

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7275118号

(P7275118)

(45)発行日 令和5年5月17日(2023.5.17)

(24)登録日 令和5年5月9日(2023.5.9)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 35/17

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/395

T

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/02

請求項の数 12 (全126頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2020-521362(P2020-521362)

(86)(22)出願日 平成30年10月16日(2018.10.16)

(65)公表番号 特表2021-500881(P2021-500881 A)

(43)公表日 令和3年1月14日(2021.1.14)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/056011

(87)国際公開番号 WO2019/079249

(87)国際公開日 平成31年4月25日(2019.4.25)

審査請求日 令和3年10月14日(2021.10.14)

(31)優先権主張番号 62/572,926

(32)優先日 平成29年10月16日(2017.10.16)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 517435353

レンティジェン・テクノロジー・インコーポレイテッド

LENTIGEN TECHNOLOGY, INC.

アメリカ合衆国、20878 メリーランド州、ゲイザースバーグ、クロッパー・ロード、1201

(73)特許権者 514124403

ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメリカ、アズ リプレゼンテッド バイ ザ セクレタリー、デパートメント オブ ヘルス アンド ヒューマン サービスズ
アメリカ合衆国 メリーランド州 20852 ロックビル、エグゼクティブ ブ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗CD22免疫療法によってがんを処置するための組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

血液がんを治療するための医薬組成物を製造するためのT細胞の集団の使用であって、ここにおいてそれぞれのT細胞はキメラ抗原受容体(CAR)をコードする核酸配列に操作可能に連結された発現制御配列を含み、ここにおいてCARは、配列番号2、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162または172のアミノ酸配列を含むCD22抗原結合ドメインを含む少なくとも1つの細胞外の抗原結合ドメインと、少なくとも1つのリンカーまたはスペーサドメインと、少なくとも1つの膜貫通ドメインと、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、ここにおいてT細胞はがん患者のT細胞であり、発現されたCARは血液がんを標的とする、使用。

【請求項2】

少なくとも1つの膜貫通ドメインは、T細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137またはCD154から選択されたタンパク質の膜貫通ドメインを含む、請求項1に記載の使用。

【請求項3】

少なくとも1つのCD22抗原結合ドメイン、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメイン、またはその両方は、リンカーまたはスペーサドメインによって、前記膜貫通ドメ

インに結合される、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 4】

少なくとも 1 つのリンカーまたはスペーサドメインは、CD 8 または CD 28 の細胞外ドメインに由来し、かつ、少なくとも 1 つの膜貫通ドメインに結合している、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 5】

コードされる細胞外の CD 22 抗原結合ドメインは、リーダーペプチドをコードするリーダーヌクレオチド配列の後ろに位置する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 6】

少なくとも 1 つの細胞内シグナル伝達ドメインは、CD 3 ゼータ細胞内ドメインをさらに含む、請求項 1 に記載の使用。

10

【請求項 7】

細胞外の CD 22 抗原結合ドメインをコードする核酸配列は、配列番号 1、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161 または 171 のヌクレオチド配列を含む、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 8】

少なくとも 1 つの細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメイン、一次シグナル伝達ドメイン、またはこれらの任意の組み合わせを含む、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 9】

少なくとも 1 つの共刺激ドメインは、OX 40、CD 70、CD 27、CD 28、CD 5、ICAM-1、LFA-1 (CD 11a/CD 18)、ICOS (CD 278)、DAP 10、DAP 12 または 4-1BB (CD 137) を含む、請求項 8 に記載の使用。

20

【請求項 10】

前記血液がんは白血病、リンパ腫または多発性骨髄腫である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 11】

前記白血病は、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性リンパ球性白血病 (ALL)、または慢性骨髄性白血病 (CML) である、請求項 10 に記載の使用。

【請求項 12】

前記リンパ腫は、マントル細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫 (NHL) またはホジキンリンパ腫である、請求項 10 に記載の使用。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願との相互参照

本願は、米国特許法第 119 (e) 条に準拠して、2017 年 10 月 16 日付で提出された米国仮特許出願第 62/572,926 号に基づく優先権を主張する。同米国仮特許出願の全記載内容を引用により本明細書に援用する。

【0002】

配列表

本願は、ASCII 様式にて電子的に提出された配列表を含み、この配列表の全体を引用により本明細書に援用する。この ASCII のコピー (2018 年 10 月 12 日作成) のファイル名は「Sequence Listing.txt」であり、サイズは 234 キロバイトである。

40

【0003】

連邦政府の資金援助を受けた研究または開発に関する記述

本発明は、アメリカ国立衛生研究所と米国保健福祉省の一機関との共同研究開発契約 (Cooperative Research and Development Agreement) の実現によってなされたものである。米国政府は、本発明において一定の権利を有する。

【0004】

50

本開示の分野

本願は、がんの分野、特に、CD22抗原結合ドメイン、このCD22抗原結合ドメインを含有するキメラ抗原受容体(CAR)、およびその使用方法に関する。

【背景技術】

【0005】

背景

がんは、人間の健康にとって非常に致死率の高い脅威の1つである。がんは、米国だけで毎年130万人近くが新たに罹患し、死亡原因としては心血管疾患に続いて第2位であり、死亡例の4例に1例はがんによるものである。こうした死亡例のほとんどは固形腫瘍が原因である。いくつかの特定のがんの医学的処置は著しく進歩したが、すべてのがんを合わせた5年生存率は、過去20年間で約10%しか改善されていない。がんまたは悪性腫瘍の転移および増殖は急速かつ制御不可能であるため、処置が極めて困難である。

【0006】

現行のB系白血病の標準治療は、高用量の化学療法または放射線療法による寛解導入処置に続いて地固め療法を行なうものであると考えられるが、必要に応じて幹細胞移植およびさらなる化学療法を行なうことを特徴とし得る(ワールドワイドウェブのcancer.govを参照)。こうした処置は毒性が高く、再発、二次性悪性腫瘍、または移植片対宿主病(GVHD)などの合併症のリスクもあるため、これに代わるより良い治療法が探索されている。CD22は、SIGLEC-2(シアル酸結合免疫グロブリン様レクチン-2)としても知られ、95kDaの膜貫通型表面糖タンパク質であり、6つのIg様C2型ドメインおよび1つのIg様V型ドメインを含有する(uniprot.org/uniprot/P20273#structure、アクセス日:2017年7月12日)。B細胞の個体発生過程において、CD22は、プレB細胞期のB細胞表面上に発現し、成熟B細胞まで持続して、血漿細胞にて消失する(Nitschke L, 2009, Immunological Reviews, 230:128-143)。CD22は、細胞内にITIM(免疫受容抑制性チロシンモチーフ(immuoreceptor tyrosine-based inhibition motifs))ドメインを含有し、このITIMドメインは、B細胞受容体が抗原と結合すると、続いて細胞の活性化を下方調節するよう働く。CD22に抗体が結合すると、リン酸化(phosphorylation)に基づくシグナル伝達を同じく下方調節するよう働く細胞内ホスファターゼであるSHP-1との共局在化が誘発される(Lumb S, Fleishcer SJ, Wiedemann A, Daridon C, Maloney A, Shock A, Dornier T, 2016, Journal of Cell Communication and Signaling, 10:143-151)。このことは、B細胞性悪性腫瘍の処置との関連において重要である。というのは、CD22は厳密に調節された様式で正常B細胞上に発現しているが、造血幹細胞または成熟血漿細胞には発現しておらず、したがって、B細胞白血病の好適な標的抗原となるためである。CD22が成人B細胞性悪性腫瘍および小児B細胞性悪性腫瘍(pre-B-ALL)の両方に発現していることから、この標的を活用して、抗体およびキメラ抗原受容体(CAR)-T細胞の両方に基づく療法が見いだされた(Haso W, Lee DW, Shah NN, Stetler-Stevenson M, Yuan CM, Pastan IH, Dimitrov DS, Morgan RA, FitzGerlad DJ, Barrett DM, Wayne AS, Mackall CL, Orentas RJ, 2013, Blood, 121:1165-1174)(Wayne AS, Kreitman RJ, Findley HW, Lew G, Delbrook C, Steinberg SM, Stetler-Stevenson M, FitzGerald DJ, Pastan I, 2010, Clinical Cancer Research, 16:1894-1903)。

【0007】

B細胞白血病およびリンパ腫を処置するために多くの新たなアプローチが開発されており、その中には、細菌毒素または化学療法剤に結合させた抗CD22抗体が含まれる(W

10

20

30

40

50

ayne AS, FitzGerald DJ, Kreitman RJ, Pastan I, 2014, Immunotoxins for leukemia, Blood, 123:2470-2477)。イノツズマブ オゾガマイシン (CMC-544、ヒト化マウスモノクローナル抗体G5/44) は抗体薬物複合体であり、現在、単一剤として、または化学療法との組み合わせとして、臨床試験での評価が進められている (NCT01664910、資金援助: MDアンダーソンがんセンター (M. D. Anderson Cancer Center)) (DiJoseph JFら, 2004, Blood, 103:1807-1814)。単一剤としての転帰は、標準的な療法で観察された転帰に比べて良好であったが、著しい肝毒性が認められた (Kantarjian Hら, 2016, Inotuzumab ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia (ALL), New England Journal of Medicine, 375:740-753)。無改変のCD22治療用抗体であるエブラツズマブについても、化学療法との組み合わせでの試験が進行中である (NCT01219816、資金援助: ナント大学病院 (Nantes University Hospital))。エブラツズマブは、マウスのCDRをヒト抗体のフレームワークにグラフトさせて構成されるキメラタンパク質である。モキセツモマブ パスドトクス (Moxetumomab pasudotox) は、ある種の白血病には有効であるが、当該抗体が融合している細菌毒素の免疫原性の問題、および活性レベルが中程度または他の剤と同等であるという問題があるために、幅広い臨床開発は実施されていない (NCT01829711を参照、資金援助: Med Immune社)。これまでにCARコンストラクトに使用されたCD22結合部位の多くは、上述されるマウス抗体に由来するドメインを利用したものであり、このCD22ドメインを標的とするT細胞を有効に活性化するものではない (モキセツモマブ パスドトクスの基幹として使用されるHA22 (抗CD22バインダ) など。James SE, Greenberg PD, Jensen MC, Lin Y, Wang J, Till BG, Raubitschek AA, Forman SJ, Press OW, 2008, Journal of Immunology 180:7028-7038を参照)。抗CD22 CARとして有効な1種の抗CD22バインダが、現在、アメリカ国立衛生研究所 (NIH) において臨床試験中であるが、結果はまだ発表されていない (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02315612, Anti-CD22 Chimeric Receptor T Cells in Pediatric and Young Adults with Recurrent or Refractory CD22-expressing B Cell Malignancies, sponsor: NCI)。このバインダは、本願の発明者の1人であるDimiter Dimitrov博士の研究室で開発されたm971完全ヒト抗体に基づくものである (Xiao X, Ho M, Zhu Z, Pastan I, Dimitrov D, 2009, Identification and characterization of fully human anti-CD22 monoclonal antibodies, MABS, 1:297-303)。このm971ドメインは、本願の発明者のうち別の1人であるRimas Orentas博士の指導による研究において、CARとして有効であることが立証された (Haso Wら, 2013, Anti-CD22-CARs targeting B-cell precursor ALL, Blood, 121:1165-1174)。

【0008】

キメラ抗原受容体 (CAR) は、(1) 細胞外の抗原結合モチーフ、(2) 結合/膜貫通モチーフ、および (3) 細胞内のT細胞シグナル伝達モチーフという3つの必須ユニットからなる混成分子である (Long AH, Haso WM, Orentas RJ. Lessons learned from a highly-active CD22-specific CAR. Oncoimmunology. 2013; 2(4): e23621)。CARの抗原結合モチーフは、一般的に、免疫グロブリン (Ig) 分子の最

10

20

30

40

50

も小さい結合ドメインである一本鎖可変断片 (single chain Fragment variable; ScFv) を模して作製される。受容体リガンド (すなわち、腫瘍において発現する IL-13 受容体に結合するように IL-13 を設計した) などの他の抗原結合モチーフ、完全型免疫受容体、ライブラリ由来のペプチド、および自然免疫系エフェクター分子 (たとえば、NKGD2) も、設計によって CAR に組み込まれている。CAR を発現させる他の細胞標的 (NK またはガンマデルタ T 細胞など) も開発中である (Brown CE ら Clin Cancer Res. 2012; 18 (8): 2199-209; Lehner M ら PLoS One. 2012; 7 (2): e31210)。CAR ベクターを用いて形質導入する T 細胞集団のうち活性が最も高いものを明らかにし、最適な培養および増殖技術を見つけ、CAR タンパク質の構造自体を分子レベルで詳細に解明するには、さらに相当の労力が費やされなければならない。

【0009】

CAR の結合モチーフは、IgG の定常ドメインなどの比較的安定な構造ドメインであってよい、または、長い可動性リンカーとして設計できる。IgG 定常ドメイン由来構造モチーフなどの構造モチーフを使用して、T 細胞細胞膜表面から遠い位置まで ScFv 結合ドメインを引き延ばすことができる。このことは、結合ドメインが腫瘍細胞表面膜の特に近くにあるいくつかの腫瘍標的 (ジシアロガングリオシド GD2 など; Orentas ら、この観察は未公開) にとって重要である可能性がある。これまで CAR において使用されているシグナル伝達モチーフはいずれも、CD3-ゼータ鎖を含む。というのは、このコアモチーフは T 細胞活性化にとって重要なシグナルであるためである。最初に報告された第 2 世代の CAR は、CD28 シグナル伝達ドメインおよび CD28 膜貫通配列を特徴とするものであった。このモチーフは、CD137 (4-1BB) シグナル伝達モチーフをさらに含有する第 3 世代の CAR に使用された (Zhao Y ら J Immunol. 2009; 183 (9): 5563-74)。新技術が出現したことによって、抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体に結合したビーズによる T 細胞の活性化、ならびに CD28 からの古典的な「シグナル 2」の存在を、CAR 自体がコードする必要はもはやなくなった。ビーズ活性化を用いた第 3 世代ベクターは、in vitro アッセイにおいて第 2 世代ベクターを超えるものではないことが分かり、さらに、白血病マウスモデルにおいて第 2 世代ベクターを明らかに超える利益を提供するものではなかった (Haso W, Lee DW, Shah NN, Stetler-Stevenson M, Yuan CM, Pastan IH, Dimitrov DS, Morgan RA, Fitzgerald DJ, Barrett DM, Wayne AS, Mackall CL, Orentas RJ. Anti-CD22-CARs targeting B cell precursor ALL, Blood. 2013; 121 (7): 1165-74; Kochenderfer JN ら Blood. 2012; 119 (12): 2709-20)。CD137 に加えて、OX40 などの腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーの他のメンバーも、CAR が形質導入された T 細胞において重要な持続性シグナルを提供できる (Yvon E ら Clin Cancer Res. 2009; 15 (18): 5852-60)。これと同様に重要なのは、CAR T 細胞集団を培養した培養条件、たとえば、サイトカイン IL-2、IL-7、および/または IL-15 を含めることなどである (Kaiser AD ら Cancer Gene Ther. 2015; 22 (2): 72-78)。

【0010】

現時点で、CAR 療法をがんに対してさらに幅広く効果的に適応するにあたっての課題は、有望な標的が存在しないことに関連する。細胞表面抗原に結合するバインダの作製は現在では容易に達成できるが、腫瘍に特異的でありかつ正常組織に影響を及ぼさない細胞表面抗原の発見は、依然として非常に困難である。CAR 発現 T 細胞に、これまでよりも強い標的細胞特異性を与え得る方法として、複数の CAR アプローチを組み合わせる方法がある。1 つの系において、CD3-ゼータシグナルユニットおよび CD28 シグナルユニットを、同一細胞中に発現させた 2 つの異なる CAR コンストラクトのそれぞ

10

20

30

40

50

れに分割し、別の系において、2つのCARを同一T細胞中に発現させるが、そのうち一方のほうが親和性が低いため、もう一方のCARを最初に結合させて、後者のCARの活性を最大限とする必要がある(Lanitis Eら Cancer Immunol Res. 2013; 1(1): 43-53; Kloss CCら Nat Biotechnol. 2013; 31(1): 71-5)。単一のScFvに基づくCARを免疫療法剤として作製するにあたっての2つめの課題は、腫瘍細胞が均一でないことである。少なくとも1つのグループが、CARを用いた神経膠芽細胞腫の治療法を開発しており、この方法は、エフェクター細胞集団が同時に複数種の抗原(HER2、IL-13Ra、EphA2)を標的とするもので、標的抗原を有さない集団の増殖回避を試みたものである(Hegde Mら Mol Ther. 2013; 21(11): 2087-101)。

【0011】

T細胞に基づく免疫療法は、合成生物学における新たな最先端領域となった。この高効力の細胞を腫瘍微小環境へ誘導する目的で複数のプロモーターおよび遺伝子産物が構想されており、T細胞は、腫瘍微小環境において、負の制御シグナルを回避して効果的な腫瘍の死滅を仲介し得る。AP1903などの二量体化誘導化学物質を使用した誘導性カスパーゼ9コンストラクトの二量化(薬剤に誘発される二量化)によって不要なT細胞を除去する手法は、T細胞集団を制御できる強力なスイッチを薬理的に始動させ得る1つの方策を提示するものである(Di Stasi Aら N Engl J Med. 2011; 365(18): 1673-83)。さらに、おとりの受容体を発現させることにより、形質転換増殖因子βの負の制御作用に反応しないエフェクターT細胞集団を作製する手法は、最適な抗腫瘍活性を得るためにエフェクターT細胞を操作できる程度を示す(Foster AEら J Immunother. 2008; 31(5): 500-5)。したがって、CARは内因性T細胞受容体と類似する様式にてT細胞活性化をトリガできるようではあるが、現時点では、in vivoにおけるCAR+ T細胞の増殖が限られていること、この細胞が輸液後すぐに消失すること、および臨床活動が不調であることが大きな障害となっていて、当該技術の臨床応用は進んでいない。使用されたCAR配列のいくつかはマウス由来であることに一部起因する可能性があり、本明細書中に開示される発明は、この問題に直接対処するものである。

【0012】

よって、上述される問題を呈さずに特異的かつ高効力の抗腫瘍作用を示し得る手法を使用することによって、B-ALL、DLBCL、FL、および他のCD22発現B細胞性悪性腫瘍を処置するための新規の組成物および方法を発見することが、当技術分野において緊急的かつ長年にわたって必要とされている。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明は、がんならびに他の疾患および／または状態の処置に使用できるCAR組成物ならびに治療方法を提供することによって、上述される必要性に対処するものである。特に、本明細書中に開示および記載される本発明は、CD22の調節不全発現に関連する疾患、障害、または状態の処置に使用できるCARを提供し、このCARは、形質導入T細胞上での表面発現が高いCD22抗原結合ドメインを含有し、CD22発現細胞の細胞溶解の程度が高く、かつ、形質導入T細胞がin vivoにおいて増殖および持続する。

【課題を解決するための手段】

【0014】

概要

新規の抗CD22抗体、またはその抗原結合ドメイン、およびこのようなCD22抗原結合ドメインを含有するキメラ抗原受容体(CAR)、および、この受容体を発現する宿主細胞(たとえば、T細胞)、およびこの受容体をコードする核酸分子が、本明細書中に提供される。このCARは、形質導入T細胞上での表面発現が高く、細胞溶解の程度が高く、かつ形質導入T細胞がin vivoにおいて増殖および持続する。さらに、

たとえば、対象におけるがんを処置するための、開示されるCAR、宿主細胞、および核酸分子の使用方法が提供される。

【0015】

したがって、一態様において、配列番号1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、および171からなる群より選択される核酸配列を含む、ヒト抗CD22抗体またはその断片をコードする単離されたポリヌクレオチドが提供される。

【0016】

一実施形態において、完全ヒト抗CD22抗体またはその断片をコードする単離されたポリヌクレオチドが提供され、ここで、この抗体またはその断片は、Fab断片、F(ab')₂断片、Fv断片、および一本鎖Fv (ScFv) からなる群より選択される断片を含む。

10

【0017】

一実施形態において、完全ヒト抗CD22抗体またはその断片をコードする単離されたポリヌクレオチドが提供され、ここで、この抗体またはその断片は、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、および172からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。

【0018】

一態様において、N末端からC末端に向かって、配列番号1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、および171からなる群より選択される核酸配列を含むヌクレオチド配列によってコードされる少なくとも1つのCD22抗原結合ドメインと、少なくとも1つの膜貫通ドメインと、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインとを含むCARをコードする単離された核酸分子が提供される。

20

【0019】

一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22抗原結合ドメインは、CD22に結合する抗体の少なくとも1つの一本鎖可変断片を含む。

【0020】

別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22抗原結合ドメインは、CD22に結合する抗体の少なくとも1つの重鎖可変領域を含む。

30

【0021】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされるCARの細胞外のCD22抗原結合ドメインは、CD22に結合する、少なくとも1つのリポカリンに基づく抗原結合抗原（アンチカリン）をさらに含む。

【0022】

一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22抗原結合ドメインは、リンカードメインによって、膜貫通ドメインに結合している。

40

【0023】

別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされるCD22の細胞外の抗原結合ドメインは、リーダーまたはシグナルペプチドをコードする配列の後ろに位置する。

【0024】

さらに別の一実施形態において、配列番号1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、および171からなる群より選択される核酸配列を含むヌクレオチド配列によってコードされる少なくとも1つのCD22抗原結合ドメインを含むCARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、CARは、CD20、CD22、ROR1、メソテリン、CD3

50

3、CD38、CD123 (IL3RA)、CD138、BCMA (CD269)、GPC2、GPC3、FGFR4、c-Met、PSMA、糖脂質F77、EGFRvIII、GD-2、TSLPR、NY-ESO-1 TCR、MAGE A3 TCR、またはこれらの任意の組み合わせを含む（がこれらに限定されない）抗原を標的とする細胞外の抗原結合ドメインをさらにコードする。

【0025】

特定の実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、さらにコードされる細胞外の抗原結合ドメインは、抗CD19 ScFv抗原結合ドメイン、抗CD20 ScFv抗原結合ドメイン、抗ROR1 ScFv抗原結合ドメイン、抗メソテリンScFv抗原結合ドメイン、抗CD33 ScFv抗原結合ドメイン、抗CD38 ScFv抗原結合ドメイン、抗CD123 (IL3RA) ScFv抗原結合ドメイン、抗CD138 ScFv抗原結合ドメイン、抗BCMA (CD269) ScFv抗原結合ドメイン、抗GPC2 ScFv抗原結合ドメイン、抗GPC3 ScFv抗原結合ドメイン、抗FGFR4 ScFv抗原結合ドメイン、抗TSLPR ScFv抗原結合ドメイン、抗c-Met ScFv抗原結合ドメイン、抗PMSA ScFv抗原結合ドメイン、抗糖脂質F77 ScFv抗原結合ドメイン、抗EGFRvIII ScFv抗原結合ドメイン、抗GD-2 ScFv抗原結合ドメイン、抗NY-ESO-1 TCR ScFv抗原結合ドメイン、抗MAGE A3 TCR ScFv抗原結合ドメイン、またはこれらとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0026】

一態様において、本明細書中において提供されるCARは、リンカーまたはスペーサドメインをさらに含む。

【0027】

一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、細胞外のCD22抗原結合ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメイン、またはその両方は、リンカーまたはスペーサドメインによって、膜貫通ドメインに結合される。

【0028】

一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされるリンカードメインは、CD8またはCD28の細胞外ドメインに由来し、かつ、膜貫通ドメインに結合している。

【0029】

別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされるCARは、T細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD83、CD86、CD134、CD137、CD154、TNFRSF19、またはこれらの組み合わせからなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む膜貫通ドメインをさらに含む。

【0030】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3ゼータ細胞内ドメインをさらに含む。

【0031】

別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメイン、一次シグナル伝達ドメイン、またはこれらの組み合わせを含む。

