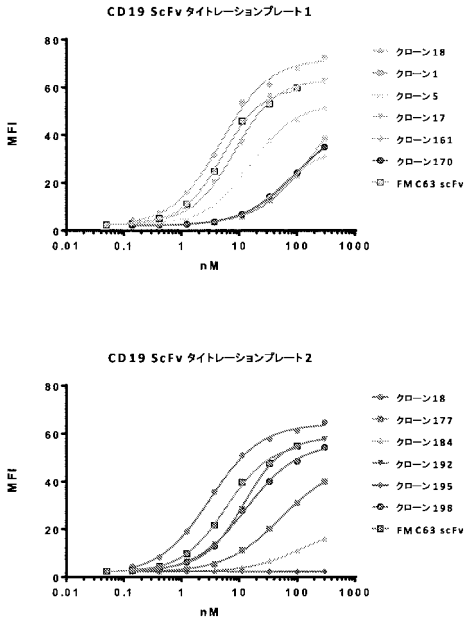
【図２】


M 1 2 3 4 5 6 7 8 M
28kDa

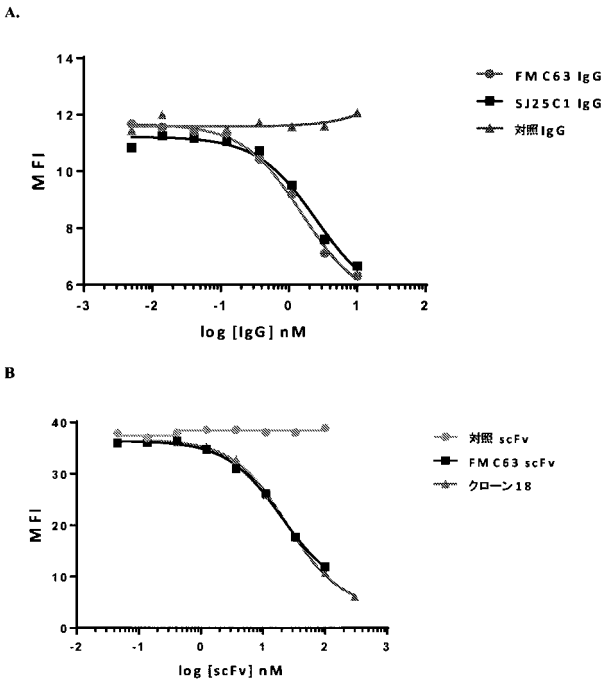
【図３】


A.
MFI
Log [scFv] nM
クローン18
クローン17
クローン192
FMC63 scFv
B.
MFI
Log [scFv] nM
クローン18
クローン188
クローン76
C.
MFI
Log [scFv] nM
クローン18
クローン76