【0032】

さらなる実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる少なくとも1つの共刺激ドメインは、OX40、CD70、CD27、CD28、CD5、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (C

10

20

30

40

50

D278)、DAP10、DAP12、および4-1BB(CD137)、またはこれらの組み合わせの機能的シグナル伝達ドメインを含む。

【0033】

一実施形態において、リーダー配列またはシグナルペプチドをさらに含有するCARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、リーダーまたはシグナルペプチドのヌクレオチド配列は、配列番号190のヌクレオチド配列を含む。

【0034】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされるリーダー配列は、配列番号191のアミノ酸配列を含む。

【0035】

一態様において、N末端からC末端に向かって、少なくとも1つのCD22抗原結合ドメインと、少なくとも1つの膜貫通ドメインと、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインとを含むCARが、本明細書中において提供される。

【0036】

一実施形態において、CARが提供され、ここで、細胞外のCD22抗原結合ドメインは、抗原に結合する抗体の少なくとも1つの一本鎖可変断片、または抗原に結合する抗体の少なくとも1つの重鎖可変領域、またはこれらの組み合わせを含む。

【0037】

別の一実施形態において、CARが提供され、ここで、少なくとも1つの膜貫通ドメインは、T細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、TNFRSF19、またはこれらの組み合わせからなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含む。

【0038】

いくつかの実施形態において、CARが提供され、ここで、CARは、CD19、CD20、ROR1、メソテリン、CD33、CD38、CD123(IL3RA)、CD138、BCMA(CD269)、GPC2、GPC3、FGFR4、TSLPR、c-Met、PSMA、糖脂質F77、EGFRvIII、GD-2、TSLPR、NY-ESO-1 TCR、MAGE A3 TCR、またはこれらとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列、またはこれらの任意の組み合わせを含む細胞外の抗原結合ドメインをさらにコードする。

【0039】

一実施形態において、CARが提供され、ここで、細胞外の抗原結合ドメインは、抗CD19 ScFv抗原結合ドメイン、抗CD20 ScFv抗原結合ドメイン、抗ROR1 ScFv抗原結合ドメイン、抗メソテリンScFv抗原結合ドメイン、抗CD33 ScFv抗原結合ドメイン、抗CD38 ScFv抗原結合ドメイン、抗CD123(IL3RA) ScFv抗原結合ドメイン、抗CD138 ScFv抗原結合ドメイン、抗BCMA(CD269) ScFv抗原結合ドメイン、抗GPC2 ScFv抗原結合ドメイン、抗GPC3 ScFv抗原結合ドメイン、抗FGFR4 ScFv抗原結合ドメイン、抗TSLPR ScFv抗原結合ドメイン、抗c-Met ScFv抗原結合ドメイン、抗PSMA ScFv抗原結合ドメイン、抗糖脂質F77 ScFv抗原結合ドメイン、抗EGFRvIII ScFv抗原結合ドメイン、抗GD-2 ScFv抗原結合ドメイン、抗NY-ESO-1 TCR ScFv抗原結合ドメイン、抗MAGE A3 TCR ScFv抗原結合ドメイン、またはこれらとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0040】

別の一実施形態において、CARが提供され、ここで、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインは、共刺激ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む。

【0041】

10

20

30

40

50

さらに別の実施形態において、CARが提供され、ここで、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインは、OX40、CD70、CD27、CD28、CD5、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)、ICOS (CD278)、DAP10、DAP12、および4-1BB (CD137)、またはこれらの組み合わせからなる群より選択されるタンパク質の機能的シグナル伝達ドメインを含む共刺激ドメインを含む。

【0042】

一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号3の核酸配列 (L T G 2 2 0 2 L P - 1 6 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核酸配列 (図2A)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号4のアミノ酸配列 (L T G 2 2 0 2 L P - 1 6 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2A)) を含むCARをコードする。

10

【0043】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号13の核酸配列 (L T G 2 2 4 6 L P - 2 4 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核酸配列 (図2B)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号14のアミノ酸配列 (L T G 2 2 4 6 L P - 2 4 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2B)) を含むCARをコードする。

【0044】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号23の核酸配列 (L T G 2 2 4 7 L P - 2 5 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARヌクレオチド配列 (図2C)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号24のアミノ酸配列 (L T G 2 2 4 7 L P - 2 5 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2C)) を含むCARをコードする。

20

【0045】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号33の核酸配列 (L T G 2 2 4 8 L P - 1 1 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核酸配列 (図2D)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号34のアミノ酸配列 (L T G 2 2 4 8 L P - 1 1 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2D)) を含むCARをコードする。

【0046】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号43の核酸配列 (L T G 2 2 4 9 L P - 1 2 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核酸配列 (図2E)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号28のアミノ酸配列 (L T G 2 2 0 8 L P - 1 2 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2E)) を含むCARをコードする。

30

【0047】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号53の核酸配列 (L T G 2 2 0 3 L P - 1 6 P 3 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核酸配列 (図2F)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号54のアミノ酸配列 (L T G 2 2 0 3 L P - 1 6 P 3 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2F)) を含むCARをコードする。

40

【0048】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号63の核酸配列 (L T G 2 2 0 4 L P - 1 6 P 1 6 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核酸配列 (図2G)) を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号34のアミノ酸配列 (L T G 2 2 0 4 L P - 1 6 P 1 6 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CARアミノ酸配列 (図2G)) を含むCARをコードする。

【0049】

別の実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号73の核酸配列 (L T G 2 2 0 5 L P - 1 6 P 2 0 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ CAR核

50

酸配列（図 2 H））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 74 のアミノ酸配列（L T G 2 2 0 5 L P - 1 6 P 2 0 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 H））を含む C A R をコードする。

【0050】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 83 の核酸配列（L T G 2 2 0 6 L P - 1 6 P 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 I））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 84 のアミノ酸配列（L T G 2 2 0 6 L P - 1 6 P 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 I））を含む C A R をコードする。

【0051】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 93 の核酸配列（L T G 2 2 0 7 L P - 1 6 P 6 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 J））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 94 のアミノ酸配列（L T G 2 2 0 5 L P - 1 6 P 2 0 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 J））を含む C A R をコードする。

【0052】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 103 の核酸配列（L T G 2 2 0 8 L P - 1 6 P 1 0 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 K））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 104 のアミノ酸配列（L T G 2 2 0 8 L P - 1 6 P 1 0 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 K））を含む C A R をコードする。

【0053】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 113 の核酸配列（L T G 2 2 0 9 L P - 1 6 P 1 7 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 L））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 114 のアミノ酸配列（L T G 2 2 0 9 L P - 1 6 P 1 7 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 L））を含む C A R をコードする。

【0054】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 123 の核酸配列（L T G 2 2 1 0 L P - 1 6 P 2 0 v 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 M））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 124 のアミノ酸配列（L T G 2 2 1 0 L P - 1 6 P 2 0 v 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 M））を含む C A R をコードする。

【0055】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 133 の核酸配列（L T G 2 2 1 6 L P - 1 6 P 1 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 N））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 134 のアミノ酸配列（L T G 2 2 1 6 L P - 1 6 P 1 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 H））を含む C A R をコードする。

【0056】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 143 の核酸配列（L T G 2 2 1 7 L P - 1 6 P 3 v 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 O））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 144 のアミノ酸配列（L T G 2 2 1 7 L P - 1 6 P 3 v 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 O））を含む C A R をコードする。

【0057】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 153 の核酸配列（L T G 2 2 1 8 L P - 1 6 P 8 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 P））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 154 のアミノ酸配列（L T G 2 2 1 8 L P - 1 6 P 8 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C

10

20

30

40

50

A R アミノ酸配列（図 2 P））を含む C A R をコードする。

【0058】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 163 の核酸配列（L T G 2219 L P - 16 P 13 - C D 8 T M - 41 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 Q））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 164 のアミノ酸配列（L T G 2219 L P - 16 P 13 - C D 8 T M - 41 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 Q））を含む C A R をコードする。

【0059】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 173 の核酸配列（L T G 2220 L P - 16 P 15 - C D 8 T M - 41 B B - C D 3 ゼータ C A R 核酸配列（図 2 R））を含む。一実施形態において、核酸配列は、配列番号 174 のアミノ酸配列（L T G 2220 L P - 16 P 15 - C D 8 T M - 41 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 R））を含む C A R をコードする。

【0060】

一態様において、本明細書中に開示される C A R は、がん患者の診断、モニタリング、および／もしくは無増悪生存などの処置転帰の予測において使用するための、またはこのような処置の進捗をモニタリングするための、検出可能なマーカーを発現または含有するように改変される。

【0061】

一実施形態において、開示される C A R をコードする核酸分子は、ウイルスベクターなどのベクター中に含有されてよい。ベクターは、DNA ベクター、RNA ベクター、プラスミドベクター、コスミドベクター、ヘルペスウイルスベクター、麻疹ウイルスベクター、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、またはレトロウイルスベクター、またはこれらの組み合わせである。

【0062】

特定の実施形態において、ベクターはプロモーターをさらに含み、このプロモーターは、誘導性プロモーター、組織特異的プロモーター、構成的プロモーター、自殺プロモーター、またはこれらの任意の組み合わせである。

【0063】

さらに別の一実施形態において、C A R を発現するベクターは、C A R T 細胞の発現を制御するため、または自殺スイッチによって C A R T 細胞を除去するための、1 つ以上の作動可能な要素を含むようにさらに改変されてよい。この自殺スイッチは、たとえば、アポトーシス誘発シグナル伝達カスケードまたは細胞死を誘発する薬物を含んでよい。好ましい一実施形態において、C A R を発現するベクターは、チミジンキナーゼ（T K）またはシトシンデアミナーゼ（C D）などの酵素を発現するようさらに改変されてよい。

【0064】

別の一態様において、C A R をコードする核酸分子を含む宿主細胞がさらに提供される。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、対象から得られる初代 T 細胞などの T 細胞である。一実施形態において、宿主細胞は、C D 8 + T 細胞である。

【0065】

さらに別の一態様において、抗腫瘍有効量のヒト T 細胞の集団を含む医薬組成物が提供され、ここで、T 細胞は、C A R をコードする核酸配列を含み、C A R は、配列番号 2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、または 172 のアミノ酸配列を含む C D 22 抗原結合ドメインを含む少なくとも 1 つの細胞外の抗原結合ドメインと、少なくとも 1 つのリンカードメインと、少なくとも 1 つの膜貫通ドメインと、少なくとも 1 つの細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、T 細胞は、がんを有するヒトの T 細胞である。がんは、とりわけ、白血病（たとえば、C L L、A L L、A M L、または C M L）、リンパ腫（たとえば、マントル細胞リンパ腫、非ホジキンリンパ腫（N H L）、またはホジキンリンパ腫）、または多発性骨髄腫、またはこれらの組み合わせなどの血液がんを含む。

【0066】

一実施形態において、医薬組成物が提供され、ここで、CARの少なくとも1つの膜貫通ドメインは、T細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、メソテリン、CD33、CD37、CD64、CD80、CD83、CD86、CD134、CD137、CD154、TNFRSF19、またはこれらの組み合わせからなる群より選択されるタンパク質の膜貫通ドメインを含有する。

【0067】

別の一実施形態において、医薬組成物が提供され、ここで、ヒトのがんは、口腔および咽頭がん（舌、口、咽頭、頭頸部）、消化器がん（食道、胃、小腸、結腸、直腸、肛門、肝臓、肝内胆管（interhepatic bile duct）、胆嚢、膵臓）、呼吸器がん（喉頭、肺、および気管支）、骨および関節がん、軟部組織がん、皮膚がん（黒色腫、基底細胞癌および扁平上皮癌）を含む成人癌、小児腫瘍（神経芽細胞腫、横紋筋肉腫、骨肉腫、ユーイング肉腫）、中枢神経系の腫瘍（脳、星状細胞腫、神経膠芽細胞腫、神経膠腫）、ならびに、乳房、生殖器系（子宮頸部、子宮体部、卵巣、外陰部、膣、前立腺、精巣、陰茎、子宮内膜）、泌尿器系（膀胱、腎臓および腎盂、尿管）、眼および眼窩、内分泌系（甲状腺）、脳および他の神経系のがん、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0068】

さらに別の一実施形態において、がんを有するヒトのヒトT細胞の集団を抗腫瘍有効量にて含む医薬組成物が提供され、ここで、がんは、1種以上の化学療法剤に反応しない難治性がんである。がんは、造血器がん、骨髄異形成症候群、膵臓がん、頭頸部がん、皮膚腫瘍、ALL、AMLにおける微小残存病変（MRD）、CLL、CML、NHLを含む成人B細胞性悪性腫瘍、小児B細胞性悪性腫瘍（B系ALLを含む）、多発性骨髄腫、肺がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、結腸がん、黒色腫、または他の血液がんおよび固形腫瘍、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0069】

別の一態様において、CAR含有T細胞（以下では「CAR-T細胞」）の作製方法が提供される。この方法は、CD22に特異的に結合するCAR（開示される）をコードするベクターまたは核酸分子をT細胞に形質導入する工程を含み、これによってCAR-T細胞を作製する。

【0070】

さらに別の一態様において、RNA操作細胞の集団の発生方法が提供され、これは、開示されるCARをコードする核酸分子のin vitro転写RNAまたは合成RNAを、対象の細胞中に導入する工程を含み、これによってCAR細胞を発生させる。

【0071】

さらに別の一態様において、細胞におけるCD22の発現に関連する疾患、障害、または状態の診断方法が提供され、これは、a)細胞をヒト抗CD19抗体またはその断片に接触させる工程であって、この抗体またはその断片が、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、172からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む工程と、b)CD22の存在を検出する工程であって、CD19が存在する場合に、CD22の発現に関連する疾患、障害、または状態であると診断する工程とを含む。

【0072】

一実施形態において、CD22の発現に関連する疾患、障害、または状態は、造血器がん、骨髄異形成症候群、膵臓がん、頭頸部がん、皮膚腫瘍、ALL、AMLにおける微小残存病変（MRD）、CLL、CML、NHLを含む成人B細胞性悪性腫瘍、小児B細胞性悪性腫瘍（B系ALLを含む）、多発性骨髄腫、肺がん、乳がん、卵巣がん、前立腺がん、結腸がん、黒色腫、または他の血液がんおよび固形腫瘍、またはこれらの任意の組み合わせを含むがんである。

【0073】

別の一実施形態において、哺乳動物におけるCD19関連疾患について診断または予後診断またはリスク判断する方法が提供され、これは、哺乳動物に由来する試料中におけるCD22の発現を検出する工程を含み、この工程は、a) 試料をヒト抗CD22抗体またはその断片に接触させる工程であって、この抗体またはその断片が、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、または172からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、工程と、b) CD22の存在を検出する工程であって、CD22が存在する場合に、哺乳動物においてCD22関連疾患であると診断する工程とを含む。

【0074】

別の一実施形態において、CD22依存性T細胞阻害の阻害方法が提供され、これは、細胞をヒト抗CD22抗体またはその断片に接触させる工程を含み、この抗体またはその断片は、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、または172からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一実施形態において、細胞は、CD22発現腫瘍細胞、腫瘍関連マクロファージ、およびこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される。

【0075】

別の一実施形態において、CD22発現細胞に介在されるT細胞阻害を遮断し、かつ、腫瘍微小環境を変化させて哺乳動物における腫瘍増殖を阻害する方法が提供され、これは、単離された抗CD22抗体またはその断片を含む組成物を、有効量にて、哺乳動物に投与する工程を含み、この抗体またはその断片は、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、および172からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一実施形態において、細胞は、CD19発現腫瘍細胞、腫瘍関連マクロファージ、およびこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される。

【0076】

別の一実施形態において、哺乳動物における抗腫瘍性または抗がん性の免疫応答の免疫抑制を阻害、抑制、または予防する方法が提供され、これは、単離された抗CD22抗体またはその断片を含む組成物を、有効量にて、哺乳動物に投与する工程を含み、この抗体またはその断片は、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、および172からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む。一実施形態において、この抗体またはその断片は、第1の細胞とT細胞との間の相互作用を阻害し、第1の細胞は、CD22発現腫瘍細胞、腫瘍関連マクロファージ、およびこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される。

【0077】

別の一態様において、哺乳動物における抗腫瘍免疫を誘発するための方法が提供され、これは、開示されるCARをコードするベクターまたは核酸分子が形質導入されたT細胞を、治療的有效量にて、哺乳動物に投与する工程を含む。

【0078】

別の一実施形態において、哺乳動物におけるがんの処置または予防方法が提供され、これは、哺乳動物に、開示されるCARの1種以上を、哺乳動物におけるがんの処置または予防に有効な量にて投与する工程を含む。上記方法は、対象においてCARの抗原結合ドメイン、CD22の細胞外ドメイン、および／または上述される抗原のうち1種以上からなる免疫複合体を形成するのに十分な条件下において、CD22および／または上述される抗原のうち1種以上に特異的に結合するCAR（開示される）を発現する宿主細胞の治療的有效量を、対象に投与する工程を含む。

【0079】

さらに別の一実施形態において、腫瘍抗原の発現上昇に関連する疾患、障害、または状態を有する哺乳動物を処置するための方法が提供され、上記方法は、抗腫瘍有効量のT細胞の集団を含む医薬組成物を対象に投与する工程を含み、T細胞は、CARをコードする

10

20

30

40

50

核酸配列を含み、CARは、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、もしくは172のアミノ酸配列またはこれらの任意の組み合わせを含む少なくとも1つの細胞外のCD22抗原結合ドメイン、少なくとも1つのリンカーまたはスペーサドメイン、少なくとも1つの膜貫通ドメイン、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインを含み、T細胞は、がんを有する対象のT細胞である。

【0080】

さらに別の一実施形態において、それを必要とする対象におけるがんを処置するための方法が提供され、これは、抗腫瘍有効量のT細胞の集団を含む医薬組成物を対象に投与する工程を含み、T細胞は、CARをコードする核酸配列を含み、CARは、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、もしくは172のアミノ酸配列またはこれらの任意の組み合わせを含む少なくとも1つのCD22抗原結合ドメイン、少なくとも1つのリンカーまたはスペーサドメイン、少なくとも1つの膜貫通ドメイン、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインを含み、T細胞は、がんを有する対象のT細胞である。上述される方法のいくつかの実施形態において、少なくとも1つの膜貫通ドメインは、T細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD19、CD22、メソテリン、CD33、CD37、CD64、CD80、CD83、CD86、CD134、CD137、CD154、TNFRSF16、TNFRSF19、またはこれらの組み合わせの膜貫通を含む。

【0081】

さらに別の一実施形態において、がんを診断されたヒトにおいて持続性の遺伝子操作T細胞の集団を発生させるための方法が提供される。一実施形態において、上記方法は、CARを発現するよう遺伝子操作されたT細胞をヒトに投与する工程を含み、CARは、配列番号2、12、22、32、42、52、62、72、82、92、102、112、122、132、142、152、162、もしくは172のアミノ酸配列またはこれらの任意の組み合わせを含む少なくとも1つのCD22抗原結合ドメインと、少なくとも1つの膜貫通ドメインと、少なくとも1つの細胞内シグナル伝達ドメインとを含み、持続性の遺伝子操作T細胞の集団、またはT細胞の子孫の集団は、ヒトにおいて、投与後、少なくとも1か月間、2か月間、3か月間、4か月間、5か月間、6か月間、7か月間、8か月間、9か月間、10か月間、11か月間、12か月間、2年間、または3年間持続する。

【0082】

一実施形態において、ヒトにおける子孫T細胞は、メモリーT細胞を含む。別の一実施形態において、T細胞は、自己T細胞である。

【0083】

本明細書中に記載される方法のすべての態様および実施形態において、上述される、腫瘍抗原の発現上昇に関連するがん、疾患、障害、または状態は、いずれも、本明細書中に開示されるCARの1種以上を使用して処置または予防または寛解され得る。

【0084】

さらに別の一態様において、上述されるCAR T細胞を作製するための、または、上述される、対象における腫瘍抗原の発現上昇に関連するがん、疾患、障害、もしくは状態のうち任意のものを予防、処置、もしくは寛解するための、キットが提供され、これは、上記に開示される核酸分子、ベクター、宿主細胞、もしくは組成物のうち任意の1種、またはこれらの任意の組み合わせ、または当該キットの使用説明の入った容器を含む。

【0085】

上述されるCAR、宿主細胞、核酸、および方法が、本明細書中において詳細に記載される具体的な態様および実施形態の範囲を超えて有用であることが理解される。上述される本開示の特徴および利点は、付属の図面を参照して記載される以下の詳細な説明によって、さらに明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0086】

【図1】新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を有するCARの一般的なドメイン構造の概略図である。CARは、細胞外CD22結合ScFvドメインと、CD8スーパーサおよび膜貫通ドメインと、細胞内シグナル伝達CD137共刺激ドメインと、CD3ゼータシグナル伝達ドメインとから構成される。

【図2A】図2Aは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2202 16P CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号3)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号4)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

10

【図2B】図2Bは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2246 24P CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号13)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号14)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図2C】図2Cは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2247 25P CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ ヌクレオチド配列(配列番号23)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号24)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

20

【図2D】図2Dは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2248 11s CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号33)およびこれにコードされるアミノ酸配列を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

30

【図2E】図2Eは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2249 12s CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号43)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号44)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

40

【図2F】図2Fは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2203 16P3 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号53)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号54)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図2G】図2Gは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(S

50

c F v)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2204 16P16 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号63)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号64)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図2H】図2Hは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2205 16P20 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号73)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号74)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

10

【図2I】図2Iは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2206 16P2 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号83)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号84)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図2J】図2Jは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2207 16P6 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号93)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号94)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

20

【図2K】図2Kは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2208 16P10 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号103)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号104)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

30

【図2L】図2Lは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2209 16P17 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号113)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号114)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図2M】図2Mは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 2210 16P20v2 CD22ScFv-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ 核酸配列(配列番号123)およびこれにコードされるアミノ酸配列(配列番号124)を含有するCARを発現するレンチウイルスベクターを示す。

40

【図2N】図2Nは、新規の細胞外CD22抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかのCARを示す。当該CARの概略的なスキームは、N末端からC末端に向かって、シグナルペプチド、抗CD22バイнда可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片(ScFv)、細胞外リンカー、膜貫通部、4-1BB、CD3ゼータを含む。LTG 22

50

1 6 1 6 P 1 C D 2 2 S c F v - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ 核酸配列 (配列番号 1 3 3) およびこれにコードされるアミノ酸配列 (配列番号 1 3 4) を含有する C A R を発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図 2 O】図 2 O は、新規の細胞外 C D 2 2 抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかの C A R を示す。当該 C A R の概略的なスキームは、N 末端から C 末端に向かって、シグナルペプチド、抗 C D 2 2 バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片 (S c F v)、細胞外リンカー、膜貫通部、4 - 1 B B、C D 3 ゼータを含む。L T G 2 2 1 7 1 6 P 3 v 2 C D 2 2 S c F v - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ 核酸配列 (配列番号 1 4 3) およびこれにコードされるアミノ酸配列 (配列番号 1 4 4) を含有する C A R を発現するレンチウイルスベクターを示す。

10

【図 2 P】図 2 P は、新規の細胞外 C D 2 2 抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかの C A R を示す。当該 C A R の概略的なスキームは、N 末端から C 末端に向かって、シグナルペプチド、抗 C D 2 2 バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片 (S c F v)、細胞外リンカー、膜貫通部、4 - 1 B B、C D 3 ゼータを含む。L T G 2 2 1 8 1 6 P 8 C D 2 2 S c F v - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ 核酸配列 (配列番号 1 5 3) およびこれにコードされるアミノ酸配列 (配列番号 1 5 4) を含有する C A R を発現するレンチウイルスベクターを示す。

【図 2 Q】図 2 Q は、新規の細胞外 C D 2 2 抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかの C A R を示す。当該 C A R の概略的なスキームは、N 末端から C 末端に向かって、シグナルペプチド、抗 C D 2 2 バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片 (S c F v)、細胞外リンカー、膜貫通部、4 - 1 B B、C D 3 ゼータを含む。L T G 2 2 1 9 1 6 P 1 3 C D 2 2 S c F v - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ 核酸配列 (配列番号 1 6 3) およびこれにコードされるアミノ酸配列 (配列番号 1 6 4) を含有する C A R を発現するレンチウイルスベクターを示す。

20

【図 2 R】図 2 R は、新規の細胞外 C D 2 2 抗原結合ドメインの配列を含有するいくつかの C A R を示す。当該 C A R の概略的なスキームは、N 末端から C 末端に向かって、シグナルペプチド、抗 C D 2 2 バインダ可変重鎖断片、または結合させた一本鎖可変断片 (S c F v)、細胞外リンカー、膜貫通部、4 - 1 B B、C D 3 ゼータを含む。L T G 2 2 2 0 1 6 P 1 5 C D 2 2 S c F v - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ 核酸配列 (配列番号 1 7 3) およびこれにコードされるアミノ酸配列 (配列番号 1 7 4) を含有する C A R を発現するレンチウイルスベクターを示す。

30

【図 3】初代ヒト T 細胞における抗 C D 2 2 C A R T 表面発現を示す。S c F v ドメイン (図中、各列に明記) を使用して C D 2 2 腫瘍抗原に再指向させた C A R T 細胞を、レンチウイルスを用いた C A R 発現コンストラクトの形質導入によって発生させた。C A R T の検出はフローサイトメトリーによって行なった。T 細胞を冷 P B S - E D T A バッファー中で 2 回洗浄し、C D 2 2 - F c ペプチド、続いて抗 F c - P E 試薬を用いて染色した。細胞が少なくとも 2 0, 0 0 0 個得られ、各分析に供した。細胞を、前方散乱および側方散乱、1 重項識別、ならびに 7 A A D 陰性に基づいてゲーティングし、これによって、生細胞のみを分析できるようにした。データを、M A C S Q u a n t 1 0 フローサイトメーター (M i l t e n y i B i o t e c 社) を使用して取得した。パネルに引かれた垂直の点線により、C A R 発現集団が明示されている (このゲートの右側のもの)。パネル上部に、ネガティブコントロールとしての非形質導入細胞 (U T D) が示され、そのすぐ下の 2 番目の行に、m 9 7 1 ポジティブコントロールが形質導入された細胞が示される。以降の行には、図の左軸に明記される各ベクターコンストラクトについての C A R 発現が示される。結果は、3 人のドナーにおける T 細胞形質導入を表わす。

40

【図 4】S c F v バインダ (1 6 P、1 6 P 1、1 6 P 3 v 2、1 6 P 8、1 6 P 1 0、1 6 P 1 3、1 6 P 1 5、1 6 P 1 7) を組み込んだ抗 C D 2 2 C A R T 細胞と、u t d = 非形質導入ネガティブコントロールと、m 9 7 1 = 以前に発表された抗 C D 2 2 C A R ポジティブコントロールとの、i n v i t r o における C D 2 2 陽性腫瘍の細胞溶解への介在を示す。抗 C D 2 2 コンストラクトを発現する C A R T 細胞を、C D 2 2 陽

50

性細胞株 (Raji および Reh)、またはホタルルシフェラーゼを安定的に形質導入した CD19 陰性株 (K562 および 293T) と共に、エフェクター標的比 1.25、2.5、5、10、20、および 40 (x 軸) にて、一晚インキュベートした。次いで、CAR T 細胞傷害活性を、ルシフェラーゼ活性測定によって、材料および方法 (Materials and Methods) に記載されるとおりに評価した。各バーは 3 回の technical replicate の平均であり、エラーバーは SD を表す。少なくとも 3 回の別個の実験を表す。

【図 5】単独で (中程度の灰色、CAR のみ)、または、CD22 陽性白血病株 (Raji、黒色のバー、Reh、薄い灰色) と、もしくは CD22 陰性株 (293T、淡い灰色) と共培養した場合の、CD22 特異的 CAR T 細胞による 3 種のサイトカイン (インターフェロン-ガンマ、TNF-アルファ、および IL-2) の産生を示す。このアッセイは、E:T 比 10:1 にて一晚実施し、次いで、上清のサイトカイン濃度を ELISA によって分析した。N=3 + SEM。ネガティブコントロールは非形質導入 T 細胞 (utd)、ポジティブコントロールは形質導入した m971 CD22 CAR-T 細胞。ヒト T 細胞の形質導入に使用した各 LV の LTG 番号が、x 軸に明記される。

【図 6】以下のものを発現するよう LV を用いて形質導入した T 細胞の表面における CAR 発現の 2 次元フローサイトメトリー分析を示す: 上から下に、左から右に向かって、CAR なし (UTD)、または LTG2200、2202、2216、2206、2217、2207、2218、2208、2219、2220、2209、2205、コントロール GFP 発現ベクター、またはコントロール CAR-19 (LTG1538) (各グラフの上に明記)。y 軸方向は CD4 の染色を示し、x 軸方向は、標的抗原 (CD22-Fc 組換えタンパク質 (R&D Biosystems)、二次染色は抗 Fc PE 抗体) を用いて染色した CAR 発現を示す。

【図 7A】図 7A は、ルシフェラーゼをそれぞれ発現する標的細胞株の溶解の割合として、細胞溶解活性 (CTL 活性) を示す。CD22 陽性細胞株 Raji および Reh、ならびに CD22 非発現株 K562 を示す。

【図 7B】図 7B は、ルシフェラーゼをそれぞれ発現する標的細胞株の溶解の割合として、細胞溶解活性 (CTL 活性) を示す。標的抗原を発現するよう特異的にトランスフェクションした K562-CD19 細胞株および K562-CD22 細胞株を示す。x 軸に明記されるとおりの各 LV 形質導入 T 細胞集団について、3 通りのエフェクター標的比 E:T 10:1、5:1、2.5:1 にて試験した: utd (非形質導入)、GFP-LV、LTG1538 (抗 CD19)、m971 (LTG2200、コントロール抗 CD22)、16p (LTG2202)、16p1 (LTG2216)、16p2 (LTG2206)、16p3v2 (LTG2217)、16p6 (LTG2207)、16p8 (LTG2218)、16p10 (LTG2208)、16p13 (LTG2219)、16p15 (LTG2220)、16p17 (LTG2209)、16p20 (LTG2205)。

【図 8】CD22 陽性の Raji および Reh 白血病細胞株 (それぞれ黒色または灰色のバー) と共に、または標的腫瘍細胞なしで (T 細胞のみで)、E:T 比率 10:1 にて、一晚インキュベートし、次いで上清のサイトカイン濃度を ELISA によって分析した際の、抗 CD22 CAR T 細胞による IFN-ガンマ (上)、IL-2 (中)、および TNF-アルファ (下のグラフ) の産生を示す。CAR 単独のネガティブコントロール群を使用して、CAR T 細胞による自発的なサイトカイン分泌を評価した。少なくとも 3 回の別個の実験を表す。x 軸に明記するように、非形質導入 T 細胞 (utd)、GFP-LV (GFP)、CD19-CAR (LTG1538)、CD22 コントロール CAR (LTG2220、m971)、16p (LTG2202)、16p1 (LTG2216)、16p2 (LTG2206)、16p3v2 (LTG2217)、16p6 (LTG2207)、16p8 (LTG2218)、16p10 (LTG2208)、16p13 (LTG2219)、16p15 (LTG2220)、16p17 (LTG2209)、16p20 (LTG2205) を形質導入した T 細胞、または CAR T 細胞なし (腫瘍のみ) でインキュベートした白血病標的についての、CAR-T 活性を例証する。

【図9】CD22に特異的なCAR Tの、動物モデルにおける疾患制御能力を示す。免疫不全マウス（NSG）に、研究0日目に、ホタルルシフェラーゼを安定的に発現するRaji白血病細胞を静脈注射した。ルシフェラーゼ基質であるルシフェリンを注射した後に疾病負荷をx軸に沿って測定し、個々の動物についてIVIS機器で画像化して、各群の平均輝度として示す。6日目に、疾病負荷が同等であった動物を同じ群に割り当て（各群マウス6匹ずつ）、7日目にCAR T細胞を注射して、疾患の進行を経時的に追跡した。Raji細胞を注入したがT細胞での処置はしなかった動物（TA、白抜き丸）は急速に悪化し、21日目には犠牲死させなければならなかった。他の群には、非形質導入T細胞（UTD、白抜き四角）、CAR-19形質導入T細胞（1538 CAR 19、白抜き三角）、コントロール抗CD22 CAR（2200 m971、-x-）、新しいCAR LTG2209（2209 16P17、白抜き菱形）、新しいCAR LTG2219（2219 16P13、白抜き逆三角）を与えた。

10

【発明を実施するための形態】

【0087】

詳細な説明

定義

本明細書中において使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈上明らかな矛盾がない限り、単数形と複数形の両方を指す。たとえば、用語「an antigen（抗原）」は、1つまたは複数の抗原を含み、「少なくとも1つの抗原」という言葉と同等であるとみなし得る。本明細書中において使用される場合、用語「comprises」は「includes」を意味する。したがって、「comprising an antigen」は、他の要素を除外しない「including an antigen」を意味する。「および／または」という言葉は、「および」または「または」を意味する。さらに、特に記載がない限り、核酸またはポリペプチドに与えられる任意のおよびすべての塩基の大きさまたはアミノ酸の大きさならびにすべての分子量または分子質量の値は、近似値であり、説明目的で提供されることが理解される。本明細書中に記載されるものと類似または同等の多くの方法および材料を使用できるが、特に好適な方法および材料が以下に記載される。万一矛盾がある場合には、本明細書（用語の説明を含む）が支配する。これに加えて、材料、方法、および例示は、例証することのみを目的とし、限定を意図しない。多様な実施形態の確認を容易にするために、以下に用語の説明が

20

30

【0088】

用語「約」は、量および持続期間などの測定可能な可能な値を指す場合、明示される値から±20%、または場合によっては±10%、または場合によっては±5%、または場合によっては±1%、または場合によっては±0.1%の変量を含むことを意味する。というのは、こうした変量が、開示される方法の実施に適切であるためである。

【0089】

特に記載がない限り、本明細書中の科学用語は、従来の用法で使用される。分子生物学における一般用語の定義は、Benjamin Lewin、Genes VII、オックスフォード大学出版局より出版、1999年；Kendrewら（編）、The Encyclopedia of Molecular Biology、Blackwell Science社より出版、1994年；およびRobert A. Meyers（編）、Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference、VCH Publishers社より出版、1995年；および他の類似する参考資料において見つけ得る。

40

【0090】

本開示は、CD22抗体またはその断片、およびこのようなCD22抗原結合ドメインを有するCARを提供する。CARの機能活性を向上させることは、CAR発現T細胞の機能活性の向上に直接関連する。こうした改変の1つ以上がなされた結果として、CARは、サイトカイン誘発性の細胞溶解と、形質導入T細胞における細胞表面発現との両方を

50

、高レベルで呈し、かつ、*in vivo*におけるT細胞の増殖および形質導入したCAR発現T細胞の持続が高レベルとなる。

【0091】

異なるタンパク質ドメインに由来する機能的部位を組み合わせることができるユニークな能力は、CARの有する革新的な特徴である。こうしたタンパク質ドメインのいずれを選択するかということは、これらが特異的に結合する様式と同じように、重要な設計上の特徴である。個々の設計ドメインは、リンパ球の機能进行操作する目的で、あらゆる異種のCARプラットフォームにおいて使用できる、必須の構成要素である。たとえば、細胞外結合ドメインの選択によって、そのままでは有効でないCARを有効とすることができる。

【0092】

CARの細胞外抗原結合ドメインの作製に使用される免疫グロブリン由来タンパク質の配列の非可変フレームワーク構成要素は、完全に中立的なものであってもよいし、または、自己結合し、T細胞を代謝性消耗状態にすることにより、このCARを発現する治療用T細胞の有効性を大幅に減ずるようなものであってもよい。この現象は、このCARドメインの抗原結合機能とは独立して生じる。さらに、細胞内シグナル伝達ドメインの選択によって、免疫療法に使用される治療用リンパ球集団の活性および耐久性を支配することもできる。ここで、標的抗原を結合する能力、ならびに、上述される細胞外および細胞内ドメインのそれぞれを経て活性化シグナルをT細胞に伝達する能力は、重要なCAR設計態様であるが、このことと共に明白になったのは、細胞外抗原結合断片の供給源の選択がCARの効力に著しい作用を及ぼす可能性があり、したがって、CARの機能および臨床有用性において決定的な役割を有する可能性があるということである。

【0093】

驚くべきことに、かつ予期しないことに、マウス由来抗原結合断片（宿主において抗マウス免疫応答およびCAR T除去を誘発する傾向がある）（参照：ペンシルベニア大学の資金援助によるマウス由来のSS1 ScFv配列を使用した臨床試験、NCT02159716）ではなく、完全ヒト抗原結合ドメインを、CARにおいて使用することが、CAR発現T細胞の機能活性を決定し得ることが見いだされた。

【0094】

本明細書中に開示されるCARは、細胞中で高レベルで発現する。このCARを発現する細胞は*in vivo*における増殖率が高く、大量のサイトカインを産生し、かつ、CARが結合するCD22抗原を表面に有する細胞に対する傷害活性が高い。ヒト細胞外CD22抗原結合ドメインを使用した結果、*in vivo*における機能が改善されたCARが作製され、同時に、宿主における免疫応答における抗CAR免疫の誘発とCAR T細胞集団の死滅とが回避される。完全ヒト細胞外CD22 ScFv抗原結合ドメインを発現するCARは、優れた活性および／または特性を呈し、これには、i) CAR Tの不良な持続性および不良な機能（マウス由来の結合配列でみられる）の防止と、ii) 効力発揮のための特定領域（すなわち、胸膜内）へのCARの運搬の欠如と、iii) CD19親和性の高いバインダと低いバインダの両方に基づいたCAR T細胞の設計を可能とする能力とが含まれる。後者の特性があることによって、研究者は、CAR T生成物の効力対毒性および／または組織特異性をより良好に調節することができる。というのは、CD22が正常組織よりも腫瘍において高発現しているために、親和性が低い方のバインダが正常組織よりも腫瘍に対して高い特異性を有する可能性があり、これにより、on-target off-tumor toxicityおよびバースタンダー細胞死（bystander cell killing）を防止できるためである。

【0095】

次に、本発明のCARについて詳細に説明する。この説明には、その細胞外のCD22抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞内ドメインについての説明と、CAR、抗体、およびその抗原結合断片、結合体（conjugates）、ヌクレオチド、発現、ベクター、および宿主細胞、開示されるCARを使用する処置方法、組成物、およびキットについてのさらなる説明が含まれる。

【0096】

A. キメラ抗原受容体 (CAR)

本明細書中に開示されるCARは、CD22に結合できる少なくとも1つのCD22抗原結合ドメインと、少なくとも1つの膜貫通ドメインと、少なくとも1つの細胞内ドメインとを含む。

【0097】

キメラ抗原受容体 (CAR) は、膜貫通ドメインを介してT細胞シグナル伝達ドメインに結合した抗体の抗原結合ドメイン (たとえば、一本鎖可変断片 (ScFv)) を含有する、人工的に構築されたハイブリッドタンパク質またはポリペプチドである。CARの特徴として、主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex) (MHC) に制限されない様式で、T細胞の特異性および反応性を、選択された標的に再指向させ、モノクローナル抗体の抗原結合特性を活用する能力を含む。MHCに制限されずに抗原を認識できるため、CARを発現するT細胞は、抗原プロセッシングから独立して抗原を認識でき、その結果として腫瘍エスケープの主要な機序を回避できる能力を有する。また、CARは、T細胞において発現すると、有利にも、内因性のT細胞受容体 (TCR) のアルファおよびベータ鎖と二量体化しない。

【0098】

本明細書中に開示されるとおり、CARの細胞内T細胞シグナル伝達ドメインは、たとえば、T細胞受容体シグナル伝達ドメイン、T細胞共刺激シグナル伝達ドメイン、またはその両方を含んでよい。T細胞受容体シグナル伝達ドメインは、たとえばCD3ゼータタンパク質の細胞内部分など (これに限定されない) のT細胞受容体の細胞内ドメインを含むCARの一部分を指す。共刺激シグナル伝達ドメインは、共刺激分子の細胞内ドメインを含むCARの一部分を指し、これは、リンパ球が抗原に対して効率よく反応するために必要な抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子である。

【0099】

1. 細胞外ドメイン

一実施形態において、CARは、抗原結合ドメインまたは部位とも称される標的的特異的結合要素を含む。ドメインの選択は、標的細胞の表面を定めるリガンドの種類および数に依存する。たとえば、抗原結合ドメインは、特定の疾患状態に関連する標的細胞上において細胞表面マーカーとして働くリガンドを認識するように選択されてよい。したがって、CARにおける抗原結合ドメインのリガンドとして働き得る細胞表面マーカーの例は、ウイルス感染、細菌感染、および寄生虫感染、自己免疫疾患、およびがん細胞に関連するものを含む。

【0100】

一実施形態において、CARは、腫瘍細胞上の抗原に特異的に結合する所望の抗原結合ドメインを設計することによって、目的の腫瘍抗原を標的とするように設計できる。腫瘍抗原は、腫瘍細胞によって産生され、免疫応答、特にT細胞介在性の免疫応答を顕在化させるタンパク質である。抗原結合ドメインの選択は、処置するがんの具体的な種類に依存し得る。腫瘍抗原は、たとえば、神経膠腫関連抗原、癌胎児性抗原 (CEA)、ベーターヒト絨毛性ゴナドトロピン、アルファフェトプロテイン (AFP)、レクチン反応性AFP、チログロブリン、RAGE-1、MN-CAIX、ヒトテロメラーゼ逆転写酵素、RU1、RU2 (AS)、腸カルボキシルエステラーゼ、mut hsp70-2、M-CSF、プロスターゼ (prostase)、前立腺特異抗原 (PSA)、PAP、NY-ESO-1、LAGE-1a、p53、プロステイン (prostain)、PSMA、Her2/neu、サバイビンおよびテロメラーゼ、前立腺癌腫瘍抗原-1 (PCTA-1)、MAGE、ELF2M、好中球エラスターゼ、エフリンB2、CD19、インスリン成長因子 (IGF) -I、IGF-II、IGF-I受容体、およびCD22を含む。本明細書中に開示される腫瘍抗原は、単に例示として含まれる。その列記は限定を意図するものではなく、これら以外の例が当業者には容易に認識されるであろう。

【0101】

一実施形態において、腫瘍抗原は、悪性腫瘍に関連する1つ以上の抗原がんエピトープを含む。悪性腫瘍は、免疫攻撃の標的抗原として働き得る複数のタンパク質を発現する。こうした分子は、黒色腫におけるMART-1、チロシナーゼ、およびGP100、ならびに前立腺がんにおける前立腺酸性ホスファターゼ(PAP)および前立腺特異抗原(PSA)などの組織特異抗原を含むが、これらに限定されない。これら以外の標的分子として、がん遺伝子HER-2/Neu/ErbB-2などの形質転換関連分子の群に属するものがある。さらに別の標的抗原の群として、癌胎児性抗原(CEA)などのがん胎児性の抗原がある。B細胞リンパ腫においては、腫瘍特異的なイディオタイプの免疫グロブリンが、個々の腫瘍に固有である真に腫瘍特異的な免疫グロブリン抗原に該当する。CD19、CD20、CD22、BCMA、ROR1、およびCD37などのB細胞分化抗原もまた、B細胞リンパ腫における標的抗原の候補である。こうした抗原(CEA、HER-2、CD19、CD20、CD22、イディオタイプ)のうちいくつかは、モノクローナル抗体を使用する受動免疫療法の標的として使用されているが、十分な成功は収めていない。

【0102】

好ましい一実施形態において、腫瘍抗原はCD22であり、CD22の発現に関連する腫瘍は、細胞外タンパク質CD22を高レベルで発現する肺中皮腫、卵巣および膵臓がん、またはこれらの任意の組み合わせを含む。

【0103】

腫瘍抗原の種類は、腫瘍特異抗原(TSA)または腫瘍関連抗原(TAA)であってもよい。TSAは腫瘍細胞に固有であり、身体の他の細胞上には生じない。TAAは、腫瘍細胞に固有ではなく、その代わり、この抗原に対する免疫寛容状態が誘発されない条件下において、正常細胞上にも発現する。腫瘍におけるこの抗原の発現は、この抗原に対する免疫系の応答を可能とする条件下において生じ得る。TAAは、免疫系が成熟しておらず抗原に応答できない胎児発生の間に正常細胞上に発現する抗原であり得る、または、TAAは、通常から正常細胞上に極めて低レベルで存在しているが腫瘍細胞上ではこれより大幅に高いレベルで発現する抗原であり得る。

【0104】

TSAまたはTAAの例は、MART-1/MelanA(MART-I)、gp100(Pmel 17)、チロシナーゼ、TRP-1、TRP-2などの分化抗原、およびMAGE-1、MAGE-3、BAGE、GAGE-1、GAGE-2、p15などの腫瘍特異的多系譜抗原；CEAなどの過剰発現胚抗原；p53、Ras、HER-2/neuなどの過剰発現がん遺伝子および突然変異腫瘍抑制遺伝子；染色体転座に起因する固有の腫瘍抗原；BCR-ABL、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、MYL-RARなど；ならびに、Epstein Barrウイルス抗原EBVAおよびヒトパピローマウイルス(HPV)抗原E6およびE7などのウイルス抗原を含むが、これらに限定されない。これら以外の、タンパク質に基づく大きな抗原は、TSP-180、MAGE-4、MAGE-5、MAGE-6、RAGE、NY-ESO、p185erbB2、p180erbB-3、c-met、nm-23H1、PSA、TAG-72、CA19-9、CA72-4、CAM17.1、NuMa、K-ras、ベータ-カテニン、CDK4、Mum-1、p15、p16、43-9F、5T4、791Tgp72、アルファ-フェトプロテイン、ベータ-HCG、BCA225、BTAA、CA125、CA15-3/CA27.29/BCAA、CA195、CA242、CA-50、CAM43、CD68/P1、CO-029、FGF-5、G250、Ga733/EpCAM、HTgp-175、M344、MA-50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO-1、RCAS1、SDCCAG16、TA-90/Mac-2結合タンパク質/シクロフィリンC関連タンパク質、TAAL6、TAG72、TLP、およびTPSを含む。

【0105】

一実施形態において、CARの抗原結合ドメイン部分は、CD19、CD20、CD2

10

20

30

40

50

2、ROR1、CD33、CD38、CD123、CD138、BCMA、c-Met、PSMA、糖脂質F77、EGFRvIII、GD-2、FGFR4、TSLPR、NY-ESO-1 TCR、およびMAGE A3 TCRなどを含むがこれらに限定されない抗原を標的とする。

【0106】

好ましい一実施形態において、CARの抗原結合ドメイン部分は、細胞外CD22抗原を標的とする。

【0107】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 scFv1抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号1のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22抗原結合ドメインは、配列番号2のアミノ酸配列、または配列番号2のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

10

【0108】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 scFv2抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号11のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22抗原結合ドメインは、配列番号12のアミノ酸配列、または配列番号12のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

20

【0109】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 scFv3抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号21のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 scFv3抗原結合ドメインは、配列番号22のアミノ酸配列、または配列番号22のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

30

【0110】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 scFv4抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号31のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 scFv4抗原結合ドメインは、配列番号32のアミノ酸配列、または配列番号32のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0111】

40

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 scFv5抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号41のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 scFv5抗原結合ドメインは、配列番号42のアミノ酸配列、または配列番号42のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0112】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 scFv6抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号51のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が