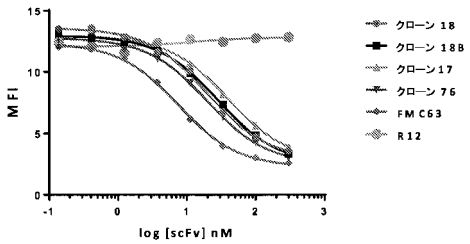
【図４】



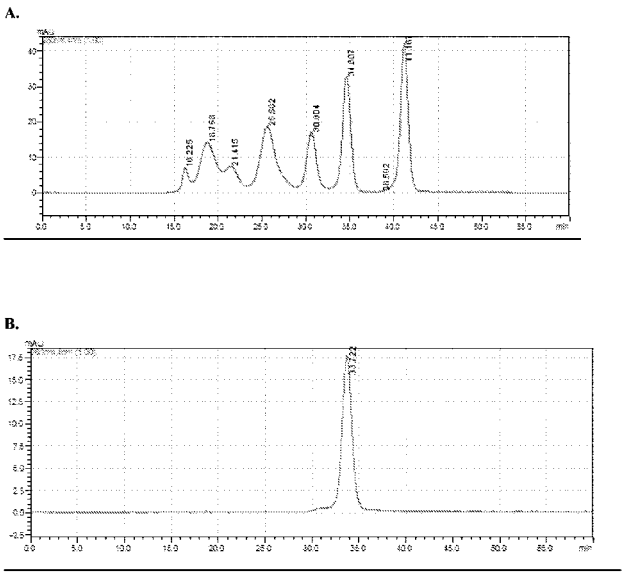

【図５】



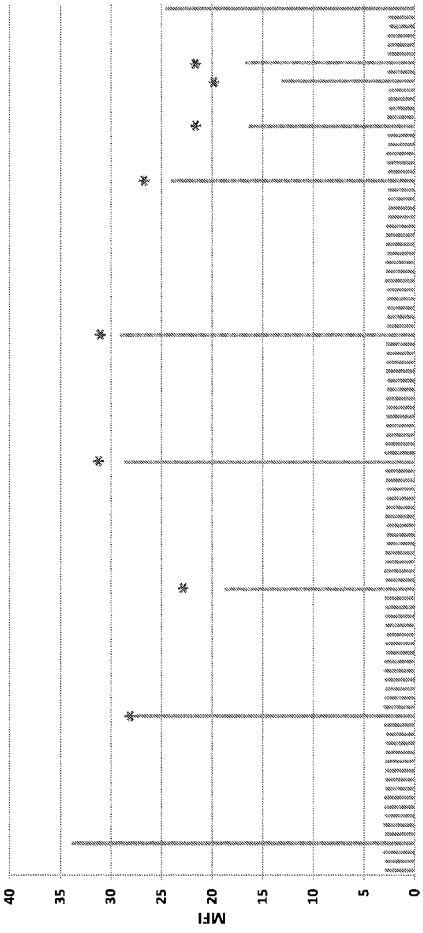

【図６】



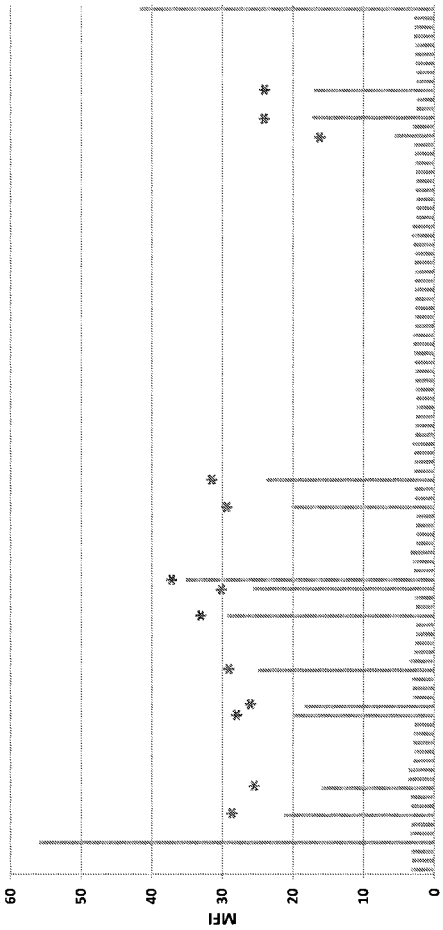

【図７】



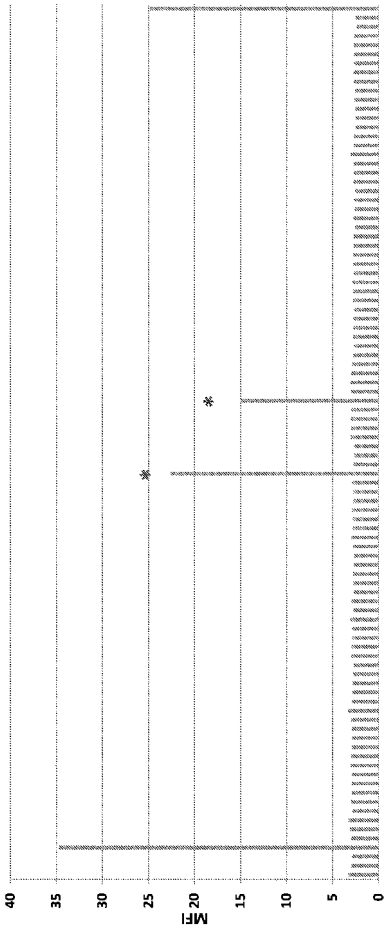

【図８Ａ】



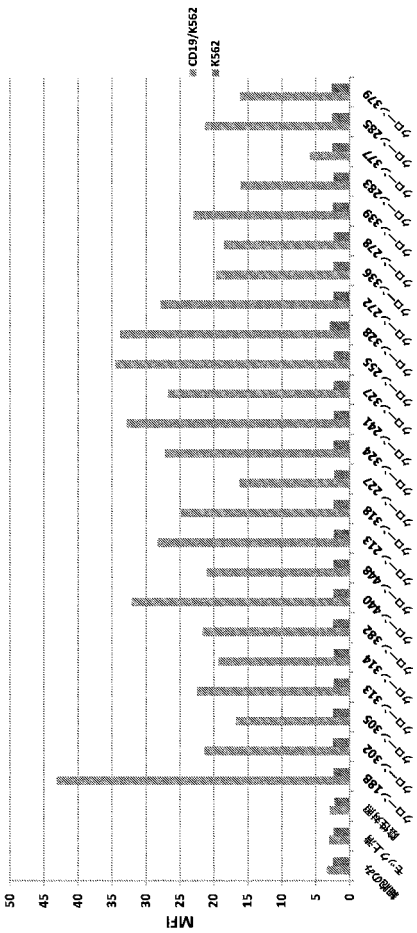
【図８Ｂ】



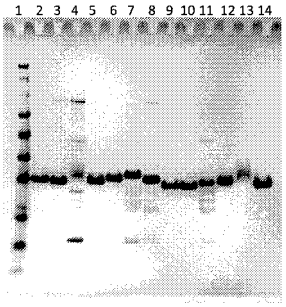

【図８Ｃ】



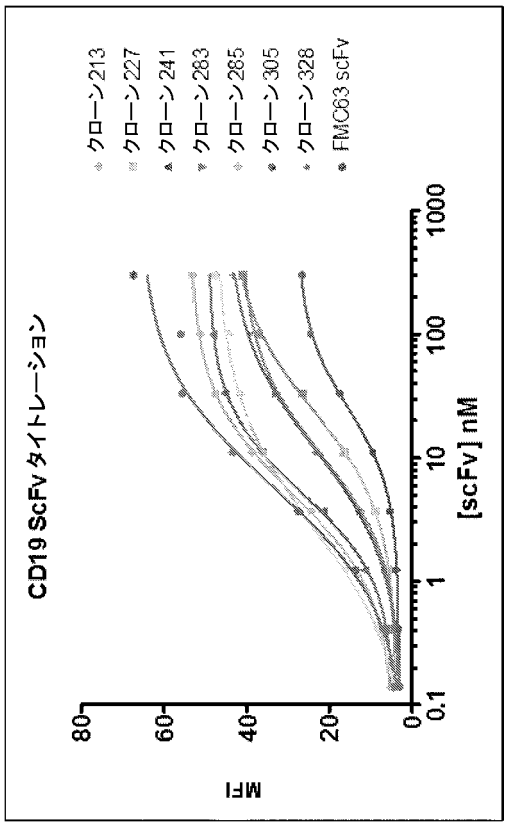

【図８Ｄ】