50

85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv6抗原結合ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列、または配列番号52のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0113】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv7抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号61のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv7抗原結合ドメインは、配列番号62のアミノ酸配列、または配列番号62のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

10

【0114】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv8抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号71のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv8抗原結合ドメインは、配列番号72のアミノ酸配列、または配列番号72のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

20

【0115】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv9抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号81のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv9抗原結合ドメインは、配列番号82のアミノ酸配列、または配列番号82のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0116】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv10抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号91のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv10抗原結合ドメインは、配列番号92のアミノ酸配列、または配列番号92のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

30

【0117】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv11抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号101のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv102抗原結合ドメインは、配列番号92のアミノ酸配列、または配列番号102のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

40

【0118】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv12抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号111のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外

50

のCD22 ScFv112抗原結合ドメインは、配列番号92のアミノ酸配列、または配列番号112のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0119】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv13抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号121のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv13抗原結合ドメインは、配列番号122のアミノ酸配列、または配列番号122のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

10

【0120】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv14抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号131のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv14抗原結合ドメインは、配列番号132のアミノ酸配列、または配列番号132のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0121】

20

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv15抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号141のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv15抗原結合ドメインは、配列番号142のアミノ酸配列、または配列番号142のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0122】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv16抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号151のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv16抗原結合ドメインは、配列番号152のアミノ酸配列、または配列番号152のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

30

【0123】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv17抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号161のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv17抗原結合ドメインは、配列番号162のアミノ酸配列、または配列番号162のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

40

【0124】

好ましい一実施形態において、細胞外CD22 ScFv18抗原結合ドメインをコードする単離された核酸分子は、配列番号171のヌクレオチド配列、またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含む。一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされる細胞外のCD22 ScFv18抗原結合ドメインは、配列番号172のアミノ酸配列、または配列番号172のアミノ酸配列との同一性が85%、90%、95%、96%、97%、

50

98%、もしくは99%であるアミノ酸配列を含む。

【0125】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号5、配列番号6、および配列番号7として特定される）および重鎖相補性（complementarity）決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号8、配列番号9、および配列番号10として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv1の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのScFvアミノ酸配列中における配列番号5、配列番号6、配列番号7、配列番号8、配列番号9、および配列番号10の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv1の結合特性（characteristics）の創出に貢献する。

10

【0126】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号15、配列番号16、および配列番号17として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号18、配列番号19、および配列番号20として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv2の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、および配列番号20の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv2の結合特性の創出に貢献する。

20

【0127】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号25、配列番号26、および配列番号27として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号28、配列番号29、および配列番号30として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv3の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28、配列番号29、および配列番号30の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv3の結合特性の創出に貢献する。

30

【0128】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号35、配列番号36、および配列番号37として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号38、配列番号39、および配列番号40として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv4の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号35、配列番号36、配列番号37、配列番号38、配列番号39、および配列番号40の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv4の結合特性の創出に貢献する。

40

50

【0129】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号45、配列番号46、および配列番号47として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号48、配列番号49、および配列番号50として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv5の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号45、配列番号46、配列番号47、配列番号48、配列番号49、および配列番号50の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv5の結合特性の創出に貢献する。

10

【0130】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号55、配列番号56、および配列番号57として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号58、配列番号59、および配列番号60として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv6の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号55、配列番号56、配列番号57、配列番号58、配列番号59、および配列番号60の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv6の結合特性の創出に貢献する。

20

【0131】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号65、配列番号66、および配列番号67として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号68、配列番号69、および配列番号70として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv7の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号65、配列番号66、配列番号67、配列番号68、配列番号69、および配列番号70の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv7の結合特性の創出に貢献する。

30

【0132】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号75、配列番号76、および配列番号77として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号78、配列番号79、および配列番号80として特定される）は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv8の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し（LCDR1およびLCDR2およびLCDR3）、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し（HCDR1およびHCDR2およびHCDR3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号75、配列番号76、配列番号77、配列番号78、配列番号79、および配列番号80の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv8の結合特性の創出に貢献する。

40

【0133】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（LCDR

50

1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号85、配列番号86、および配列番号87として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号88、配列番号89、および配列番号90として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv9の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号85、配列番号86、配列番号87、配列番号88、配列番号89、および配列番号90の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv9の結合特性の創出に貢献する。

10

【0134】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号95、配列番号96、および配列番号97として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号98、配列番号99、および配列番号100として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv10の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号95、配列番号96、配列番号97、配列番号98、配列番号99、および配列番号100の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv10の結合特性の創出に貢献する。

20

【0135】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号105、配列番号106、および配列番号107として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号108、配列番号109、および配列番号110として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv11の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号105、配列番号106、配列番号107、配列番号108、配列番号109、および配列番号110の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv11の結合特性の創出に貢献する。

30

【0136】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号115、配列番号116、および配列番号117として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号118、配列番号119、および配列番号120として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv12の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号115、配列番号116、配列番号117、配列番号118、配列番号119、および配列番号120の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv12の結合特性の創出に貢献する。

40

【0137】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号125、配列番号126、および配列番号127として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号128、配列番号129、および配列番号130として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的scFv13の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてscFvの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてscFvの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号125、配列番号126、配列番号127、配列番号128、配列番号129、および配列番号130の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的scFv13の結合特性の創出に貢献する。

50

DR2、HCDR3、それぞれ配列番号128、配列番号129、および配列番号130として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的s c F v 13の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてs c F vの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてs c F vの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号125、配列番号126、配列番号127、配列番号128、配列番号129、および配列番号130の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的s c F v 13の結合特性の創出に貢献する。

【0138】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号135、配列番号136、および配列番号137として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号138、配列番号139、および配列番号140として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的s c F v 14の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてs c F vの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてs c F vの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号135、配列番号136、配列番号137、配列番号138、配列番号139、および配列番号140の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的s c F v 14の結合特性の創出に貢献する。

【0139】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号145、配列番号146、および配列番号147として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号148、配列番号149、および配列番号150として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的s c F v 15の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてs c F vの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてs c F vの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号145、配列番号146、配列番号147、配列番号148、配列番号149、および配列番号150の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的s c F v 15の結合特性の創出に貢献する。

【0140】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号155、配列番号156、および配列番号157として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号158、配列番号159、および配列番号160として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的s c F v 16の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとしてs c F vの軽鎖結合特性の創出に寄与し(LCDR1およびLCDR2およびLCDR3)、ひとまとまりとしてs c F vの重鎖結合特性の創出に寄与し(HCDR1およびHCDR2およびHCDR3)、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号155、配列番号156、配列番号157、配列番号158、配列番号159、および配列番号160の共発現によって、まとまって一緒に、CD22特異的s c F v 16の結合特性の創出に貢献する。

【0141】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列(LCDR1、LCDR2、LCDR2、それぞれ配列番号165、配列番号166、および配列番号167として特定される)および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列(HCDR1、HCDR2、HCDR3、それぞれ配列番号168、配列番号169、および配列番号170として特定される)は、それぞれ個別に、CD22特異的s c F v 17の結合特性の創出

に寄与し、ひとまとまりとして s c F v の軽鎖結合特性の創出に寄与し（L C D R 1 および L C D R 2 および L C D R 3）、ひとまとまりとして s c F v の重鎖結合特性の創出に寄与し（H C D R 1 および H C D R 2 および H C D R 3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 6、配列番号 1 6 7、配列番号 1 6 8、配列番号 1 6 9、および配列番号 1 7 0 の共発現によって、まとまって一緒に、C D 2 2 特異的 s c F v 1 7 の結合特性の創出に貢献する。

【0 1 4 2】

好ましい一実施形態において、単離された軽鎖相補性決定領域アミノ酸配列（L C D R 1、L C D R 2、L C D R 2、それぞれ配列番号 1 7 5、配列番号 1 7 6、および配列番号 1 7 7 として特定される）および重鎖相補性決定領域アミノ酸配列（H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、それぞれ配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9、および配列番号 1 8 0 として特定される）は、それぞれ個別に、C D 2 2 特異的 s c F v 1 8 の結合特性の創出に寄与し、ひとまとまりとして s c F v の軽鎖結合特性の創出に寄与し（L C D R 1 および L C D R 2 および L C D R 3）、ひとまとまりとして s c F v の重鎖結合特性の創出に寄与し（H C D R 1 および H C D R 2 および H C D R 3）、かつ、6つの配列番号がひとまとまりとして、1つのアミノ酸配列中における配列番号 1 7 5、配列番号 1 7 6、配列番号 1 7 7、配列番号 1 7 8、配列番号 1 7 9、および配列番号 1 8 0 の共発現によって、まとまって一緒に、C D 2 2 特異的 s c F v 1 8 の結合特性の創出に貢献する。

【0 1 4 3】

本明細書中に開示される C D 2 2 特異的 C A R の多様な実施形態において、概略的なスキームは図 1 中に記載され、これは、N 末端から C 末端に向かって、シグナルまたはリーダーペプチド、抗 C D 2 2 S c F v、細胞外リンカー、C D 8 膜貫通部、4-1 B B、C D 3 ゼータを含み、太字の文字は、リンカードメイン（linking domain）のクローニングサイトを表す。

【0 1 4 4】

一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 3 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 0 2 L P - 1 6 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 A に示される）] 。

【0 1 4 5】

一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 3 の核酸配列またはこれとの同一性が 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % である配列を含み、かつ、配列番号 4 のアミノ酸配列またはこれとの同一性が 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % である配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 0 2 L P - 1 6 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 A に示される）] 。

【0 1 4 6】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 1 3 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 6 L P - 2 4 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 B に示される）] 。

【0 1 4 7】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 1 3 の核酸配列またはこれとの同一性が 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % である配列を含み、かつ、配列番号 1 4 のアミノ酸配列またはこれとの同一性が 8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、もしくは 9 9 % である配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 6 L P - 2 4 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 B に示される）] 。

【0 1 4 8】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 2 3 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 7

L P - 2 5 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 C に示される）】。

【0149】

別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 23 の核酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含み、かつ、配列番号 24 のアミノ酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 7 L P - 2 5 P - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ C A R アミノ酸配列（図 2 C に示される）】。

【0150】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 33 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 34 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 8 L P - 1 1 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 D に示される）】。

【0151】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 33 の核酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含み、かつ、配列番号 34 のアミノ酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 8 L P - 1 1 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 D に示される）】。

【0152】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 43 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 9 L P - 1 2 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 E に示される）】。

【0153】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 43 の核酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含み、かつ、配列番号 44 のアミノ酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 4 9 L P - 1 2 S - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 E に示される）】。

【0154】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 53 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 54 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 0 3 L P - 1 6 P 3 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 F に示される）】。

【0155】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 53 の核酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含み、かつ、配列番号 54 のアミノ酸配列またはこれとの同一性が 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、もしくは 99 % である配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 0 3 L P - 1 6 P 3 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 F に示される）】。

【0156】

さらに別の一実施形態において、C A R をコードする核酸配列は、配列番号 63 の核酸配列を含み、かつ、配列番号 64 のアミノ酸配列を含む C A R をコードする [L T G 2 2 0 4 L P - 1 6 P 1 6 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ アミノ酸配列（図 2 G に示される）】。

10

20

30

40

50

【0157】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号63の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号64のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする〔LTG2204 LP-16P16-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Gに示される）〕。

【0158】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号73の核酸配列を含み、かつ、配列番号74のアミノ酸配列を含むCARをコードする〔LTG2205 LP-16P20-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Hに示される）〕。

10

【0159】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号73の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号74のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする〔LTG2205 LP-16P20-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Hに示される）〕。

20

【0160】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号83の核酸配列を含み、かつ、配列番号84のアミノ酸配列を含むCARをコードする〔LTG2206 LP-16P2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Iに示される）〕。

20

【0161】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号83の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号84のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする〔LTG2206 LP-16P2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Iに示される）〕。

30

【0162】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号93の核酸配列を含み、かつ、配列番号94のアミノ酸配列を含むCARをコードする〔LTG2207 LP-16P6-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Jに示される）〕。

【0163】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号93の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号94のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする〔LTG2207 LP-16P6-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Jに示される）〕。

40

【0164】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号103の核酸配列を含み、かつ、配列番号104のアミノ酸配列を含むCARをコードする〔LTG2208 LP-16P10-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列（図2Kに示される）〕。

【0165】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号103の核

50

酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号104のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2208 LP-16P10-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Kに示される)]。

【0166】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号113の核酸配列を含み、かつ、配列番号114のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2209 LP-16P17-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Lに示される)]。

10

【0167】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号113の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号114のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2209 LP-16P17-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Lに示される)]。

【0168】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号123の核酸配列を含み、かつ、配列番号124のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2210 LP-16P20v2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Mに示される)]。

20

【0169】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号123の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号124のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2210 LP-16P20v2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Mに示される)]。

【0170】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号133の核酸配列を含み、かつ、配列番号134のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2216 LP-16P1-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Nに示される)]。

30

【0171】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号133の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号134のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2216 LP-16P1-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Nに示される)]。

40

【0172】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号143の核酸配列を含み、かつ、配列番号144のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2217 LP-16P3v2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Oに示される)]。

【0173】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号143の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号144のアミノ酸配列またはこれとの同一

50

性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2217 LP-16P17-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Oに示される)]。

【0174】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号153の核酸配列を含み、かつ、配列番号154のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2218 LP-16P8-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Pに示される)]。

【0175】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号153の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号154のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2218 LP-16P8-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Pに示される)]。

【0176】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号163の核酸配列を含み、かつ、配列番号164のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2219 LP-16P13-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Qに示される)]。

【0177】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号163の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号164のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2219 LP-16P13-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Qに示される)]。

【0178】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号173の核酸配列を含み、かつ、配列番号174のアミノ酸配列を含むCARをコードする[LTG2220 LP-16P15-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Rに示される)]。

【0179】

さらに別の一実施形態において、CARをコードする核酸配列は、配列番号173の核酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含み、かつ、配列番号174のアミノ酸配列またはこれとの同一性が85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%である配列を含むCARをコードする[LTG2220 LP-16P15-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ アミノ酸配列(図2Rに示される)]。

【0180】

CD22抗原に反応する一本鎖可変断片(ScFv)配列を組み込んだ抗CD22 CARの表面発現が下記の実施例2中に示され、その概要が表2、表3、および図6中に示される。各ScFv含有CARの発現レベルを、組換えCD22-Fcペプチド、続いて、PEに結合させた抗ヒトFc(Fab')₂断片を使用した、健康なドナーからのLV形質導入T細胞のフローサイトメトリー分析によって求め、フローサイトメトリーによって検出した(図6を参照)。ScFvに基づく抗CD22 CARコンストラクトLTG2202、LTG2216、LTG2217、LTG2218、LTG2208、LTG2219、LTG2220、およびLTG2209は、非形質導入T細胞コントロール(ゲーティングしていない細胞集団、UTD)と比較して、ヒト初代T細胞において高発現していた(ゲーティングした集団により示される)。ドナー1人からの代表的な結果が示

10

20

30

40

50

される。

【0181】

実施例2ならびに図4、図7A、および図7Bにおいて示されるように、以下のCARを発現するレンチウイルスベクター（LV）を作製して抗白血病活性について試験したところ、CD22 CARの高い細胞溶解活性が示された。実験に用いたCARはいずれも、記載された4-1BB/CD3ゼータ鎖シグナル伝達モチーフおよび特異的抗CD22結合モチーフ/ドメインを含有する。様々なCD22表面発現を有する白血病標的株を使用した：RajiおよびReh；ならびにCD19陰性K562および293T。ScFvに基づく抗CD22 CARコンストラクトLTG2202、LTG2216、LTG2217、LTG2218、LTG2208、LTG2219、LTG220、およびLTG2209（それぞれ、scFv1（16P）、scFv2（16P1）、scFv3（16P3v2）、scFv3（16P3v2）、scFv4（16P8）、scFv5（16P10）、scFv6（16P13）、scFv7（16P15）、scFv8（16P17）を発現する）は、高CD22腫瘍株RajiおよびRehを効率よく溶解できたが、これらは、K562または293Tに対する特異的な溶解活性をほとんどまたは全く有さなかった（図4、図7A、図7Bを参照）。こうした結果から、作製したCARコンストラクトの効率および特異性が示される。

10

【0182】

次いで、抗CD22 CAR T細胞のサイトカイン分泌能力を評価した。腫瘍細胞を、CAR T細胞またはコントロールT細胞と共に、エフェクター標的比10：1にて、一晚インキュベートし、培養上清をELISAによって、IFNガンマ、TNFアルファ、およびIL-2について分析した（図8を参照）。注目すべきことに、LTG2202、LTG2216、LTG2217、LTG2218、LTG2208、LTG2219、LTG2220、およびLTG2209が形質導入され、かつそれぞれscFv1（16P）、scFv2（16P1）、scFv3（16P3v2）、scFv3（16P3v2）、scFv4（16P8）、scFv5（16P10）、scFv6（16P13）、scFv7（16P15）、scFv8（16P17）を発現するCAR T細胞は、IFNガンマを高レベルで産生したが、ネガティブコントロール（非形質導入、utd）によるサイトカイン誘発は認められなかった。しかしながら、TNF-α産生およびIL-2産生において明らかな差異が見られた。驚くことに、CD22 CAR LTG2202は、Reh腫瘍株と比較して、TNF-αおよびIL-2の産出レベルが有意に低く、各ベクターは、試験した腫瘍株標的に対してIL-2およびTNF-αを産生する能力が異なっていた。こうした差異は、抗腫瘍および毒性プロファイルの差異を生じると考えられ、具体的な疾患状況における疾病負荷に応じて個別に実現されると考えられる。ポジティブコントロールとして使用したCARであるm971は、一定基準に基づいて結果を評価するために使用したものであり、現在臨床試験中で、現時点で、進行型の疾患状況において安全に使用できる。

20

30

【0183】

いかなる特定の作用機序に限定されることも意図しないが、本発明に係る例示的なCARに関連して治療的機能が向上した理由には、たとえば、a) 細胞膜中における横方向の動きが改善されたためにシグナル伝達がより高効率となった、b) 細胞膜マイクロドメイン中における位置が優れていたために（脂質ラフトなど）、T細胞活性化に関連する膜貫通型シグナル伝達カスケードとの相互作用能力が向上した、c) 低減性もしくは下方調節性の相互作用から離れる優先的な動きがあったために、細胞膜中における位置が優れていた、たとえば、CD45などのホスファターゼからの距離が比較的遠かったもしくは当該ホスファターゼとの相互作用が比較的少なかった、ならびに、d) T細胞受容体シグナル伝達複合体（すなわち、免疫シナプス）へのアセンブリが優れていた、またはこれらの任意の組み合わせが含まれると考えられるが、これらに限定されない。

40

【0184】

ここまで、細胞外のCD22可変重鎖単独およびScFv抗原結合ドメインを具体例と

50

して用いて本開示が例証されてきたが、CD22可変重鎖単独およびScFv抗原結合ドメイン中の他のヌクレオチドおよび／またはアミノ酸バリエーションを使用して、本明細書中に記載されるCARにおいて使用するためのCD22抗原結合ドメインを誘導することもできる。

【0185】

標的とする所望の抗原に依存して、CARは、所望の抗原標的に特異的な適切な抗原結合ドメインを含むようにさらに操作されてもよい。たとえば、CD22が、標的とする所望の抗原である場合には、CD22に対する抗体を、CARに組み込む抗原結合ドメインとして使用してよい。

【0186】

例示的な一実施形態において、CARの抗原結合ドメイン部分は、さらにCD33を標的とする。好ましくは、CARにおける抗原結合ドメインは、抗CD33重鎖単独バインダVH-4であり、ここで、抗CD33重鎖単独バインダの核酸配列は、配列番号202の配列を含む。一実施形態において、抗CD33重鎖単独バインダは、配列番号202のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の例示的な一実施形態において、CARの抗CD33重鎖単独部分は、配列番号203のアミノ酸配列を含む。別の例示的な一実施形態において、抗CD33重鎖単独バインダを発現するCAR LTG1906の核酸配列は、配列番号204からなる。別の例示的な一実施形態において、抗CD33重鎖単独バインダを発現するCAR LTG1906のアミノ酸配列は、配列番号205からなる。

【0187】

例示的な一実施形態において、CARの抗原結合ドメイン部分は、さらにメソテリンを標的とする。好ましくは、CARにおける抗原結合ドメインは、抗メソテリンScFvであり、ここで、抗メソテリンScFvの核酸配列は、配列番号198の配列を含む。一実施形態において、抗メソテリンScFvは、配列番号199のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の例示的な一実施形態において、CARの抗メソテリンScFv部分は、配列番号199のアミノ酸配列を含む。別の例示的な一実施形態において、抗メソテリンScFvを発現するCARの核酸配列は、配列番号200からなる。別の例示的な一実施形態において、抗メソテリンCAR LTG1904のアミノ酸配列は、配列番号201である。

【0188】

本発明の一態様において、たとえば、レトロウイルス科（たとえば、HIV-1およびHIV-LPなどのヒト免疫不全ウイルス）、ピコルナウイルス科（たとえば、ポリオウイルス、A型肝炎ウイルス、エンテロウイルス、ヒトコクサッキーウイルス、ライノウイルス、およびエコーウイルス）、風疹ウイルス、コロナウイルス、水疱性口内炎ウイルス、狂犬病ウイルス、エボラウイルス、パラインフルエンザウイルス、ムンプスウイルス、麻疹ウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、インフルエンザウイルス、B型肝炎ウイルス、パルボウイルス、アデノウイルス科、ヘルペスウイルス科（たとえば、1型および2型単純ヘルペスウイルス（HSV）、水痘帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルス（CMV）、ならびにヘルペスウイルス）、ポックスウイルス科（たとえば、天然痘ウイルス、ワクシニアウイルス、およびポックスウイルス）、またはC型肝炎ウイルス、またはこれらの任意の組み合わせに由来する抗原（これらに限定されない）を含む、TSA以外またはTAA以外に結合できるCARが提供される。

【0189】

本発明の別の態様において、ブドウ球菌、連鎖球菌、大腸菌、シュドモナス、またはサルモネラ菌といった菌種に由来する抗原に結合できるCARが提供される。特に、たとえば、ヘリコバクター・ピロリ、レジオネラ・ニューモフィラ（*Legionella pneumophila*）、マイコバクテリア種（たとえば、結核菌、*M. アビウム*、*M. イントラセルラーレ*、*M. カンサシ*（*M. kansasii*）、または*M. ゴルドナエ*（*M. goodii*））、黄色ブドウ球菌、淋菌、髄膜炎菌（*Neisseria meningitidis*）、リステリア菌、化膿連鎖球菌、A群連鎖球菌、B群連鎖球菌（*Streptococcus agalactiae*）、肺炎連鎖球菌、もしくは破傷風菌といった菌

10

20

30

40

50

種またはこれらの組み合わせなどの感染性細菌に由来する抗原に結合できるCARが提供される。

【0190】

2. 膜貫通ドメイン

膜貫通ドメインに関して、CARは、当該CARの細胞外CD22抗原結合ドメインに融合した1つ以上の膜貫通ドメインを含む。

【0191】

膜貫通ドメインは、天然供給源または合成供給源のいずれに由来するものであってよい。供給源が天然のものである場合、このドメインは、任意の膜結合型または膜貫通型タンパク質に由来するものであってよい。

【0192】

本明細書中に記載されるCARにおいて特に有用な膜貫通領域は、T細胞受容体のアルファ、ベータ、もしくはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、メソテリン、CD33、CD37、CD64、CD80、CD83、CD86、CD134、CD137、CD154、TNFRSF16、またはTNFRSF19に由来する（すなわち、その膜貫通領域を少なくとも含む）ものであってよい。代替的には、膜貫通ドメインは、合成されたものであってよく、この場合、ロイシンおよびバリンなどの疎水性残基を主として含んでよい。好ましくは、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、合成膜貫通ドメインの各末端にみられてよい。任意に、好ましくはアミノ酸2〜10個の長さの、短いオリゴまたはポリペプチドリンカーが、CARの膜貫通ドメインと細胞質シグナル伝達ドメインとの間の結合を形成してよい。グリシンとセリンとのダブレットは、特に好適なリンカーを提供する。

【0193】

一実施形態において、CARにおけるドメインの1つに元々関連している膜貫通ドメインが、上述される膜貫通ドメインに加えて使用される。

【0194】

いくつかの例において、膜貫通ドメインは、当該ドメインと他の受容体複合体構成要素との相互作用を最小限とするために、当該ドメインが、同じまたは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインに結合するのを回避するように選択またはアミノ酸置換できる。

【0195】

一実施形態において、本発明に係るCARにおける膜貫通ドメインは、CD8膜貫通ドメインである。一実施形態において、CD8膜貫通ドメインは、配列番号181の核酸配列を含む。一実施形態において、CD8膜貫通ドメインは、配列番号182のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の一実施形態において、CD8膜貫通ドメインは、配列番号182のアミノ酸配列を含む。

【0196】

一実施形態において、コードされる膜貫通ドメインは、配列番号182のアミノ酸配列、または配列番号182のアミノ酸配列との同一性が95〜99%である配列に改変（たとえば、置換）を少なくとも1、2、もしくは3つ加えたものであって、ただし改変（たとえば、置換）が20、10、もしくは5つ以下であるアミノ酸配列を含む。

【0197】

いくつかの例において、CARの膜貫通ドメインは、CD8アルファヒンジドメインを含む。一実施形態において、CD8ヒンジドメインは、配列番号183の核酸配列を含む。一実施形態において、CD8ヒンジドメインは、配列番号184のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。別の一実施形態において、CD8ヒンジドメインは、配列番号184のアミノ酸配列またはこれとの同一性が95〜99%である配列を含む。

【0198】

一実施形態において、単離された核酸分子が提供され、ここで、コードされるリンカードメインは、CD8の細胞外ドメインに由来し、膜貫通CD8ドメイン、膜貫通CD28

10

20

30

40

50

ドメイン、またはこれらの組み合わせに結合している。

【0199】

3. スペーサドメイン

CARにおいて、細胞外ドメインと膜貫通ドメインとの間、または細胞内ドメインと膜貫通ドメインとの間に、スペーサドメインが配置されていてよい。スペーサドメインとは、膜貫通ドメインを細胞外ドメインと、および／または膜貫通ドメインを細胞内ドメインと結合させるように働く、任意のオリゴペプチドまたはポリペプチドを意味する。スペーサドメインは、アミノ酸上限300個まで、好ましくはアミノ酸10～100個、最も好ましくはアミノ酸25～50個を含む。

【0200】

いくつかの実施形態において、リンカーはスペーサ要素を含んでよく、スペーサ要素が存在する場合、スペーサ要素によってリンカーが大きくなり、エフェクター分子または検出可能なマーカーと抗体または抗原結合断片との間の距離が増大する。スペーサの具体例は当業者に周知されており、米国特許第7,964,566号、第7,498,298号、第6,884,869号、第6,323,315号、第6,239,104号、第6,034,065号、第5,780,588号、第5,665,860号、第5,663,149号、第5,635,483号、第5,599,902号、第5,554,725号、第5,530,097号、第5,521,284号、第5,504,191号、第5,410,024号、第5,138,036号、第5,076,973号、第4,986,988号、第4,978,744号、第4,879,278号、第4,816,444号、および第4,486,414号、ならびに米国特許公開第20110212088号および第20110070248号中に列記されるものを含む（これらの全体を引用により本明細書に援用する）。

【0201】

スペーサドメインは、好ましくは、CARと抗原との結合を促進し細胞中へのシグナル伝達を増大させる配列を有する。結合を促進すると予期されるアミノ酸の例は、システイン、荷電アミノ酸、ならびにグリコシル化の可能性のある部位におけるセリンおよびトレオニンを含み、これらのアミノ酸を、スペーサドメインを構成するアミノ酸として使用できる。

【0202】

このスペーサドメインとして、CD8アルファ（NCBI RefSeq: NP_001759.3）のヒンジ領域のアミノ酸番号137～206（配列番号39）、CD8ベータ（GenBank: AAA35664.1）のアミノ酸番号135～195、CD4（NCBI RefSeq: NP_000607.1）のアミノ酸番号315～396、またはCD28（NCBI RefSeq: NP_006130.1）のアミノ酸番号137～152の、全体または一部を使用できる。また、このスペーサドメインとして、抗体のH鎖またはL鎖の定常領域の一部も使用できる。さらに、このスペーサドメインは、人工的に合成された配列であってもよい。

【0203】

さらに、CARにおいて、N末端にシグナルペプチド配列が結合していてよい。このシグナルペプチド配列は、多くの分泌タンパク質および膜タンパク質のN末端に存在し、アミノ酸15～30個の長さを有する。細胞内ドメインとして上述されるタンパク質分子の多くがシグナルペプチド配列を有するため、このシグナルペプチドを、CARのためのシグナルペプチドとして使用できる。一実施形態において、シグナルペプチドは、配列番号191のアミノ酸配列を含む。

【0204】

4. 細胞内ドメイン

CARの細胞質ドメインまたは細胞内シグナル伝達ドメインは、CARが導入された免疫細胞の正常なエフェクター機能のうち少なくとも1つの活性化を担う。用語「エフェクター機能」は、細胞の特殊機能を指す。たとえば、T細胞のエフェクター機能は、細胞溶

10

20

30

40

50

解活性、またはサイトカインの分泌を含むヘルパー活性であり得る。よって、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、エフェクター機能シグナルを伝達し細胞が特殊機能を果たすように仕向ける、タンパク質部分を指す。通常は細胞内シグナル伝達ドメインの全体を使用できるが、多くの場合、鎖全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインを切断した一部が使用される場合、この切断部分がエフェクター機能シグナルを伝達できる限りは、これを完全な鎖の代わりに使用してよい。したがって、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」の意味には、エフェクター機能シグナルを伝達するのに十分な細胞内シグナル伝達ドメインの任意の切断部分が含まれる。

【0205】

CARにおいて使用するための細胞内シグナル伝達ドメインの好ましい例は、抗原と受容体との結合後にシグナル伝達を開始するよう協同作用するT細胞受容体(TCR)および共受容体の細胞質配列、ならびにこれらの配列の任意の派生物またはバリエーション、ならびに同じ機能的能力を有する任意の合成配列を含む。

【0206】

TCRのみを通して発されたシグナルはT細胞を十分に活性化するには不十分であること、および第2のまたは共刺激シグナルがさらに必要であることが知られている。したがって、T細胞活性化には、抗原依存性の第1の活性化をTCRを経て開始するもの(第1の細胞質シグナル伝達配列)と、抗原とは独立した様式で働いて第2のまたは共刺激シグナルを提供するもの(第2の細胞質シグナル伝達配列)との、2つの別個の種類の細胞質シグナル伝達配列が介在するといえる。

【0207】

第1の細胞質シグナル伝達配列は、TCR複合体の第1の活性化を、刺激的様式または阻害的様式のいずれかで調節する。刺激的様式で働く第1の細胞質シグナル伝達配列は、免疫受容体活性化チロシンモチーフまたはITAMとして知られるシグナル伝達モチーフを含有してよい。

【0208】

本明細書中に開示されるCARにおいて特に有用な第1の細胞質シグナル伝達配列を含有するITAMの例は、TCRゼータ(CD3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、CD5、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66dに由来するものを含む。ITAMの具体例は、CD3ゼータ(NCBI RefSeq: NP__932170.1)のアミノ酸番号51~164、FcイプシロンRIガンマ(NCBI RefSeq: NP__004097.1)のアミノ酸番号45~86、FcイプシロンRIベータ(NCBI RefSeq: NP__000130.1)のアミノ酸番号201~244、CD3ガンマ(NCBI RefSeq: NP__000064.1)のアミノ酸番号139~182、CD3デルタ(NCBI RefSeq: NP__000723.1)のアミノ酸番号128~171、CD3イプシロン(NCBI RefSeq: NP__000724.1)のアミノ酸番号153~207、CD5(NCBI RefSeq: NP__055022.2)のアミノ酸番号402~495、0022(NCBI RefSeq: NP__001762.2)のアミノ酸番号707~847、CD79a(NCBI RefSeq: NP__001774.1)のアミノ酸番号166~226、CD79b(NCBI RefSeq: NP__000617.1)のアミノ酸番号182~229、およびCD66d(NCBI RefSeq: NP__001806.2)のアミノ酸番号177~252の配列を有するペプチド、ならびに、これらのペプチドと同じ機能を有するバリエーションを含むが、これらに限定されない。本明細書中に記載されるNCBI RefSeq IDまたはGenBankのアミノ酸配列情報に基づくアミノ酸番号は、各タンパク質の前駆体(シグナルペプチド配列などを含む)の全長に基づいて番号付けされたものである。一実施形態において、CARにおける細胞質シグナル伝達分子は、CD3ゼータに由来する細胞質シグナル伝達配列を含む。

【0209】

好ましい一実施形態において、CARの細胞内ドメインは、それ自体がCD3-ゼータシグナル伝達ドメインを含むように設計されてよい、または、CARとの関連で有用である任意の他の望ましい細胞質ドメインと組み合わせてよい。たとえば、CARの細胞内ドメインは、CD3-ゼータ鎖部分および共刺激シグナル伝達領域を含んでよい。共刺激シグナル伝達領域は、共刺激分子の細胞内ドメインを含むCARの一部を指す。共刺激分子は、リンパ球が抗原に対して効率よく反応するために必要な抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子である。このような共刺激分子の例は、CD27、CD28、4-1BB（CD137）、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、および特異的にCD83と結合するリガンドなどを含む。このような共刺激分子の具体例は、CD2（NCBI RefSeq：NP__001758.2）のアミノ酸番号236～351、CD4（NCBI RefSeq：NP__000607.1）のアミノ酸番号421～458、CD5（NCBI RefSeq：NP__055022.2）のアミノ酸番号402～495、CD8アルファ（NCBI RefSeq：NP__001759.3）のアミノ酸番号207～235、CD83（GenBank：AAA35664.1）のアミノ酸番号196～210、CD28（NCBI RefSeq：NP__006130.1）のアミノ酸番号181～220、CD137（4-1BB、NCBI RefSeq：NP__001552.2）のアミノ酸番号214～255、CD134（OX40、NCBI RefSeq：NP__003318.1）のアミノ酸番号241～277、およびICOS（NCBI RefSeq：NP__036224.1）のアミノ酸番号166～199の配列を有するペプチド、ならびに、これらのペプチドと同じ機能を有するバリエーションを含むが、これらに限定されない。このように、本開示は、ここまで、共刺激シグナル伝達要素として主に4-1BBを用いて例示されてきたが、他の共刺激要素も本開示の範囲内である。

【0210】

CARの細胞質シグナル伝達部分における細胞質シグナル伝達配列は、無作為のまたは特定の順序で、互いに結合してよい。任意に、好ましくはアミノ酸2～10個の長さの、短いオリゴまたはポリペプチドリinkerが、この結合を形成してよい。グリシンとセリンとのダブルットは、特に好適なリンカーを提供する。

【0211】

一実施形態において、細胞内ドメインは、CD3-ゼータのシグナル伝達ドメインおよびCD28のシグナル伝達ドメインを含むように設計される。別の一実施形態において、細胞内ドメインは、CD3-ゼータのシグナル伝達ドメインおよび4-1BBのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。さらに別の一実施形態において、細胞内ドメインは、CD3-ゼータのシグナル伝達ドメイン、ならびにCD28および4-1BBのシグナル伝達ドメインを含むように設計される。

【0212】

一実施形態において、CARにおける細胞内ドメインは、4-1BBのシグナル伝達ドメインおよびCD3-ゼータのシグナル伝達ドメインを含むように設計され、ここで、4-1BBのシグナル伝達ドメインは配列番号186の核酸配列を含み、CD3-ゼータのシグナル伝達ドメインは配列番号188の核酸配列を含む。

【0213】

一実施形態において、CARにおける細胞内ドメインは、4-1BBのシグナル伝達ドメインおよびCD3-ゼータのシグナル伝達ドメインを含むように設計され、ここで、4-1BBのシグナル伝達ドメインは、配列番号187のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含み、CD3-ゼータのシグナル伝達ドメインは、配列番号189のアミノ酸配列をコードする核酸配列を含む。

【0214】

一実施形態において、CARにおける細胞内ドメインは、4-1BBのシグナル伝達ドメインおよびCD3-ゼータのシグナル伝達ドメインを含むように設計され、ここで、4

10

20

30

40

50

ー 1 B B のシグナル伝達ドメインは配列番号 1 8 7 のアミノ酸配列を含み、C D 3 -ゼータのシグナル伝達ドメインは配列番号 1 8 9 のアミノ酸配列を含む。

【 0 2 1 5 】

5. C A R についてのさらなる説明

本明細書中に開示される C A R の機能的部分もまた、本発明の範囲内に明白に含まれる。用語「機能的部分」は、C A R に言及して使用される場合、本明細書中に開示される C A R の 1 種以上の任意の部分または断片を指し、この部分または断片は、当該 C A R (親 C A R) の生物学的活性を保持する。機能的部分は、たとえば、親 C A R と類似する程度に、親 C A R と同程度に、または親 C A R よりも高程度に、標的細胞の認識、または疾患の検出、処置、もしくは予防を行なう能力を保持する、C A R 部分を包含する。親 C A R に関して、機能的部分は、たとえば、親 C A R の約 1 0 %、2 5 %、3 0 %、5 0 %、6 8 %、8 0 %、9 0 %、9 5 %、またはそれ以上を含み得る。

10

【 0 2 1 6 】

機能的部分は、当該部分のアミノ末端またはカルボキシ末端または両末端に、親 C A R のアミノ酸配列にはみられないさらなるアミノ酸を含んでよい。望ましくは、これらのさらなるアミノ酸は、たとえば、標的細胞の認識、がんの検出、がんの処置または予防などの、機能的部分の生物学的機能を妨げない。より望ましくは、これらのさらなるアミノ酸は、こうした生物学的活性を、親 C A R の生物学的活性よりも向上させる。

【 0 2 1 7 】

本明細書中に開示される C A R の機能的バリエントが、本開示の範囲内に含まれる。用語「機能的バリエント」は、本明細書中において使用される場合、親 C A R との配列同一性または類似性が相当程度または顕著である C A R、ポリペプチド、またはタンパク質を指し、この機能的バリエントは、当該バリエントの派生元である C A R の生物学的活性を保持する。機能的バリエントは、たとえば、本明細書中に記載される C A R (親 C A R) のバリエントであって、親 C A R と類似する程度に、親 C A R と同程度に、または親 C A R よりも高程度に、標的細胞を認識する能力を保持するものを包含する。親 C A R に関して、機能的バリエントは、たとえば、親 C A R とのアミノ酸配列同一性が、少なくとも約 3 0 %、5 0 %、7 5 %、8 0 %、9 0 %、9 8 %、またはそれ以上であってよい。

20

【 0 2 1 8 】

機能的バリエントは、たとえば、親 C A R のアミノ酸配列に少なくとも 1 つの保存的アミノ酸置換を加えたものを含んでよい。代替的には、または追加的には、機能的バリエントは、親 C A R のアミノ酸配列に少なくとも 1 つの非保存的アミノ酸置換を加えたものを含んでよい。この場合、この非保存的アミノ酸置換は、機能的バリエントの生物学的活性を妨害または阻害しないことが好ましい。この非保存的アミノ酸置換は、機能的バリエントの生物学的活性を向上させて、その結果、機能的バリエントの生物学的活性が親 C A R よりも優れるようにするものであってよい。

30

【 0 2 1 9 】

C A R のアミノ酸置換は、好ましくは、保存的アミノ酸置換である。保存的アミノ酸置換は当技術分野において周知されており、特定の物理的および／または化学的特性を有する 1 つのアミノ酸が、同じまたは類似する化学的または物理的特性を有する別のアミノ酸と交換されるようなアミノ酸置換を含む。たとえば、保存的アミノ酸置換は、酸性／負荷電極性アミノ酸 (たとえば、A s p または G l u) を別の酸性／負荷電極性アミノ酸で置換すること、非極性側鎖含有アミノ酸 (たとえば、A l a、G l y、V a l、H e、L e u、M e t、P h e、P r o、T r p、C y s、V a l など) を別の非極性側鎖含有アミノ酸で置換すること、塩基性／正荷電極性アミノ酸 (たとえば、L y s、H i s、A r g など) を別の塩基性／正荷電極性アミノ酸で置換すること、極性側鎖含有非荷電アミノ酸 (たとえば、A s n、G i n、S e r、T h r、T y r など) を別の極性側鎖含有非荷電アミノ酸で置換すること、ベータ分枝側鎖含有アミノ酸 (たとえば、H e、T h r、および V a l) を別のベータ分枝側鎖含有アミノ酸で置換すること、芳香族側鎖含有アミノ酸 (たとえば、H i s、P h e、T r p、および T y r) を別の芳香族側鎖含有アミノ酸で

40

50

置換することなどであってよい。

【0220】

CARは、本質的に、本明細書中に記載される1つまたは複数の指定のアミノ酸配列からなるものであってよく、その結果、他の構成要素（たとえば、他のアミノ酸）によって機能的バリエーションの生物学的活性が実質的に変化しない。

【0221】

CAR（機能的部分および機能的バリエーションを含む）は、CAR（またはその機能的部分または機能的バリエーション）が、たとえば、抗原への特異的結合能力、哺乳動物における疾患細胞検出能力、または哺乳動物における疾患の処置もしくは予防能力などの、生物学的活性を保持する限り、任意の長さであってよい、すなわち任意の数のアミノ酸を含むものであってよい。たとえば、CARは、アミノ酸約50～約5000個の長さ、たとえば、アミノ酸50個、70個、75個、100個、125個、150個、175個、200個、300個、400個、500個、600個、700個、800個、900個、1000個、またはそれ以上の長さであってよい。

【0222】

CAR（本発明に係る機能的部分および機能的バリエーションを含む）は、1つ以上の天然アミノ酸に替えて、合成アミノ酸を含んでよい。このような合成アミノ酸は当技術分野において周知であり、たとえば、アミノシクロヘキサカルボン酸、ノルロイシン、 α -アミノ *n*-デカン酸 (*n*-amino *n*-decanoic acid)、ホモセリン、*S*-アセチルアミノメチル-L-システイン、*trans*-3-および *trans*-4-ヒドロキシプロリン、4-アミノフェニルアラニン、4-ニトロフェニルアラニン、4-クロロフェニルアラニン、4-カルボキシフェニルアラニン、 β -フェニルセリン β -ヒドロキシフェニルアラニン、フェニルグリシン、 α -ナフチルアラニン、シクロヘキシルアラニン、シクロヘキシルグリシン、インドリン-2-カルボン酸、1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸、アミノマロン酸、アミノマロン酸モノアミド、*N*'-ベンジル-*N*'-メチル-L-リシン、*N*'-, *N*'-ジベンジル-L-リシン、6-ヒドロキシリシン、オルニチン、 α -アミノシクロペンタンカルボン酸 (α -aminocyclopentanecarboxylic acid)、 α -アミノシクロヘキサカルボン酸、 α -アミノシクロヘプタンカルボン酸、 α -(2-アミノ-2-ノルボルナン)-カルボン酸、 γ -ジアミノ酪酸、 β -ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニン、および *tert*-ブチルグリシンを含む。

【0223】

CAR（機能的部分および機能的バリエーションを含む）は、グリコシル化、アミド化、カルボキシ化、リン酸化、エステル化、*N*-アシル化、環化（たとえば、ジスルフィド架橋により）、または酸付加塩に変換、および／または任意に二量体化もしくは重合もしくは共役されてよい。

【0224】

CAR（その機能的部分および機能的バリエーションを含む）は、当技術分野において周知の方法によって得ることができる。CARは、任意の好適なポリペプチドまたはタンパク質作製方法によって作製されてよい。ポリペプチドおよびタンパク質を新たに合成する好適な方法が、Chanら、*Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis*, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2000; *Peptide and Protein Drug Analysis*, ed. Reid, R., Marcel Dekker, Inc., 2000; *Epitope Mapping*, ed. Westwoodら, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, 2001; および米国特許第5, 449, 752号などの先行技術文献中に記載される。また、ポリペプチドおよびタンパク質は、本明細書中に記載される核酸を使用し、標準的な組換え方法を使用して、組換えにより産生されてもよい。たとえば、Sambrookら、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第3版,

10

20

30

40

50

Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY 2001; および、Ausubelら, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, NY, 1994を参照。さらに、CAR（その機能的部分および機能的バリエーションを含む）のいくつかは、植物、細菌、昆虫、哺乳動物（たとえば、ラット、ヒトなど）などの供給源から単離および／または精製されてよい。単離および精製方法は当技術分野において周知されている。代替的には、本明細書中に記載されるCAR（その機能的部分および機能的バリエーションを含む）は、企業により商業的に合成されたものであってもよい。この点に関し、CARは、合成、組換え、単離、および／または精製されたものであってもよい。

10

【0225】

B. 抗体および抗原結合断片

一実施形態は、本明細書中に開示される抗原の1つ以上に特異的に結合する、CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合ドメインもしくは一部分をさらに提供する。本明細書中において使用される場合、「CARを発現するT細胞」または「CAR T細胞」は、CARを発現するT細胞を意味し、たとえばCARの抗体由来標的ドメインによって決定される、抗原特異性を有する。

【0226】

本明細書中において使用される場合、「抗原結合ドメイン」は、抗体およびその抗原結合断片を含んでよい。用語「抗体」は、本明細書中において、その最も広い意味で使用され、所望の抗原結合活性を呈するものであれば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（たとえば、二重特異性抗体）、およびその抗原結合断片を含む（がこれらに限定されない）多様な抗体構造を包含する。抗体の例は、たとえば、抗原に対する結合親和性を保持する当技術分野において周知の完全型免疫グロブリンならびにそのバリエーションおよび断片を含むが、これらに限定されない。

20

【0227】

「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体である。すなわち、この集団を構成する個々の抗体は、ごく微量で存在し得る天然の突然変異を有し得ることを除いて、同一である。モノクローナル抗体は、特異性が高く、単一の抗原エпитープに対するものである。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均質な抗体集団から当該抗体が得られるという特性を示すものであって、当該抗体が何らかの特定の方法によって作製される必要があると解釈されるべきではない。いくつかの例において、モノクローナル抗体は、Bリンパ球の単一クローンによって、または、単一の抗体（またはその抗原結合断片）についてその抗体の軽鎖および重鎖可変領域をコードする核酸がトランスフェクションされた細胞もしくはその子孫によって、産生された抗体である。いくつかの例において、モノクローナル抗体は、対象から単離される。モノクローナル抗体は、抗原結合または他の免疫グロブリン機能に実質的に影響しない保存的アミノ酸置換を有してよい。例示的なモノクローナル抗体作製方法は周知されており、たとえば、Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, 第2版 Cold Spring Harbor Publications, New York (2013)を参照。

30

40

【0228】

典型的には、免疫グロブリンは、ジスルフィド結合により互いに結合した重（H）鎖および軽（L）鎖を有する。免疫グロブリン遺伝子は、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、およびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変ドメイン遺伝子を含む。軽鎖にはラムダ（ λ ）およびカッパ（ κ ）の2種類がある。主要な重鎖には5つのクラス（またはアイソタイプ）があり、これらが抗体分子の機能活性を決定する（IgM、IgD、IgG、IgA、およびIgE）。