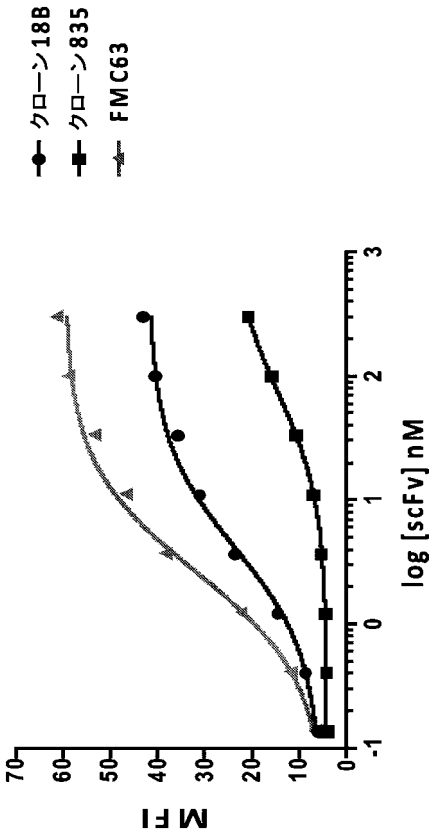

【図９】



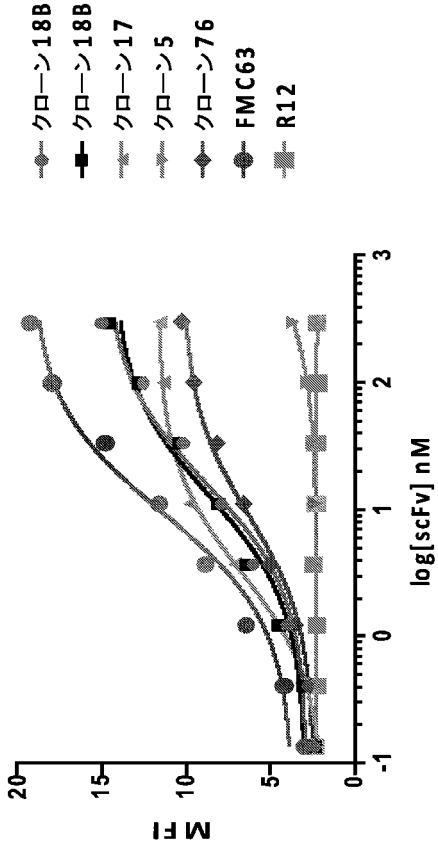
【図１０Ａ】



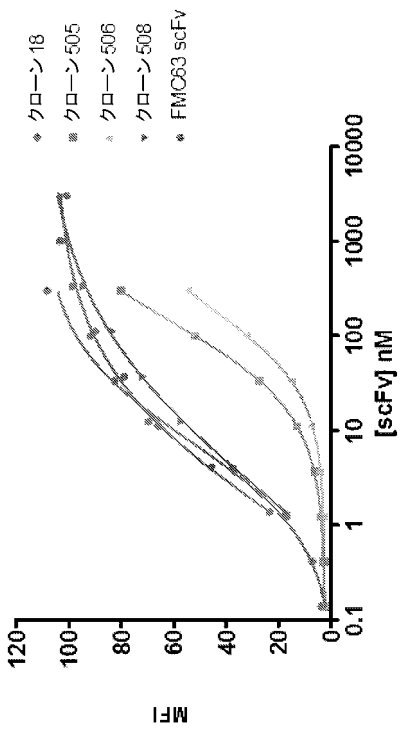

【図１０Ｂ】



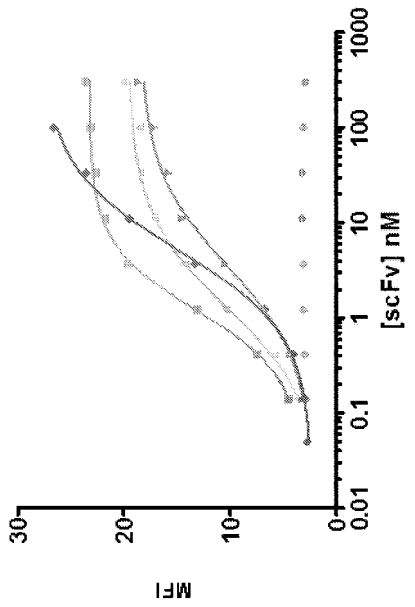

【図１０Ｃ】



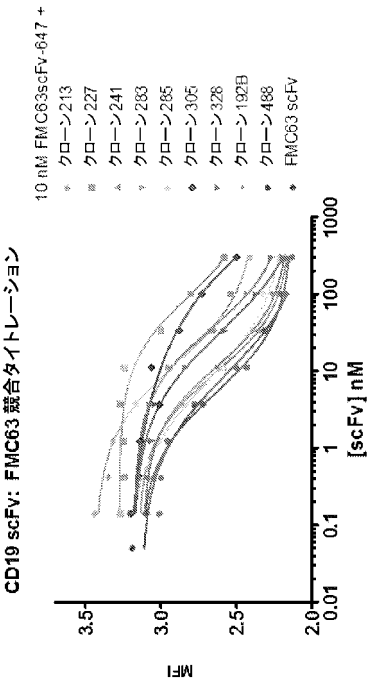

【図１０Ｄ】



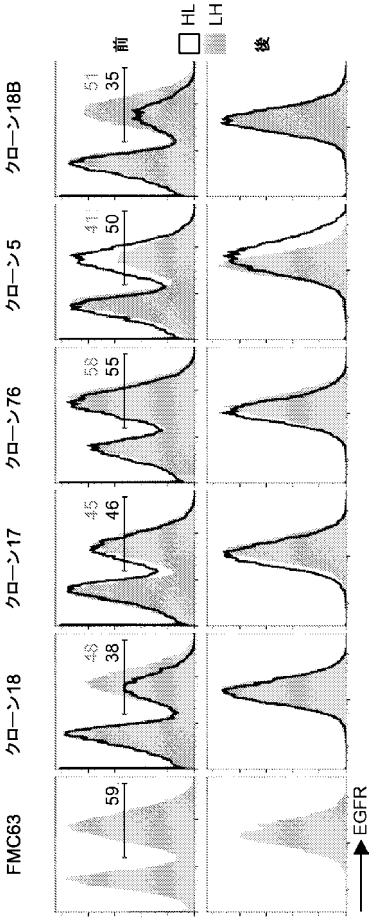
【図１０Ｅ】



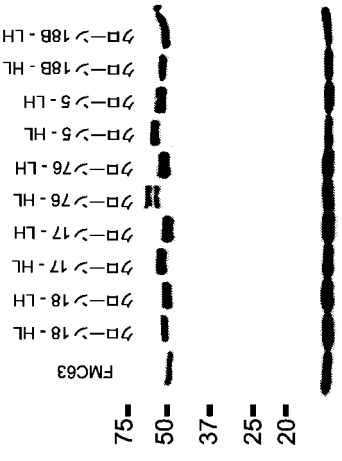

【図１１】



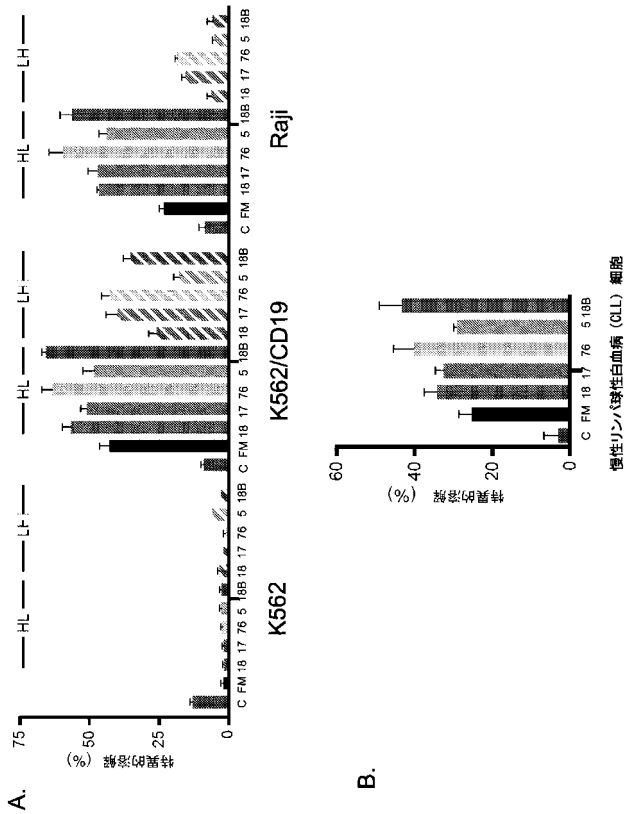

【図１２Ａ】



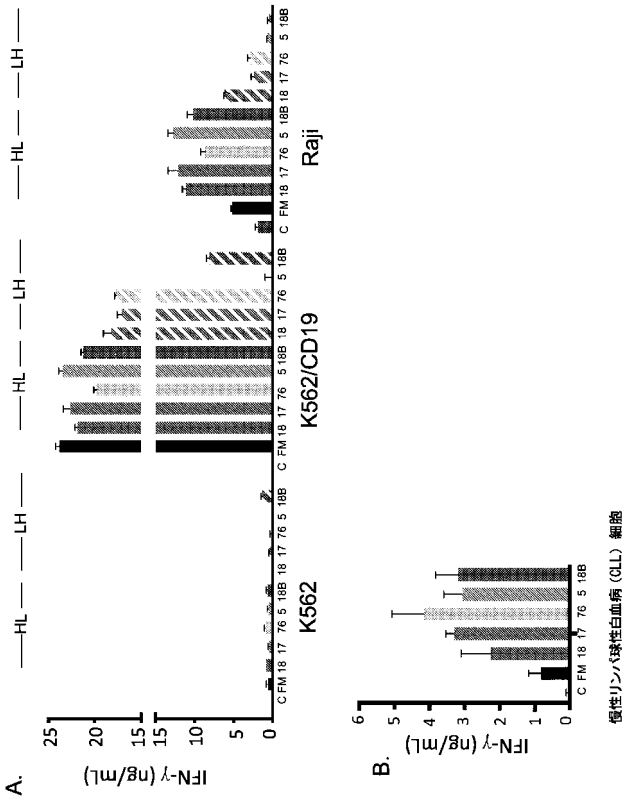