【0229】

重鎖および軽鎖はそれぞれ、定常領域（または定常ドメイン）および可変領域（または

50

可変ドメイン)を含有する(たとえば、Kindtら Kuby Immunology, 第6版, W. H. Freeman and Co., 91ページ(2007)を参照)。いくつかの実施形態において、重鎖および軽鎖可変領域が組み合わさって、抗原に特異的に結合する。追加的な実施形態において、重鎖可変領域のみが必要とされる。たとえば、重鎖のみからなる天然のラクダ類抗体は、軽鎖がなくても機能的かつ安定である(たとえば、Hamers-Castermanら, Nature, 363:446-448, 1993; Sherifら, Nat. Struct. Biol., 3:733-736, 1996を参照)。「VH」への言及、または「VH」は、抗原結合断片の可変領域を含む、抗体重鎖の可変領域、たとえばFv、ScFv、dsFv、またはFabなどを指す。「VL」への言及、または「VL」は、Fv、ScFv、dsFv、またはFabのものを含む抗体軽鎖の可変ドメインを指す。

10

【0230】

軽鎖および重鎖の可変領域は、「フレームワーク」領域と、これを中断する3つの超可変領域(「相補性決定領域」または「CDR」ともよばれる)とを含有する(たとえば、Kabatら, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 米国保健福祉省(U. S. Department of Health and Human Services), 1991を参照)。異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列は、同種間で比較的保存されている。抗体のフレームワーク領域、すなわち、構成軽鎖および構成重鎖のフレームワーク領域が一緒になって、三次元空間においてCDRを位置決めおよび整列させている。

20

【0231】

CDRは、主に、抗原エпитープへの結合を担う。所与のCDRのアミノ酸配列の境界は、Kabatら(“Sequences of Proteins of Immunological Interest,” 第5版 Public Health Service, アメリカ国立衛生研究所(National Institutes of Health), Bethesda, MD, 1991; “Kabat” numbering scheme)、Al-Lazikaniら(JMB 273, 927-948, 1997; “Chothia” numbering scheme)、およびLeFrancら(“IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains,” Dev. Comp. Immunol., 27:55-77, 2003; “IMGT” numbering scheme)により記載されるスキームを含む複数の周知のスキームのうち任意のものを使用して容易に判断できる。各鎖のCDRは、典型的には、CDR1、CDR2、およびCDR3(N末端からC末端に向かって)と称され、さらに、典型的には、そのCDRが位置する鎖によって特定される。したがって、VH CDR3は、これを含む抗体の重鎖の可変ドメインからのCDR3であり、VL CDR1は、これを含む抗体の軽鎖の可変ドメインからのCDR1である。軽鎖CDRは、LCDR1、LCDR2、およびLCDR3と称される場合がある。重鎖CDRは、HCDR1、HCDR2、およびHCDR3と称される場合がある。

30

40

【0232】

「抗原結合断片」は、同族の抗原を特異的に認識する能力を保持する、全長抗体の一部分、およびこのような部分の多様な組み合わせである。抗原結合断片の例は、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂; ダイアボディ; 直鎖状抗体(linear antibodies); 一本鎖抗体分子(たとえば、ScFv); および抗体断片から形成される多重特異性抗体を含むが、これらに限定されない。抗体断片は、抗体全体の改変によって作製された、または、組換えDNA方法論を使用して新たに合成された、抗原結合断片を含む(たとえば、Kontermann and Dubel(Ed), Antibody Engineering, Vols. 1-2, 第2版, Springer Press, 2010を参照)。

50

【0233】

一本鎖抗体 (ScFv) は、1つ以上の抗体のVHドメインとVLドメインとを好適なポリペプチドリンカーによって結合して遺伝子融合一本鎖分子としたものを含有する、遺伝子操作された分子である (たとえば、Birdら, *Science*, 242:423-426, 1988; Hustonら, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85:5879-5883, 1988; Ahmadら, *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, doi:10.1155/2012/980250; Marbry, *IDrugs*, 13:543-549, 2010を参照)。ScFv内におけるVHドメインおよびVLドメインの分子内配向は、典型的には、ScFvを決定づけるものではない。したがって、起こり得る編成 (VHドメイン-リンカードメイン-VLドメイン; VLドメイン-リンカードメイン-VHドメイン) の両方を有するScFvを使用してよい。

10

【0234】

dsFvにおいて、重鎖および軽鎖の可変鎖は、突然変異によりジスルフィド結合を導入して、両鎖の結合を安定化させたものである。また、ダイアボディも含まれ、これは2価の二重特異性抗体であって、VHドメインとVLドメインとが1本のポリペプチド鎖上に発現しているが、2つのドメインを繋いで1本の鎖にするには短すぎるリンカーを使用しているため、2つのドメインを別の鎖の相補的ドメインと繋いでおり、2つの抗原結合部位が形成されている (たとえば、Holligerら, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:6444-6448, 1993; Poljakら, *Structure*, 2:1121-1123, 1994を参照)。

20

【0235】

抗体は、さらに、キメラ抗体 (ヒト化マウス抗体など) およびヘテロ結合抗体 (heteroconjugate antibodies) (二重特異性抗体など) などの遺伝子操作された形態も含む。Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., *Immunology*, 第3版, W. H. Freeman & Co., New York, 1997も参照。

【0236】

天然に存在しない抗体は、固相ペプチド合成を使用して構築できる、または、組換えによって作製できる、または、たとえば、Huseら, *Science* 246:1275-1281 (1989) (引用により本明細書に援用する) により記載される可変重鎖および可変軽鎖からなるコンビナトリアルライブラリのスクリーニングによって得ることができる。これらの方法、ならびに、たとえばキメラ、ヒト化、CDRグラフト、一本鎖、および二機能性抗体を作製するための、他の方法は、当業者に周知されている (Winter and Harris, *Immunol. Today* 14:243-246 (1993); Wardら, *Nature* 341:544-546 (1989); Harlow and Lane, 上述, 1988; Hillyardら, *Protein Engineering: A practical approach* (IRL Press 1992); Borrabeck, *Antibody Engineering*, 第2版 (Oxford University Press 1995); これらの各々を引用により本明細書に援用する)。

30

40

【0237】

参照抗体としての「同じエпитープに結合する抗体」は、拮抗アッセイにおいて参照抗体とその抗原との結合を50%以上妨げる抗体を指し、逆に、参照抗体は、拮抗アッセイにおいてこの抗体とその抗原との結合を50%以上妨げる。抗体拮抗アッセイは周知されており、例示的な拮抗アッセイが本明細書中において提供される。

【0238】

「ヒト化」抗体または抗原結合断片は、ヒトフレームワーク領域と、非ヒト (マウス、ラット、または合成など) 抗体または抗原結合断片からの1つ以上のCDRとを含む。このCDRを与える非ヒト抗体または抗原結合断片は「ドナー」と呼ばれ、フレームワーク

50

を与えるヒト抗体または抗原結合断片は「アクセプター」と呼ばれる。一実施形態において、すべてのCDRが、ヒト化免疫グロブリンにおけるドナー免疫グロブリンからのものである。定常領域は存在しなくてもよいが、存在する場合には、ヒト免疫グロブリン定常領域と実質的に同一であってよく、たとえば少なくとも約85～90%（約95%以上など）同一であってよい。よって、ヒト化抗体または抗原結合断片のすべての部分（恐らくはCDRを除く）が、天然ヒト抗体配列の対応部分と実質的に同一である。

【0239】

「キメラ抗体」は、2つの異なる抗体（典型的には種が異なる）に由来する配列を含む抗体である。いくつかの例において、キメラ抗体は、1つのヒト抗体からの1つ以上のCDRおよび／またはフレームワーク領域と、別のヒト抗体からのCDRおよび／またはフレームワーク領域とを含む。

10

【0240】

「完全ヒト抗体」または「ヒト抗体」は、ヒトゲノムからの（または、これに由来する）配列を含み、別の種からの配列を含まない抗体である。いくつかの実施形態において、ヒト抗体は、ヒトゲノムからの（または、これに由来する）CDR、フレームワーク領域、および（存在する場合には）Fc領域を含む。ヒト抗体は、たとえばファージディスプレイまたは遺伝子組換え動物の使用により、ヒトゲノム由来配列に基づく抗体作製技術を使用することによって、同定および単離できる（たとえば、Barbasら Phage display: A Laboratory Manual, 第1版 New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004. Print.; Lonberg, Nat. Biotech., 23:1117-1125, 2005; Lonenberg, Curr. Opin. Immunol., 20:450-459, 2008を参照）。

20

【0241】

抗体は、1つ以上の結合部位を有してよい。結合部位が1を超える場合には、これらの結合部位は、互いに同じであってよい、または異なってもよい。たとえば、天然の免疫グロブリンは2つの同じ結合部位を有し、一本鎖抗体またはFab断片は1つの結合部位を有し、二重特異性または二機能性抗体は2つの異なる結合部位を有する。

【0242】

CARの任意の機能的部分に結合できる抗体能力を試験する方法は当技術分野において周知であり、たとえば、放射免疫測定（RIA）、ELISA、ウェスタンブロット、免疫沈降、および競合阻害アッセイなどの、任意の抗体抗原結合アッセイを含む（たとえば、下記のJanewayら、米国特許出願公開第2002/0197266 A1号、および米国特許第7,338,929号を参照）。

30

【0243】

また、CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分は、たとえば、放射性同位体、フルオロフォア（たとえば、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、フィコエリトリン（PE））、酵素（たとえば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ）、および元素粒子（たとえば、金粒子）などの、検出可能な標識を含むように改変されている。

40

【0244】

C. 結合体（conjugates）

本明細書中に開示される抗原の1つ以上に対して特異的な、CAR、CARを発現するT細胞、またはモノクローナル抗体、またはその抗原結合断片は、当業者に周知の多くの手段のうち任意の手段を使用して、エフェクター分子または検出可能なマーカーなどの剤に結合されている。共有結合による手段および非共有結合による手段のいずれを使用してもよい。結合体は、本明細書中に開示される抗原の1つ以上に対して特異的に結合する抗体または抗原結合断片と、エフェクター分子または検出可能なマーカーとが共有結合している分子を含むが、これらに限定されない。当技術分野における当業者には、化学療法剤、抗血管新生剤、毒素、 ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^3H 、および ^{35}S などの放射性

50

剤、ならびに、他の標識、標的部位、およびリガンドなどを含む（がこれらに限定されない）多様なエフェクター分子および検出可能なマーカーを使用できるということが理解される。

【0245】

具体的なエフェクター分子または検出可能なマーカーの選択は、具体的な標的分子または細胞、および所望される生物学的作用に依存する。したがって、たとえば、エフェクター分子は、特定の標的細胞（腫瘍細胞など）の死を引き起こすために使用される細胞毒であってもよい。

【0246】

エフェクター分子または検出可能なマーカーを抗体または抗原結合断片に付着させる手順は、エフェクターの化学構造によって異なる。ポリペプチドは、典型的には、カルボン酸（COOH）、遊離アミン（-NH₂）、またはスルフヒドリル（-SH）基などの多様な官能基を含有しており、これらを抗体上の好適な官能基との反応に利用でき、その結果として、エフェクター分子または検出可能なマーカーの結合が得られる。代替的には、抗体または抗原結合断片を誘導体化して、さらなる反応性官能基を露出または付着させる。誘導体化は、Pierce Chemical Company（Rockford, IL）から入手できるものなどの複数の周知のリンカー分子のうち任意のものの付着に関連してよい。リンカーは、抗体または抗原結合断片をエフェクター分子または検出可能なマーカーと結合させるために使用される任意の分子であってよい。リンカーは、抗体または抗原結合断片とエフェクター分子または検出可能なマーカーとの両方に共有結合を形成できる。好適なリンカーは当業者に周知されており、直鎖もしくは分枝鎖炭素リンカー、複素環式炭素リンカー、またはペプチドリンカーを含むが、これらに限定されない。抗体または抗原結合断片およびエフェクター分子または検出可能なマーカーがポリペプチドである場合、リンカーは、その側鎖を介して構成アミノ酸に（たとえば、ジスルフィド結合を介してシステインに）、または末端アミノ酸のアルファ炭素のアミノ基およびカルボキシ基に結合してよい。

【0247】

いくつかの実施形態において、リンカーはスペーサ要素を含んでよく、スペーサ要素が存在する場合、スペーサ要素によってリンカーが大きくなり、エフェクター分子または検出可能なマーカーと抗体または抗原結合断片との間の距離が増大する。スペーサの具体例は当業者に周知されており、米国特許第7,964,566号、第7,498,298号、第6,884,869号、第6,323,315号、第6,239,104号、第6,034,065号、第5,780,588号、第5,665,860号、第5,663,149号、第5,635,483号、第5,599,902号、第5,554,725号、第5,530,097号、第5,521,284号、第5,504,191号、第5,410,024号、第5,138,036号、第5,076,973号、第4,986,988号、第4,978,744号、第4,879,278号、第4,816,444号、および第4,486,414号、ならびに米国特許公開第20110212088号および第20110070248号中に列記されるものを含む（これらの各々の全体を引用により本明細書に援用する）。

【0248】

いくつかの実施形態において、リンカーは、細胞内という条件下において開裂可能であり、リンカーの開裂によって、細胞内環境において、抗体または抗原結合断片からエフェクター分子または検出可能なマーカーが解放される。さらに別の実施形態において、リンカーは開裂可能ではなく、エフェクター分子または検出可能なマーカーは、たとえば抗体の分解によって、解放される。いくつかの実施形態において、リンカーは、細胞内環境内（たとえば、リソソームまたはエンドソームまたはカベオラ（caveola）内）に存在する開裂剤によって開裂可能である。リンカーは、たとえば、細胞内のペプチダーゼ、またはリソソームプロテアーゼもしくはエンドソームプロテアーゼを含むがこれらに限定されないプロテアーゼ酵素によって開裂したペプチドリンカーであってよい。いくつか

の実施形態において、ペプチドリンカーは、少なくともアミノ酸2個の長さ、または少なくともアミノ酸3個の長さである。しかしながら、リンカーは、アミノ酸4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、または15個の長さ、たとえばアミノ酸1～2個、1～3個、2～5個、3～10個、3～15個、1～5個、1～10個、1～15個の長さであってよい。プロテアーゼは、カテプシンBおよびD、ならびにプラスミンを含んでよく、これらはすべて、ジペプチド薬物誘導体を加水分解して、標的細胞中において活性薬物を放出することが知られている（たとえば、Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83: 67-123を参照）。たとえば、チオール依存性プロテアーゼ カテプシン-Bによって開裂可能なペプチドリンカーを使用できる（たとえば、フェニルアラニン-ロイシンまたはグリシン-フェニルアラニン-ロイシン-グリシンリンカー）。このようなリンカーの他の例が、たとえば米国特許第6,214,345号中に記載され、これを引用により本明細書に援用する。具体的な一実施形態において、細胞内プロテアーゼによって開裂可能なペプチドリンカーは、バリン-シトルリン (Citrulline) リンカーまたはフェニルアラニン-リシンリンカーである（たとえば、米国特許第6,214,345号を参照。この文献はドキシソルピシンとバリン-シトルリン (Citrulline) リンカーとの合成を記載している）。

【0249】

別の実施形態において、開裂可能なリンカーは、pH感受性である、すなわち、特定のpH値において加水分解に感受性を有する。典型的には、こうしたpH感受性リンカーは、酸性条件下において加水分解する。たとえば、リソソーム内で加水分解し得る酸不安定リンカー（たとえば、ヒドラゾン、セミカルバゾン、チオセミカルバゾン、cis-アコニットアミド (cis-aconitic amide)、オルトエステル、アセタール、またはケタールなど）を使用できる。（たとえば、米国特許第5,122,368号、第5,824,805号、第5,622,929号；Dubowchik and Walker, 1999, Pharm. Therapeutics 83: 67-123；Nevilleら, 1989, Biol. Chem. 264: 14653-14661を参照）。こうしたリンカーは、中性pH条件下（血液中など）においては比較的安定であるが、リソソームのおよそのpHであるpH5.5または5.0未満では不安定である。特定の実施形態において、加水分解性リンカーは、チオエーテルリンカーである（たとえば、アシルヒドラゾン結合を介して当該治療剤に結合したチオエーテルなど（たとえば、米国特許第5,622,929号などを参照））。

【0250】

別の実施形態において、リンカーは、還元条件下において開裂可能である（たとえば、ジスルフィドリンカー）。多様なジスルフィドリンカーが当技術分野において周知されており、たとえば、SATA (N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセテート)、SPDP (N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート)、SPDB (N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)ブチレート)、およびSMPT (N-スクシンイミジル-オキシカルボニル-アルファ-メチル-アルファ-(2-ピリジルジチオ)トルエン)-、SPDBおよびSMPTを使用して形成できるものを含む。（たとえば、Thorpeら, 1987, Cancer Res. 47: 5924-5931；Wawrzynczakら, In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimaging and Therapy of Cancer (C. W. Vogel編, Oxford U. Press, 1987)；Phillipsら, Cancer Res. 68: 92809290, 2008を参照）。また、米国特許第4,880,935号も参照される。

【0251】

さらに別の具体的な実施形態において、リンカーは、マロネートリンカー (Johnsonら, 1995, Anticancer Res. 15: 1387-93)、マレイミドベンゾイルリンカー (Lauら, 1995, Bioorg-Med-Chem. 3 (1

10

20

30

40

50

0) : 1299-1304)、または3'-N-アミド類似体(Laur, 1995, Bioorg-Med-Chem. 3(10):1305-12)である。

【0252】

さらに別の実施形態において、リンカーは開裂可能ではなく、エフェクター分子または検出可能なマーカーは抗体の分解によって解放される(米国公報第2005/0238649号を参照、この全体を引用により本明細書に援用する)。

【0253】

いくつかの実施形態において、リンカーは、細胞外環境において、開裂に対して抵抗性を有する。たとえば、結合体が細胞外環境内(たとえば、血漿中)に存在する際には、結合体の試料中において、リンカーの約20%以下、約15%以下、約10%以下、約5%以下、約3%以下、または約1%以下が開裂している。細胞外環境内においてリンカーが開裂に対して抵抗性を有するか否かは、たとえば、目的とするリンカーを含有する結合体を血漿と共に、あらかじめ定められた時間(たとえば、2、4、8、16、または24時間)かけてインキュベートし、次いで、血漿中に遊離しているエフェクター分子または検出可能なマーカーの量を定量することによって、判断できる。結合体中において使用できる多様な例示的なリンカーが、WO2004-010957号、米国公報第2006/0074008号、米国公報第20050238649号、および米国公報第2006/0024317号中に記載され、これらの各々の全体を引用により本明細書に援用する。

【0254】

いくつかの実施形態において、CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分と、カリケアマイシン、メイタンシノイド、ドラスタチン、アウリスタチン、トリコセチン、およびCC1065などの1つ以上の小分子毒素、ならびにこれらの毒素の誘導体で毒素活性を有するものとの結合体が提供される。

【0255】

メイタンシノイド毒素部位としての使用に好適なメイタンシン化合物が当技術分野において周知されており、周知の方法にしたがって天然の供給源から単離でき、遺伝子操作技術を使用して作製できる(Yuら(2002)PNAS 99:7968-7973を参照)、または、メイタンシノールおよびメイタンシノール類似体を周知の方法にしたがって合成により調製できる。メイタンシノイドは、チューブリン重合の阻害によって作用する有糸分裂阻害剤(mitototic inhibitors)である。メイタンシンは、東アフリカ産の灌木であるMaytenus serrataから最初に単離された(米国特許第3,896,111号)。続いて、さらに、特定の微生物が、メイタンシノールおよびC-3メイタンシノールエステルなどのメイタンシノイドを産生することが発見された(米国特許第4,151,042号)。合成メイタンシノールならびにその誘導体および類似体が、たとえば、米国特許第4,137,230号、第4,248,870号、第4,256,746号、第4,260,608号、第4,265,814号、第4,294,757号、第4,307,016号、第4,308,268号、第4,308,269号、第4,309,428号、第4,313,946号、第4,315,929号、第4,317,821号、第4,322,348号、第4,331,598号、第4,361,650号、第4,364,866号、第4,424,219号、第4,450,254号、第4,362,663号、および第4,371,533中に開示され、これらの各々を引用により本明細書に援用する。メイタンシノイドを含有する結合体、その作製方法、およびその治療的使用が、たとえば、米国特許第5,208,020号、第5,416,064号、第6,441,163号、および欧州特許第EP0425235 B1号中に開示され、その開示内容を引用により本明細書に明白に援用する。

【0256】

さらなる毒素を、CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分と共に使用できる。毒素の例は、シュードモナス外毒素(PE)、リシン(ricin)、アブリン、ジフテリア毒素およびそのサブユニット、リボトキシン(ribotoxin)、リボヌクレアーゼ、サポリン、およびカリケアマイシン、ならびにボツリヌストキシ

10

20

30

40

50

ンA～Fを含む。こうした毒素は当技術分野において周知されており、その多くを商業的供給元（たとえば、Sigma Chemical Company、St. Louis、MO）から容易に入手できる。意図される毒素は、こうした毒素のバリエーションをも含む（たとえば、米国特許第5,079,163号および第4,689,401号を参照）。

【0257】

サポリンは、*Saponaria officinalis*に由来する毒素であり、リボソーム複合体の60S部分の不活性化によってタンパク質合成を妨げる（Stirpeら、Bio/Technology、10:405-412、1992）。しかしながら、この毒素は、細胞内に特異的に浸入するための機構を有さず、そのため、細胞内に効率よく入るには、内在している細胞表面タンパク質を認識する抗体または抗原結合断片に結合する必要がある。

10

【0258】

ジフテリア毒素は、*Corynebacterium diphtheriae*から単離される。典型的には、免疫毒素中において使用するためのジフテリア毒素は、突然変異により、非特異的毒性が低減または除去されている。CRM107として知られる突然変異体は、十分な酵素活性を有するが非特異的毒性が著しく低減されたものであり、1970年代から周知され（Laird and Groman, J. Virol. 19:220, 1976）、ヒト臨床試験において使用されている。米国特許第5,792,458号および米国特許第5,208,021号を参照。

【0259】

リシンは、*Ricinus communis*（トウゴマ（Castor bean））から得られるレクチンRCA60である。リシンの例は、米国特許第5,079,163号および米国特許第4,689,401号を参照。*Ricinus communis*凝集素（RCA）には2つの形態があり、これらの分子量がそれぞれ約65kDおよび約120kDであることからRCA60およびRCA120と称される（Nicholson & Blaustein, J. Biochim. Biophys. Acta 266:543, 1972）。A鎖はタンパク質合成の不活性化と細胞の死滅とを担う。B鎖は、細胞表面ガラクトース残基にリシンを結合させて、サイトゾル中へのA鎖の輸送を促進する（Olsnesら、Nature 249:627-631, 1974および米国特許第3,060,165号）。

20

【0260】

リボヌクレアーゼもまた、標的分子に結合させることによって免疫毒素として使用されている（Suzukiら、Nat. Biotech. 17:265-70, 1999を参照）。 α -サルシン（sarcin）およびレストリクトシン（restrictocin）などの例示的なリボトキシンが、たとえば、Rathoreら、Gene 190:31-5, 1997、およびGoyal and Batra, Biochem. 345 Pt 2:247-54, 2000中に記載されている。カリケアマイシンは、*Micromonospora echinospora*から最初に単離されたものであり、DNA二本鎖の切断を引き起こしてアポトーシスを導くエンジン抗腫瘍抗生物質ファミリーのメンバーである（たとえば、Leeら、J. Antibiot. 42:1070-87, 1989を参照）。この薬物は、臨床試験において、免疫毒素の毒性部位である（たとえば、Gillespieら、Ann. Oncol. 11:735-41, 2000を参照）。

30

【0261】

アブリンは、*Abrus precatorius*から得られる毒性レクチンを含む。その毒性成分であるアブリンa、b、c、およびdは、分子量が約63～67kDであり、2つのポリペプチド鎖AおよびBがジスルフィド結合したもので構成される。A鎖はタンパク質合成を阻害し、B鎖（アブリン-b）はD-ガラクトース残基に結合する（Funatsuら、Agr. Biol. Chem. 52:1095, 1988；および、Olsnes, Methods Enzymol. 50:330-335, 1978を参照）。