【図１２Ｂ】



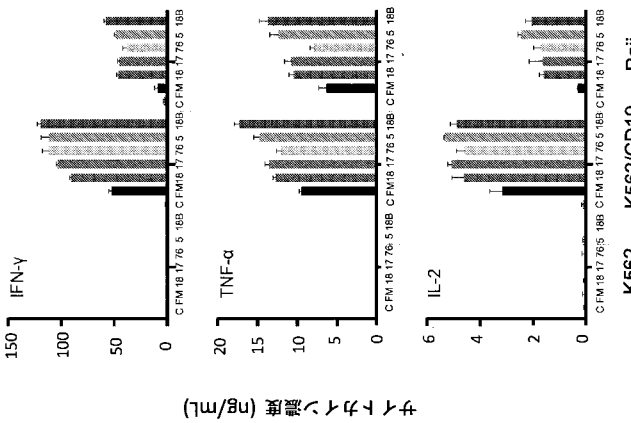
【図１３】



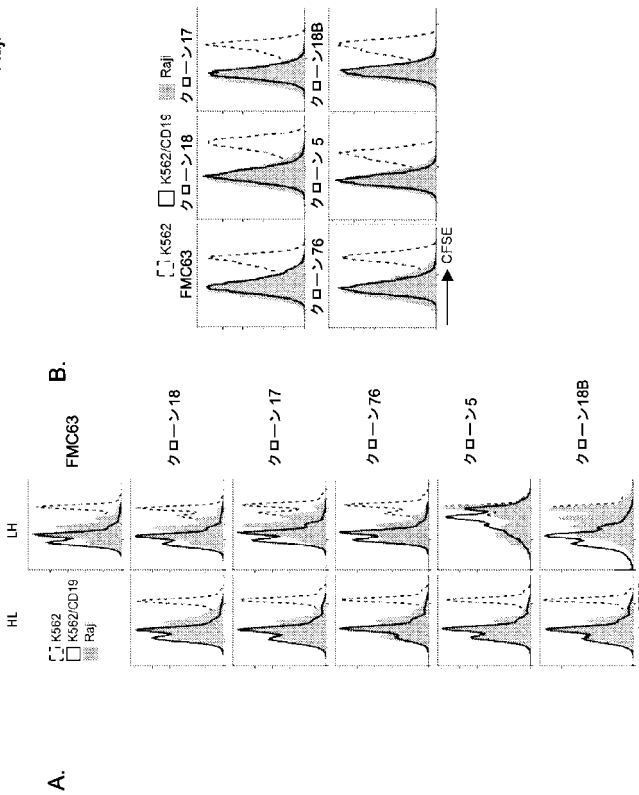

【図１４】



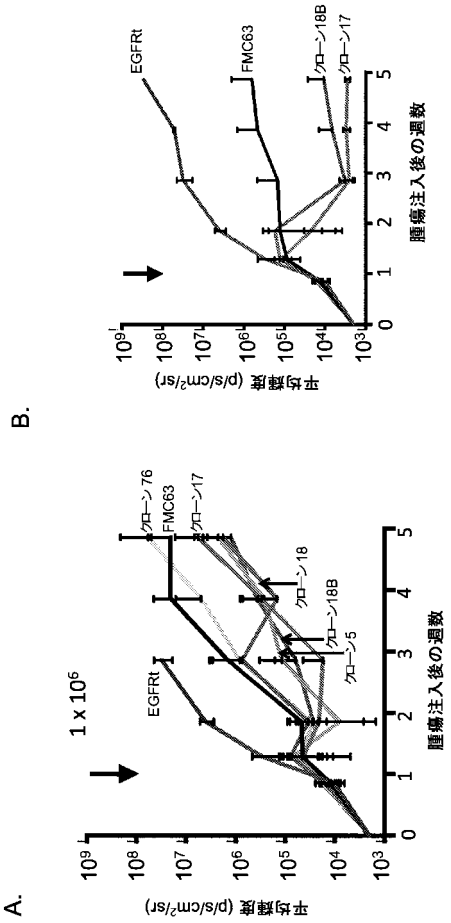

【図１５】



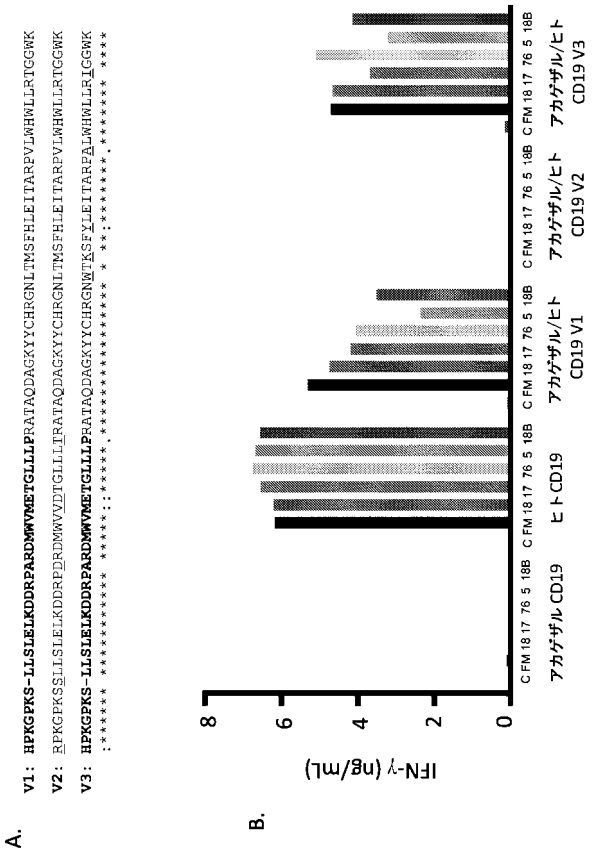

【図１６】



【図１７】




【図１８】




【配列表】

2017526370000001.app

【国際調査報告】

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/047606

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61K35/17 C07K14/725 C07K14/705 C07K19/00
A61P35/00
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | WO 2012/170807 A2 (MEDIMMUNE LLC [US]; DIGIANDOMENICO ANTONIO [US]; WARRENER PAUL G [US];) 13 December 2012 (2012-12-13) sequence 80 ----- | 1-22, 35-38 |
| X | WO 2009/054863 A2 (MEDAREX INC [US]; KING DAVID JOHN [US]; RAO-NAIK CHETANA [US]; PAN CHI) 30 April 2009 (2009-04-30) examples 1-2 page 82 examples 8,9,15,20-22 table 2 ----- | 23-34, 39-43, 51,54-64 |
| X | WO 2009/091826 A2 (UNIV TEXAS [US]; COOPER LAURENCE J N [US]; MANURI PALLAVI [US]; OLIVAR) 23 July 2009 (2009-07-23) paragraphs [0045], [0007], [0049] ----- -/-- | 23-25, 27-33, 44-64 |

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report |
|---|---|
| 20 October 2015 | 27/10/2015 |

| Name and mailing address of the ISA/ | Authorized officer |
|---|---|
| European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016 | Bumb, Peter |

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/047606

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|---|---|---|
| X | US 7 109 304 B2 (HANSEN HANS J [US] ET AL)<br>19 September 2006 (2006-09-19)<br><br>column 1, lines 12,54<br>column 7, lines 46-56<br>column 18, line 36 - column 19, line 5<br>----- | 23-34,<br>39-43,<br>51,54-64 |