40

50

）。

【0262】

本明細書中に開示される抗原の1つ以上に対して特異的な、CAR、CARを発現するT細胞、モノクローナル抗体、その抗原結合断片は、検出可能なマーカー、たとえば、ELISA、分光光度法、フローサイトメトリー、顕微鏡法、または画像診断技術（コンピュータ断層撮影（CT）、コンピュータ体軸断層撮影（CAT）スキャン、磁気共鳴画像法（MRI）、核磁気共鳴画像法（NMRI）、磁気共鳴断層撮影（MTR）、超音波診断、光ファイバー検査、および腹腔鏡下検査など）によって検出できる検出可能なマーカーとも結合してよい。検出可能なマーカーの具体例は、フルオロフォア、化学発光剤、酵素による結合、放射性アイソタイプ、および重金属または化合物（たとえば、MRIによる検出を目的とした超常磁性酸化鉄ナノ結晶）を含むが、これらに限定されない。たとえば、有用である検出可能なマーカーは、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホンクロリド（5-dimethylamine-1-naphthalenesulfonyl chloride）、フィコエリトリン、およびランタニド発光体などを含む蛍光性化合物を含む。ルシフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質（GFP）、黄色蛍光タンパク質（YFP）などの生物発光マーカーも有用である。CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分はまた、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、およびグルコースオキシダーゼなどの、検出にとって有用な酵素と結合していてもよい。CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分が、検出可能な酵素と結合している場合、当該酵素に使用されると識別可能な反応生成物を生成するようなさらなる試薬を添加することによって検出できる。たとえば、剤である西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加によって着色反応生成物が得られ、これを目視によって検出できる。CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分はまた、ビオチンと結合していてもよく、アビジンまたはストレプトアビジンの結合を間接的に測定することによって検出されてもよい。注目すべきことに、アビジン自体が酵素または蛍光標識と結合していてもよい。

【0263】

CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分は、ガドリニウムなどの常磁性剤と結合していてもよい。超常磁性酸化鉄などの常磁性剤も、標識として有用である。抗体はまた、ランタニド（ユーロピウムおよびジスプロシウムなど）およびマンガニと結合していてもよい。抗体または抗原結合断片はまた、第2のレポーター（ロインジッパーの配列対、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグなど）によって認識されるあらかじめ定められたポリペプチドエピトープで標識されていてもよい。

【0264】

CAR、CARを発現するT細胞、抗体、またはその抗原結合部分はまた、放射性標識アミノ酸と結合していてもよい。放射性標識は、診断目的および治療目的の両方に使用してよい。たとえば、放射性標識は、本明細書中に開示される抗原の1つ以上および抗原発現細胞をX線、発光スペクトル、または他の診断技術によって検出するために使用してよい。さらに、放射性標識は、治療において、対象における腫瘍を処置するための、たとえば神経芽細胞腫を処置するための、毒素として使用してよい。ポリペプチドのための標識の例は、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I などの放射性同位体または放射性ヌクレオチドを含むが、これらに限定されない。

【0265】

このような検出可能なマーカーの検出手段は、当業者に周知されている。したがって、たとえば、放射性標識は、写真フィルムまたはシンチレーションカウンタを使用して検出されてよく、蛍光性マーカーは、光検出器を使用して放射光を検出することによって検出されてよい。酵素標識は、典型的には、酵素に基質を与えて、基質に対する酵素の作用により生成した反応生成物を検出することによって検出され、比色標識は、単純に、着色し

た標識を可視化することによって検出される。

【0266】

D. ヌクレオチド、発現、ベクター、および宿主細胞

本発明の一実施形態によって、本明細書中に記載されるCAR、抗体、またはその抗原結合部分（その機能的部分および機能的バリエーションを含む）のうち任意のものをコードするヌクレオチド配列を含む核酸がさらに提供される。本発明に係る核酸は、本明細書中に記載されるリーダー配列、抗原結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および／または細胞内T細胞シグナル伝達ドメインのうち任意のものをコードするヌクレオチド配列を含んでよい。

【0267】

いくつかの実施形態において、ヌクレオチド配列は、コドンが改変されたものであってよい。いかなる理論にも拘束されないが、ヌクレオチド配列のコドン最適化によってmRNA転写物の翻訳効率が増大すると考えられる。ヌクレオチド配列のコドン最適化は、天然コドンを、同じアミノ酸をコードするが細胞内での利用がより容易なtRNAによって翻訳され得る別のコドンに置換することを伴ってよく、したがって、翻訳効率が増大し得る。ヌクレオチド配列の最適化はまた、翻訳を妨害し得る二次mRNA構造を低減し得るものであってよく、したがって、翻訳効率が増大し得る。

【0268】

本発明の一実施形態において、核酸は、本発明のCARの抗原結合ドメインをコードするコドン改変ヌクレオチド配列を含んでよい。本発明の別の一実施形態において、核酸は、本明細書中に記載されるCAR（その機能的部分および機能的バリエーションを含む）のうち任意のものをコードするコドン改変ヌクレオチド配列を含んでよい。

【0269】

本明細書中において使用される「核酸」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、および「核酸分子」を含むものであり、一般的には、一本鎖または二本鎖であってよく、合成または天然の供給源から（たとえば、単離および／または精製により）得られてよく、天然、非天然、または変化したヌクレオチドを含有してよく、天然、非天然、または変化したヌクレオチド間結合（無改変オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間にみられるホスホジエステルに代えて、ホスホロアミデート結合またはホスホロチオエート結合など）を含有してよい、DNAまたはRNAのポリマーを意味する。いくつかの実施形態において、核酸は、挿入、欠失、反転、および／または置換を全く含まない。しかしながら、本明細書中において記載されるとおり、いくつかの例においては、核酸が1つ以上の挿入、欠失、反転、および／または置換を含むことが好適であってよい。

【0270】

組換え核酸は、天然には存在しない配列を有するもの、または、配列中では離れた2つの領域を人工的に組み合わせた配列を有するものであってよい。この人工的な組み合わせは、化学合成によって、または、より一般的には、離れた核酸領域を、たとえば、上述されるSambrookらの文献中に記載されるものなどの、遺伝子操作技術により、人工的に操作して、実現されることが多い。核酸は、当技術分野において周知される手順を使用した化学合成および／または酵素による結合反応に基づいて構築されてもよい。たとえば、上述されるSambrookらの文献および上述されるAusubelらの文献を参照。たとえば、核酸は、天然のヌクレオチドを使用して、または、当該分子の生物学的安定性を増大させるように、もしくはハイブリダイゼーションにより形成される二本鎖の物理的安定性を増大させるように設計された、多様な様式で改変されたヌクレオチド（たとえば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチド）を使用して、化学的に合成されてもよい。核酸生成に使用できる改変ヌクレオチドの例は、5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-（カルボキシヒドロキシメチル）ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ベータ-D-ガラクトシルキューオシン（beta-D-galactosylqueosine）、イノシン、N6-イソペンテニルアデ

ニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2,2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-置換アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、ベータ-D-マンノシルキューオシン (beta-D-mannosylqueosine)、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸 (v)、ワイブトキソシン (wybutoxosine)、シュードウラシル (psseudouracil)、キューオシン (queosine)、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、および2,6-ジアミノプリンを含むが、これらに限定されない。代替的には、本発明に係る核酸の1つ以上を、Integrated DNA Technologies (Coralville, IA, 米国)などの企業から購入してもよい。

【0271】

核酸は、上述されるCARのうち任意のものまたはその機能的部分もしくは機能的バリエーションをコードする任意の単離または精製されたヌクレオチド配列を含んでよい。代替的には、ヌクレオチド配列は、上述される配列のうち任意のものに縮重 (degenerate) されたヌクレオチド配列または縮重 (degenerate) 配列の組み合わせを含んでよい。

【0272】

一実施形態は、本明細書中に記載される核酸のうち任意のもののヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、または本明細書中に記載される核酸のうち任意のもののヌクレオチド配列にストリンジェントな条件下においてハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む、単離または精製された核酸をさらに提供する。

【0273】

ストリンジェントな条件下においてハイブリダイズするヌクレオチド配列は、高度にストリンジェントな条件下においてハイブリダイズしてよい。「高度にストリンジェントな条件」とは、ヌクレオチド配列が標的配列 (本明細書中に記載される核酸のうち任意のもののヌクレオチド配列) に特異的にハイブリダイズし、その量が、非特異的なハイブリダイゼーションよりも検出可能な程度に多いことを意味する。高度にストリンジェントな条件は、厳密に相補的な配列を有するポリヌクレオチドまたはミスマッチが2~3個散在するのみであるものを、当該ヌクレオチド配列に一致する小領域 (たとえば、3~10塩基) を偶然にも2~3個有する無作為の配列から区別できるような条件を含む。こうした小さな相補性領域は、塩基14~17個またはそれ以上の長さの全長相補性領域よりも容易に融解され、高度にストリンジェントなハイブリダイゼーションによってこれらを容易に区別できる。比較的高度にストリンジェントな条件は、たとえば、約0.02~0.1M NaClまたはこれと同等で温度約50~70℃などのような低塩および/または高温条件を含み得る。このように高度にストリンジェントな条件は、ヌクレオチド配列と鋳型または標的鎖との間のミスマッチを、万一許容するとしても、その程度は非常に低く、本発明のCARのうち任意のものの発現を検出するために特に好適である。一般的に、ホルムアミドの添加量を増加することによって条件をさらにストリンジェントにすることができると理解される。

【0274】

また、本明細書中に記載される核酸のうち任意のものとの同一性が少なくとも約70%またはそれ以上、たとえば、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、または約99%であるヌクレオチド配列を含む核酸も提供される。

【0275】

一実施形態において、核酸は、組換え発現ベクター中に組み込まれてよい。この点において、一実施形態は、上述される核酸のうち任意のものを含む組換え発現ベクターを提供

10

20

30

40

50

する。本明細書中に記載される目的において、用語「組換え発現ベクター」は、遺伝子改変オリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドコンストラクトを意味し、このコンストラクトがmRNA、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含み、かつ、当該ベクターと宿主細胞とを、宿主細胞中において当該mRNA、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドが発現するのに十分な条件下において接触させた場合に、宿主細胞が当該mRNA、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドを発現できるものである。こうしたベクターは、総じて、天然には存在しない。

【0276】

しかしながら、こうしたベクターの一部は天然に存在し得る。この組換え発現ベクターは、DNAおよびRNAを含むがこれらに限定されない、任意の種類のヌクレオチドを含んでよく、これらは、一本鎖または二本鎖であってよく、合成または一部は天然の供給源から得られてよく、天然、非天然、または変化したヌクレオチドを含有してよい。組換え発現ベクターは、天然または非天然のヌクレオチド間結合、または両方の型の結合を含んでよい。好ましくは、非天然または変化したヌクレオチドまたはヌクレオチド間結合は、当該ベクターの転写または複製を妨げない。

【0277】

一実施形態において、組換え発現ベクターは、任意の好適な組換え発現ベクターであってよく、任意の好適な宿主細胞を形質転換またはトランスフェクションするために使用できる。好適なベクターは、繁殖および増殖を目的として、または発現を目的として、またはその両方の目的で設計されたもの（プラスミドおよびウイルスなど）を含む。ベクターは、pUC系（Fermentas Life Sciences、Glen Burnie、MD）、pBluescript系（Stratagene、La Jolla、CA）、pET系（Novagen、Madison、WI）、pGEX系（Pharmacia Biotech、Uppsala、スウェーデン）、およびpEX系（Clontech、Palo Alto、CA）からなる群より選択されてよい。

【0278】

λuT10、λuT11、λZapII（Stratagene）、EMBL4、およびλNM1149などのバクテリオファージベクターも使用できる。植物発現ベクターの例は、pBIOL、pBI101.2、pBHOL.3、pBI121、およびpBIN19（Clontech）を含む。動物発現ベクターの例は、pEUK-CL、pMAM、およびpMAMneo（Clontech）を含む。組換え発現ベクターは、ウイルスベクター、たとえば、レトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターであってよい。レンチウイルスベクターは、特に、Miloneら、Mol. Ther. 17（8）：1453-1464（2009）中において提供されるような自己不活型レンチウイルスベクターを含む、レンチウイルスゲノムの少なくとも一部分に由来するベクターである。診療所において使用され得るレンチウイルスベクターの他の例は、たとえば、Oxford BioMedica plcからのLENTIVECTOR（登録商標）遺伝子導入技術、LentigenなどからのLENTIMAX（商標）ベクター系を含むが、これらに限定されない。臨床用の型ではないレンチウイルスベクターも入手可能であり、当業者に周知され得る。

【0279】

複数のトランスフェクション技術が当技術分野において一般的に周知されている（たとえば、Grahamら、Virology, 52：456-467（1973）；Sambrookら、上述；Davisら、Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier（1986）；および、Chuら、Gene, 13：97（1981）を参照）。

【0280】

トランスフェクション方法は、リン酸カルシウム共沈（たとえば、上述されるGrahamらを参照）、培養細胞中への直接マイクロインジェクション（たとえば、Capecci, Cell, 22：479-488（1980）を参照）、エレクトロポレーショ

10

20

30

40

50

ン（たとえば、Shigekawaら、BioTechniques、6：742－751（1988）を参照）、リボソーム介在性遺伝子導入（たとえば、Manninoら、BioTechniques、6：682－690（1988）を参照）、脂質介在性形質導入（たとえば、Feignerら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、84：7413－7417（1987）を参照）、および高速微粒子銃を使用した核酸導入（たとえば、Kleinら、Nature、327：70－73（1987）を参照）を含む。

【0281】

一実施形態において、組換え発現ベクターは、たとえば上述されるSambrookら、および上述されるAusubelら中に記載される、標準的な組換えDNA技術を使用して調製されてよい。発現ベクターの環状または線状コンストラクトは、原核または真核生物の宿主細胞において機能する複製機構を含有するように調製されてよい。複製機構は、たとえば、ColEI、2μプラスミド、λ、SV40、およびウシパピローマウイルスなどに由来するものであってよい。

【0282】

組換え発現ベクターは、ベクター導入先の宿主細胞（たとえば、細菌、真菌、植物、または動物）の種類に対して適宜特異的であり、かつ、ベクターがDNAまたはRNAのいずれに基づくかが考慮された、転写コドンおよび翻訳開始コドンおよび停止コドンなどの調節配列を含んでよい。組換え発現ベクターは、クローニングを促進するための制限部位を含んでよい。

【0283】

組換え発現ベクターは、形質転換またはトランスフェクションされた宿主細胞の選択を可能とする1つ以上のマーカー遺伝子を含んでよい。マーカー遺伝子は、たとえば抗生物質、重金属などに対する耐性といった、殺生物剤耐性、および、原栄養性とするための栄養要求性宿主における補完などを含む。本発明の発現ベクターに好適なマーカー遺伝子は、たとえば、ネオマイシン／G418耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子、ヒスチジノール耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、およびアンピシリン耐性遺伝子を含む。

【0284】

組換え発現ベクターは、CAR（その機能的部分および機能的バリエーションを含む）をコードするヌクレオチド配列、またはCARをコードするヌクレオチド配列に相補的なもしくはこれにハイブリダイズするヌクレオチド配列に作動可能に結合した、天然または非天然のプロモーターを含んでよい。プロモーターの選択（たとえば、強い、弱い、誘導性、組織特異的、および発生特異的（developmental-specific）など）は、当業者の通常の知識の範囲内である。同様にヌクレオチド配列とプロモーターとの結合も、当業者の通常の知識の範囲内である。プロモーターは、非ウイルスプロモーターまたはウイルスプロモーター、たとえば、サイトメガロウイルス（CMV）プロモーター、SV40プロモーター、RSVプロモーター、またはマウス幹細胞ウイルスの末端反復配列中にみられるプロモーターであってよい。

【0285】

組換え発現ベクターは、一過性の発現、または安定的な発現、またはその両方のうちのいずれかを目的として設計されてよい。また、組換え発現ベクターは、恒常的発現または誘導性発現を目的として作製されてよい。

【0286】

さらに、組換え発現ベクターは、自殺遺伝子を含むように作製されてよい。本明細書中において使用される場合、用語「自殺遺伝子」は、自殺遺伝子を発現している細胞の死を引き起こす遺伝子を指す。自殺遺伝子は、当該遺伝子が発現している細胞に、たとえば薬物などの剤に対する感受性を与えて、当該細胞がこの剤に接触または曝露されると当該細胞の死を引き起こす遺伝子であってよい。自殺遺伝子は当技術分野において周知されており（たとえば、Suicide Gene Therapy: Methods and R

10

20

30

40

50

reviews, Springer, Caroline J. (Cancer Research UK Centre for Cancer Therapeutics at the Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, UK), Humana Press, 2004を参照)、かつ、たとえば、単純ヘルペスウイルス(HSV)チミジンキナーゼ(TK)遺伝子、シトシンデアミナーゼ(cytosine deaminase)、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、およびニトロレダクターゼを含む。

【0287】

一実施形態は、本明細書中に記載される組換え発現ベクターのうち任意のものを含む宿主細胞をさらに提供する。本明細書中において使用される場合、用語「宿主細胞」は、本発明に係る組換え発現ベクターを含有し得る任意の型の細胞を指す。宿主細胞は、たとえば植物、動物、真菌、もしくは藻類などの、真核細胞であってもよいし、または、たとえば細菌もしくは原生動物などの、原核細胞であってもよい。宿主細胞は、培養細胞、または、初代細胞(すなわち、たとえばヒトなどの、生物から直接単離されたもの)であってよい。宿主細胞は、接着細胞、または、懸濁細胞(すなわち、懸濁液中で増殖する細胞)であってよい。好適な宿主細胞は当技術分野において周知されており、たとえば、DH5a大腸菌細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞、サルVERO細胞、COS細胞、およびHEK293細胞などを含む。組換え発現ベクターの増幅または複製が目的である場合には、宿主細胞は、原核細胞、たとえばDH5a細胞であってよい。組換えCARの作製が目的である場合には、宿主細胞は哺乳動物細胞であってよい。宿主細胞はヒト細胞であってよい。宿主細胞は任意の細胞型であってよく、任意の種類の組織に由来してよく、任意の発生段階であってよいが、宿主細胞は、末梢血リンパ球(PBL)または末梢血単核細胞(PBMC)であってよい。宿主細胞はT細胞であってよい。

【0288】

本明細書中に記載される目的において、T細胞は任意のT細胞であってよく、培養T細胞(たとえば初代T細胞など)、または培養T細胞株(たとえば、Jurkat、SupT1など)からのT細胞、または哺乳動物から得られるT細胞であってよい。哺乳動物から得られる場合、T細胞は、血液、骨髄、リンパ節、胸腺、または他の組織もしくは体液を含むがこれらに限定されない、非常に多様な供給源から得られてよい。T細胞は、強化または精製されていてもよい。T細胞はヒトT細胞であってよい。T細胞は、ヒトから単離されたT細胞であってよい。T細胞は、任意の型のT細胞であってよく、任意の発生段階であってよく、CD4+/CD8+二重陽性T細胞、CD4+ヘルパーT細胞、たとえばTh1およびTh2細胞、CD8+ T細胞(たとえば、細胞毒性T細胞)、腫瘍浸潤性細胞、メモリーT細胞、メモリー幹細胞、すなわちTscm、およびナイーブ型T細胞などを含むがこれらに限定されない。T細胞は、CD8+ T細胞またはCD4+ T細胞であってよい。

【0289】

一実施形態において、本明細書中に記載されるCARは、T細胞ではない好適な細胞において使用できる。このような細胞は、たとえば、NK細胞および多能性幹細胞から発生させたT様細胞などの、免疫エフェクター機能を有するものである。

【0290】

また、一実施形態は、本明細書中に記載される少なくとも1つの宿主細胞を含む細胞の集団も提供する。この細胞の集団は、記載される組換え発現ベクターのうち任意のものを含む宿主細胞に加えて、少なくとも1種の他の細胞、たとえば、組換え発現ベクターのうち任意のものを含まない宿主細胞(たとえば、T細胞)、またはT細胞以外の細胞、たとえば、B細胞、マクロファージ、好中球、赤血球、肝細胞、内皮細胞、上皮細胞、筋肉細胞、脳細胞などを含む、不均質な集団であってよい。代替的には、細胞の集団は、組換え発現ベクターを含む宿主細胞を主に含む(たとえば、本質的にこれからなる)、実質的に均質な集団であってよい。また、集団は、当該集団の全細胞が組換え発現ベクターを含む単一の宿主細胞のクローンであり、したがって当該集団の全細胞がこの組換え発現ベクタ

ーを含むような、クローン細胞集団であってもよい。本発明の一実施形態において、細胞の集団は、本明細書中に記載される組換え発現ベクターを含む宿主細胞を含むクローン集団である。

【0291】

CAR（その機能的部分およびバリエーションを含む）、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞（その集団を含む）、および抗体（その抗原結合部分を含む）は、単離および／または精製されてよい。たとえば、精製された（または単離された）宿主細胞の調製物中では、宿主細胞の純度が、体内の自然環境中における純度よりも高い。このような宿主細胞は、たとえば標準的な精製技術によって作製されてよい。いくつかの実施形態において、宿主細胞の調製物は、この調製物の総細胞含有量の少なくとも約50%、たとえば少なくとも約70%を宿主細胞が占めるように精製される。たとえば、この純度は、少なくとも約50%であってよい、または約60%、約70%、もしくは約80%を超えてよい、または約100%であってよい。

10

【0292】

E. 処置方法

本明細書中に開示されるCARを哺乳動物における疾患の処置または予防方法において使用してよいことが意図される。この点において、一実施形態は、哺乳動物におけるがんの処置または予防方法を提供し、これは、哺乳動物に、CAR、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗体および／またはその抗原結合部分、および／または医薬組成物を、哺乳動物におけるがんの処置または予防に有効な量にて投与する工程を含む。

20

【0293】

一実施形態は、さらに、本明細書中に開示されるCARを投与するより前に、哺乳動物をリンパ球枯渇させる工程を含む。リンパ球枯渇の例は、骨髄非破壊的リンパ球枯渇化学療法、骨髄破壊的リンパ球枯渇化学療法、全身照射などを含むが、これらに限定されなくてよい。

【0294】

宿主細胞または細胞の集団が投与される本方法の目的において、この細胞は、当該哺乳動物の同種異系由来の細胞、またはこれの自己由来細胞であってよい。好ましくは、この細胞は、当該哺乳動物の自己由来細胞であってよい。本明細書中において使用される場合、同種異系由来とは、任意の材料であって、当該材料を導入した個体と同種であるが別個体である動物に由来することを意味する。2つ以上の個体について、1つ以上の座における遺伝子が同一でない場合に、これらの個体は互いに同種異系由来であるといわれる。いくつかの態様において、同種の個体からの同種異系由来の材料は、抗原性的に相互に作用できるほど十分に遺伝学的に異なっていてよい。本明細書中において使用される場合、「自己由来」は、任意の材料であって、この材料を後に再び導入することになる個体と同じ個体に由来する材料を意味する。

30

【0295】

本明細書中において言及される哺乳動物は、任意の哺乳動物であってよい。本明細書中において使用される場合、用語「哺乳動物」は、マウスおよびハムスターなどの齧歯目哺乳動物およびウサギなどのウサギ目（*Lagomorpha*）哺乳動物を含むがこれらに限定されない任意の哺乳動物を指す。哺乳動物は、ネコ科（ネコ）およびイヌ科（イヌ）を含む食肉目のものであってよい。哺乳動物は、ウシ亜科（ウシ）およびブタ類（ブタ）を含む偶蹄目、またはウマ科（ウマ）を含む奇蹄目（*Perissodactyla*）のものであってよい。哺乳動物は、霊長目、セボイド類（*Ceboids*）、もしくはシモイド類（*Simoids*）（サル（*monkeys*））、または類人猿類（ヒトおよびサル（*apes*））であってよい。好ましくは、哺乳動物はヒトである。