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2015/047606

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---|---|
| WO 2012170807 A2 | 13-12-2012 | AU 2012267732 A1 | 09-01-2014 |
| | | CA 2838211 A1 | 13-12-2012 |
| | | CN 103974975 A | 06-08-2014 |
| | | EP 2718320 A2 | 16-04-2014 |
| | | JP 2014519334 A | 14-08-2014 |
| | | KR 20140034877 A | 20-03-2014 |
| | | RU 2014100111 A | 20-07-2015 |
| | | US 2014227285 A1 | 14-08-2014 |
| | | WO 2012170807 A2 | 13-12-2012 |
| WO 2009054863 A2 | 30-04-2009 | AR 064337 A1 | 01-04-2009 |
| | | AU 2007360636 A1 | 30-04-2009 |
| | | BR PI0718349 A2 | 14-01-2014 |
| | | CA 2672800 A1 | 30-04-2009 |
| | | EP 2101817 A2 | 23-09-2009 |
| | | JP 5517626 B2 | 11-06-2014 |
| | | JP 2010513303 A | 30-04-2010 |
| | | KR 20090088940 A | 20-08-2009 |
| | | TW 200833713 A | 16-08-2008 |
| | | US 2010104509 A1 | 29-04-2010 |
| | | WO 2009054863 A2 | 30-04-2009 |
| WO 2009091826 A2 | 23-07-2009 | NONE | |
| US 7109304 B2 | 19-09-2006 | CA 2534639 A1 | 10-02-2005 |
| | | EP 1648512 A2 | 26-04-2006 |
| | | EP 2216342 A1 | 11-08-2010 |
| | | JP 4733635 B2 | 27-07-2011 |
| | | JP 2007528209 A | 11-10-2007 |
| | | JP 2011144191 A | 28-07-2011 |
| | | US 2005070693 A1 | 31-03-2005 |
| | | US 2006257398 A1 | 16-11-2006 |
| | | WO 2005012493 A2 | 10-02-2005 |

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | | | FI | | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Ｃ１２Ｎ* | *1/15* | *(2006.01)* | Ｃ１２Ｎ | 1/15 | | |
| *Ｃ１２Ｎ* | *1/19* | *(2006.01)* | Ｃ１２Ｎ | 1/19 | | |
| *Ｃ１２Ｎ* | *1/21* | *(2006.01)* | Ｃ１２Ｎ | 1/21 | | |
| *Ａ６１Ｐ* | *35/02* | *(2006.01)* | Ａ６１Ｐ | 35/02 | | |
| *Ａ６１Ｋ* | *39/395* | *(2006.01)* | Ａ６１Ｋ | 39/395 | Ｎ | |
| *Ａ６１Ｋ* | *35/17* | *(2015.01)* | Ａ６１Ｋ | 39/395 | Ｔ | |
| | | | Ａ６１Ｋ | 35/17 | Ｚ | |

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 チェン ヤン
アメリカ合衆国 ９８１０９ ワシントン州 シアトル ウエストレイク アベニュー ノース ３０７ スイート ３００ ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド内
(72)発明者 シャーマー スティーブ
アメリカ合衆国 ９８１０９ ワシントン州 シアトル ウエストレイク アベニュー ノース ３０７ スイート ３００ ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド内
(72)発明者 パズマニー チャバ
アメリカ合衆国 ９８１０９ ワシントン州 シアトル ウエストレイク アベニュー ノース ３０７ スイート ３００ ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド内
(72)発明者 ダッターシモンズ ジュイ
アメリカ合衆国 ９８１０９ ワシントン州 シアトル ウエストレイク アベニュー ノース ３０７ スイート ３００ ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド内

Ｆターム(参考) 4B065 AA90X AB01 BA01 CA24 CA25 CA44
4C085 AA14 AA16 BB50 CC03 CC23 DD62 EE01 GG02
4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 MA66 NA14 ZB27

4H045 AA11 AA30 BA10 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA18 BA19
BA20 BA21 BA41 CA40 DA50 DA76 FA74 GA22 GA26 GA31