40

【0296】

上述される方法に関して、がんは、ALL、AML、胞巣型横紋筋肉腫、膀胱がん（たとえば、膀胱癌）、骨がん、脳がん（たとえば、髄芽細胞腫）、乳がん、肛門、肛門管、または肛門直腸のがん、眼のがん、肝内胆管のがん、関節のがん、頸部、胆嚢、または胸

50

膜のがん、鼻、鼻腔、または中耳のがん、口腔のがん、外陰部のがん、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性骨髄性がん（CML）、結腸がん、食道がん、子宮頸がん、線維肉腫、消化管カルチノイド腫瘍、頭頸部がん（たとえば、頭頸部扁平上皮癌）、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、腎臓がん、喉頭がん、白血病、液性腫瘍、肝臓がん、肺がん（たとえば、非小細胞肺癌および肺腺癌）、リンパ腫、中皮腫、肥満細胞腫、黒色腫、多発性骨髄腫、上咽頭がん、NHL、B-慢性リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、Burkittリンパ腫、卵巣がん、膵臓がん、腹膜、網、および腸間膜のがん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、腎がん、皮膚がん、小腸がん、軟部組織がん、固形腫瘍、滑膜肉腫、胃がん、精巣がん、甲状腺がん、ならびに尿管がんのうち任意のものを含む、任意のがんであってよい。

10

【0297】

用語「処置」および「予防」ならびにこれらの派生語は、本明細書中において使用される場合、必ずしも100%のまたは完全な処置または予防を示唆するものではない。そうではなく、むしろ、当技術分野において通常の知識を有する者が利益または治療効果の可能性を認識する処置または予防には、多様な程度のものがある。この点に関し、本方法は、哺乳動物における任意の量または任意のレベルのがん処置または予防を提供できる。

【0298】

さらに、本方法によって提供される処置または予防は、処置または予防されている疾患（たとえば、がん）の1つ以上の状態または症状の処置または予防を含んでよい。また、本明細書中に記載される目的において、「予防」は、疾患またはその症状もしくは状態の発症の遅延を包含してもよい。

20

【0299】

別の一実施形態は、哺乳動物におけるがんの存在の検出方法を提供し、これは、（a）哺乳動物からの1つ以上の細胞を含む試料をCAR、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗体、および／またはその抗原結合部分、または医薬組成物に接触させることによって、複合体を形成する工程と、（b）この複合体を検出する工程とを含み、複合体が検出された場合、哺乳動物においてがんが存在することが示唆される。

【0300】

この試料は、たとえば生検または剖検などの、任意の好適な方法によって得られてよい。生検は、個体から組織および／または細胞を除去することである。こうした除去は、除去された組織および／または細胞を実験法に供するために、個体から組織および／または細胞を採取するものであってよい。この実験法は、この個体が特定の状態もしくは疾患状態を有するか否かおよび／またはこれに罹患しているか否かを判断するための実験を含んでよい。この状態または疾患は、たとえば、がんであってよい。

30

【0301】

哺乳動物における増殖性障害、たとえばがん、の存在の検出方法の一実施形態に関して、哺乳動物の細胞を含む試料は、全細胞、その溶解物、または全細胞溶解物画分、たとえば、核もしくは細胞質画分、総タンパク質画分、または核酸画分、を含む試料であってよい。試料が全細胞を含む場合、この細胞は、哺乳動物の任意の細胞、たとえば、任意の臓器または組織の細胞（血液細胞または内皮細胞を含む）であってよい。

40

【0302】

上述される接触は、哺乳動物について、*in vitro*または*in vivo*において生じてよい。好ましくは、当該接触は*in vitro*において生じる。

【0303】

また、複合体の検出は、当技術分野において周知される複数の方法のうち任意のものによって行なってよい。たとえば、本明細書中に開示されるCAR、本明細書中に記載されるポリペプチド、タンパク質、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、または抗体、またはその抗原結合部分は、たとえば、上記に開示されるとおり、放射性同位体、フルオロフォア（たとえば、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、フィコエリトリン（PE））、酵素（たとえば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシ

50

シダーゼ)、および元素粒子(たとえば、金粒子)などの、検出可能な標識で標識されてよい。

【0304】

CARの標的細胞認識能力および抗原特異性を試験する方法は、当技術分野において周知されている。たとえば、Clayら, J. Immunol, 163:507-513 (1999)は、サイトカイン(たとえば、インターフェロン- γ 、顆粒球/単球コロニー刺激因子(GM-CSF)、腫瘍壊死因子 α (TNF- α)、またはインターロイキン2(IL-2))の放出の測定方法を教示する。それに加えて、CARの機能を、Zhaoら, J. Immunol, 174:4415-4423 (2005)中に記載されるとおり、細胞の細胞毒性の測定によって評価してよい。

10

【0305】

別の一実施形態は、哺乳動物における増殖性障害、たとえばがん、を処置または予防するための、本発明に係るCAR、核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、抗体、またはその抗原結合部分、および/または医薬組成物の使用を提供する。このがんは、本明細書中に記載されるがんのうち任意のものであってよい。

【0306】

局所および全身投与を含む任意の投与方法を、開示される治療剤に対して使用してよい。たとえば、外用的、経口、静脈内などの血管内、筋肉内、腹腔内、鼻腔内、皮内、くも膜下腔内、および皮下への投与を使用してよい。具体的な投与様式および投薬レジメンは、担当臨床医によって、当該症例の詳細(たとえば、対象、疾患、関連する疾患状態、および処置が予防的であるか否か)を考慮の上で選択されてよい。1種を超える剤または組成物が投与される場合、1種以上の投与経路が使用されてよく、たとえば、化学療法剤は経口的に投与されてよいし、抗体または抗原結合断片または結合体または組成物は静脈内に投与されてよい。投与方法は注射を含み、この注射において、CAR、CAR T細胞、結合体、抗体、抗原結合断片、または組成物は、水、生理食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、5%ヒト血清アルブミン、不揮発性油、オレイン酸エチル、またはリポソームなどの、非毒性でありかつ製薬学的に許容される担体中に提供される。いくつかの実施形態において、開示される化合物の局所投与は、たとえば、抗体または抗原結合断片を、腫瘍除去後の組織領域、または腫瘍発生傾向が疑われる領域に適用することによって使用されてよい。いくつかの実施形態において、治療的有效量の抗体または抗原結合断片を含む医薬調製物の持続的な腫瘍内(または腫瘍近傍)への放出が有益である可能性がある。他の例において、結合体は、点眼剤として、外用的に角膜に、または眼の硝子体内に適用される。

20

30

【0307】

開示される治療剤は、正確な投薬量を1回1回投与するのに好適な単位投薬形態で製剤化されてよい。それに加えて、開示される治療剤は、単回投与または複数回投与のスケジュールで投与されてよい。複数回投与のスケジュールは、最初の一連の処置では1回を超える投与(たとえば1~10回の投与)が1回1回別個に行なわれてよく、続いてその後、必要に応じて、組成物の作用を維持または増大させるために、残りの投与が時間間隔をあけて行なわれてよいというものである。処置は、化合物を1日1回または1日複数回(multi-daily doses)、2~3日間から数か月間、またはさらには数年間の期間にわたって投与することを伴ってよい。したがって、投薬レジメンは、処置する対象の具体的な要求事項にも少なくとも一部基づいて決定されてよく、投与担当医の判断に依存してよい。

40

【0308】

抗体または結合体の典型的な投薬量は、約0.01~約30mg/kg、たとえば約0.1~約10mg/kgの範囲であってよい。

【0309】

具体的な例において、対象は、結合体、抗体、組成物、CAR、CAR T細胞、またはさらなる剤のうち1種以上を含む治療用組成物を、少なくとも連続2日間および連続1

50

0日間などの複数日投与スケジュール (multiple daily dosing schedule) にて、たとえば数週間、数か月間、または数年間の期間にわたって投与される。一例において、対象は、結合体、抗体、組成物、またはさらなる剤を、少なくとも30日間の期間にわたって、たとえば少なくとも2か月間、少なくとも4か月間、少なくとも6か月間、少なくとも12か月間、少なくとも24か月間、または少なくとも36か月間の期間にわたって投与される。

【0310】

いくつかの実施形態において、開示される方法は、開示される抗体、抗原結合断片、結合体、CAR、またはCARを発現するT細胞と組み合わせて（たとえば、逐次的に、実質的に同時に、または同時に）、手術、放射線療法、および／または化学療法を、対象に提供することを含む。このような剤および処置についての方法および治療的投薬量は当業者に周知されており、熟練した臨床医によって判断されてよい。さらなる剤についての調製物および投与スケジュールは、製造元の説明書にしたがって、または熟練した医師の経験に基づく判断にしたがって使用されてよい。また、このような化学療法の調製物および投与スケジュールは、Chemotherapy Service, (1992) Ed., M. C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, Md 中に記載される。

10

【0311】

いくつかの実施形態において、併用療法は、さらなるがん阻害剤の治療的有効量を対象に投与することを含んでよい。併用療法と共に使用できるさらなる治療剤の例は、微小管結合剤、DNAインターカレーターまたはクロスリンカー、DNA合成阻害剤、DNAおよびRNA転写阻害剤、抗体、酵素、酵素阻害剤、遺伝子制御剤、ならびに血管新生阻害剤を含むが、これらに限定されない。これらの剤（治療的有効量にて投与される）および処置は、単独で、または組み合わせて使用されてよい。たとえば、任意の好適な抗がんまたは抗血管新生剤が、本明細書中に開示されるCAR、CAR-T細胞、抗体、抗原結合断片、または結合体との組み合わせて投与されてよい。このような剤についての方法および治療的投薬量は当業者に周知されており、熟練した臨床医によって決定され得る。

20

【0312】

さらなる化学療法剤は、ナイトロジェンマスタード（たとえば、クロラムブチル、クロルメチン、シクロホスファミド、イホスファミド、およびメルファラン）、ニトロソウレア（たとえば、カルムスチン、ホテムスチン、ロムスチン、およびストレプトゾシン）、白金化合物（たとえば、カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン、およびBBR3464）、ブスルファン、ダカルバジン、メクロレタミン、プロカルバジン、テモゾロミド、チオテパ、およびウラムスチンなどのアルキル化剤；葉酸（たとえば、メトトレキサート、ペメトレキセド、およびラルチトレキセド）、プリン（たとえば、クラドリビン、クロファラビン、フルダラビン、メルカプトプリン、およびチオグアニン）、ピリミジン（たとえば、カペシタビン）、シタラビン、フルオロウラシル、およびゲムシタビンなどの代謝拮抗剤；ポドフィルム（たとえば、エトポシドおよびテニポシド）、タキサン（たとえば、ドセタキセルおよびパクリタキセル）、ビンカ（たとえば、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、およびビノレルビン）などの植物アルカロイド；アントラサイクリンファミリーのメンバー（たとえば、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロン、およびバルルビシン）、ブレオマイシン、リファンピシン、ヒドロキシ尿素、およびマイトマイシンなどの細胞毒性／抗腫瘍性抗生物質；トポテカンおよびイリノテカンなどのトポイソメラーゼ阻害剤；アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブ、リツキシマブ、パニツムマブ、ペルツズマブ、およびトラスツズマブなどのモノクローナル抗体；アミノレブリン酸、アミノレブリン酸メチル、ボルフィマーナトリウム、およびベルテポルフィンなどの光増感剤；ならびに、アリトレチノイン、アルトレタミン、アムサクリン、アナグレリド、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アキシチニブ、ベキサロテン、ベバシズマブ、ボルテゾミブ、セレコキシブ、デニロイキンジフチトクス、エルロチニブ、エストラムスチン、ゲフィチニブ、ヒ

30

40

50

ドロキシカルバミド、イマチニブ、ラパチニブ、パゾパニブ、ペントスタチン、マソプロコール、ミトタン、ペガスパルガーゼ、タモキシフェン、ソラフェニブ、スニチニブ、ベムラフェニブ（vemurafenib）、バンデタニブ、およびトレチノインなどの他の剤を含むが、これらに限定されない。このような剤の選択および治療的投薬量は当業者に周知されており、熟練した臨床医によって決定され得る。

【0313】

併用療法は、相乗作用を生じ得るものであり、かつ、相乗的であることが立証され得る、すなわち、複数の活性成分と一緒に使用した際に達成される作用が、同じ化合物を別個に使用した際に得られる作用を合わせたものより大きい。相乗効果は、複数の活性成分が、（１）一緒に製剤化されて、これらを合わせた単位投薬用調製物として同時に投与もしくは送達された場合、（２）別個の調製物として、交互にもしくは平行して送達された場合、または（３）何らかの他のレジメンが使用された場合に生じ得る。交互に送達された場合には、たとえば別個のシリンジで別々に注射されることによって、当該化合物が逐次的に投与または送達された際に、相乗効果が生じ得る。一般的に、交互の場合には、各活性成分の有効投薬量が逐次的に、すなわち連続的に投与され、一方、併用療法では、２種以上の活性成分の有効投薬量が一緒に投与される。

【0314】

一実施形態において、本明細書中に開示される抗原の１つ以上に特異的に結合する抗体もしくは抗原結合断片またはその結合体の有効量が、腫瘍を有する対象に、抗がん処置後に投与される。十分な時間が経過して、投与された抗体または抗原結合断片または結合体が、それぞれのがん細胞上に発現した抗原と免疫複合体を形成した後、この免疫複合体が検出される。免疫複合体が存在すること（または存在しないこと）が、上記処置の有効性を示す。たとえば、上記処置よりも前に得たコントロールと比較して免疫複合体が増加していれば、上記処置が有効でないことが示され、上記処置よりも前に得たコントロールと比較して免疫複合体が減少していれば、上記処置が有効であることが示される。

【0315】

F. バイオ医薬組成物

本明細書中に開示される１つ以上の抗原に特異的に結合する、開示されるCAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、抗原結合断片、結合体、CAR、またはCARを発現するT細胞のうち１種以上を、担体（製薬学的に許容される担体など）中に含む、バイオ医薬組成物または生物組成物（以下、「組成物」）が、本明細書中において、遺伝子療法、免疫療法、および／または細胞療法における使用を目的として提供される。この組成物は、対象への投与のために単位投薬形態にて調製されてよい。投与の量およびタイミングは、所望される転帰を達成するために、処置担当臨床医によって判断される。この組成物は、全身（静脈内など）または局所（腫瘍内など）への投与を目的として配合されてよい。一例において、開示されるCAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、抗原結合断片、結合体は、静脈内投与などの非経口投与を目的として配合される。本明細書中に開示されるCAR、またはCARを発現するT細胞、結合体、抗体、または抗原結合断片を含む組成物は、たとえば、腫瘍（たとえば、神経芽細胞腫であるが、これに限定されない）の処置および検出に有用である。いくつかの例において、この組成物は、癌の処置または検出に有用である。本明細書中に開示されるCAR、またはCARを発現するT細胞、結合体、抗体、または抗原結合断片を含む組成物は、たとえば病理学的血管新生の検出にも有用である。

【0316】

この投与用組成物は、CAR、またはCARを発現するT細胞、結合体、抗体、または抗原結合断片を、水性担体などの製薬学的に許容される担体中に溶解した、溶液を含んでよい。たとえば緩衝生理食塩水などの、多様な水性担体を使用されてよい。こうした溶液は、滅菌されており、一般的に、望ましくない物質を含まない。この組成物は、従来から周知される滅菌技術によって滅菌されていてよい。この組成物は、生理的条件下に近づけるために、必要に応じて、たとえば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩

化カルシウム、および乳酸ナトリウムなどの、pH調整および緩衝剤、毒性調整剤、および補助剤といった製薬学的に許容される補助的な物質を含有してよい。当該調製物におけるCAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、または抗原結合断片、または結合体の濃度は、広範囲で変動してよく、主に流体の体積、粘度、および体重などに基づいて、選択された特定の投与様式および対象の要求事項に応じて選択されてよい。遺伝子療法、免疫療法、および／または細胞療法において使用するためのこのような投薬形態の実際の調製方法は、周知されている、または当業者には明らかであろう。

【0317】

静脈内投与用の典型的な組成物は、対象1人につき1日当たり約0.01～約30mg/kgの、抗体または抗原結合断片または結合体（または、対応する投与量のCAR、またはCARを発現するT細胞、抗体もしくは抗原結合断片を含む結合体）を含む。投与用組成物の実際の調製方法は、当業者に周知または明白であってよく、Remington's Pharmaceutical Science, 第19版, Mack Publishing Company, Easton, PA (1995)などの出版物中に、より詳細に記載される。

【0318】

CAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、抗原結合断片、または結合体は、凍結乾燥形態で提供されてよく、滅菌水で戻して投与されてよいが、周知の濃度の滅菌溶液中に溶解した形態でも提供される。CAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、または抗原結合断片、または結合体の溶液は、次いで、0.9%塩化ナトリウム(USP)を入れた注入バッグに充填され、場合によっては、0.5～15mg/kg体重の投薬量で投与される。抗体または抗原結合断片および結合体の薬物の投与にあたっては、当技術分野において相当量の経験を見いだすことができ、たとえば、抗体薬が、1997年のリツキサン（登録商標）の承認以来、米国市場に出回っている。CAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、その抗原結合断片および結合体は、静脈内プッシュ(push)またはボラスではなく、低速の注入によって投与されてよい。一例において、より高負荷の投与量が投与され、続いて、これより低い程度にて維持投与量が投与される。たとえば、抗体または抗原結合断片が初期負荷投与量4mg/kg（または、抗体もしくは抗原結合断片を含む結合体の、これに対応する投与量）が約90分間にわたって注入され、この初期投与量が良好に許容されれば、続いて、週1回の維持投与量2mg/kgが、一回につき30分間、4～8週間にわたって注入されてよい。

【0319】

制御放出非経口調製物は、移植片、油性注射、または粒子系として調製されてよい。タンパク質送達系の広範囲の全体像は、Banga, A. J., Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems, Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, PA, (1995)を参照。粒子系は、微小球体、微粒子、マイクロカプセル、ナノカプセル、ナノ球体、およびナノ粒子を含む。マイクロカプセルは、細胞毒または薬物などの治療用タンパク質を中心核として含有する。微小球体中、粒子の全体に治療薬が分散している。約1μm未満の粒子、微小球体、およびマイクロカプセルは、一般的に、それぞれ、ナノ粒子、ナノ球体、およびナノカプセルと称される。毛細血管は直径約5μmであるため、ナノ粒子のみが静脈内に投与される。微粒子は、典型的には直径約100μmであり、皮下または筋肉内に投与される。たとえば、Kreuter, J., Colloidal Drug Delivery Systems, J. Kreuter編, Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 219-342 (1994); および, Tice & Tabibi, Treatise on Controlled Drug Delivery, A. Kydonieus編, Marcel Dekker, Inc. New York, NY, pp. 315-339, (1992)を参照。

【0320】

ポリマーを、本明細書中に開示されるCAR、またはCARを発現するT細胞、抗体、または抗原結合断片、または結合体の組成物のイオン制御 (ion-controlled) 放出に使用してよい。制御薬物送達において使用するための多様な分解性および非分解性ポリマートリックスが当技術分野において周知されている (Langer, Accounts Chem. Res. 26:537-542, 1993)。たとえば、ブロックコポリマーであるポロキサマー (poloxamer) 407は、低温では粘性を有する可動性の液体として存在するが、体温においては半固体のゲルを形成する。これは、組換えインターロイキン-2およびウレアーゼの調製物および持続送達にとって有効なビヒクルであることが示されている (Johnstonら, Pharm. Res. 9:425-434, 1992; および、Pecら, J. Parent. Sci. Tech. 44(2):58-65, 1990)。代替的には、ヒドロキシアパタイトが、タンパク質の制御放出用のマイクロ担体として使用されている (Ijntemaら, Int. J. Pharm. 112:215-224, 1994)。さらに別の一態様において、リボソームが、脂質カプセル化薬物の制御放出および薬物標的のために使用される (Betageriら, Liposome Drug Delivery Systems, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA (1993))。これら以外にも、治療用タンパク質の制御送達のための非常に多くの系が周知されている (米国特許第5,055,303号、米国特許第5,188,837号、米国特許第4,235,871号、米国特許第4,501,728号、米国特許第4,837,028号、米国特許第4,957,735号、米国特許第5,019,369号、米国特許第5,055,303号、米国特許第5,514,670号、米国特許第5,413,797号、米国特許第5,268,164号、米国特許第5,004,697号、米国特許第4,902,505号、米国特許第5,506,206号、米国特許第5,271,961号、米国特許第5,254,342号、および米国特許第5,534,496号)。

【0321】

G. キット

一態様において、本明細書中に開示されるCARを使用するキットがさらに提供される。たとえば、対象における腫瘍を処置するための、または本明細書中に開示されるCARの1種以上を発現するCAR T細胞を作製するためのキットである。こうしたキットは、典型的には、本明細書中に開示される抗体、抗原結合断片、結合体、核酸分子、CAR、またはCARを発現するT細胞を含んでよい。開示される抗体、抗原結合断片、結合体、核酸分子、CAR、またはCARを発現するT細胞のうち1種を超えるものが、キット中に含まれてよい。

【0322】

キットは、容器と、容器に付けられたまたは容器に付随するラベルまたは添付文書とを含んでよい。好適な容器は、たとえば、ボトル、バイアル、シリンジなどを含む。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの多様な材料から形成されていてよい。容器には、典型的には、開示される抗体、抗原結合断片、結合体、核酸分子、CAR、またはCARを発現するT細胞のうち1種以上を含む組成物が入っている。いくつかの実施形態において、容器は、滅菌アクセス口を有してよい (たとえば、容器は、皮下注射針で穿孔可能な栓を有する静脈内投与用液剤バッグまたはバイアルであってよい)。ラベルまたは添付文書は、組成物を特定の状態の処置に使用するというを示すものである。

【0323】

ラベルまたは添付文書は、典型的には、たとえば、腫瘍の処置もしくは予防方法、またはCAR T細胞の作製方法における、開示される抗体、抗原結合断片、結合体、核酸分子、CAR、またはCARを発現するT細胞の使用についての説明をさらに含んでよい。添付文書は、典型的には、治療用製品の市販パッケージ中に慣習的に入っている説明書を含んでおり、この説明書は、当該治療用製品の使用に関連する適応、用法、投薬量、投与、禁忌、および／または警告についての情報を含む。説明書の内容は、電子形式 (フロッピーディスクまたはコンパクトディスクなど) または視覚形式 (ビデオファイルなど) で

記述されていてよい。キットは、さらに、キット設計目的である特定の用途を推進するためのさらなる構成要素を含んでよい。したがって、たとえば、キットには、さらに、標識検出手段（たとえば、酵素標識のための酵素基質、蛍光標識検出のためのフィルターセット、または、二次抗体などの適切な二次標識など）が入っていてよい。キットには、さらに、特定の方法の実施において慣例的に使用されるバッファーおよび他の試薬が入っていてよい。このようなキットおよび適切な内容物は、当業者に周知されている。

【0324】

実施例

本発明が、以下の実施例によってさらに例証されるが、これらの実施例は、本発明の範囲を限定すると解釈されるべきではない。逆に、様々な他の実施形態、改変、および等価物に頼らなければならない、こうした他の実施形態、改変、および等価物は、本発明の精神および／または付属の請求項の範囲から逸脱することなく、本明細書の記載を読んだ後、当業者の念頭に浮かび得るということが明瞭に理解される。

【実施例1】

【0325】

ファージディスプレイおよび酵母ディスプレイさせた完全ヒトScFvライブラリからのCD22特異的抗体の単離

材料および方法：

a) ヒトScFvおよびCD22特異的抗体の作製

健康なドナー50人の末梢血B細胞から構築されたナイーブヒトScFv（免疫グロブリンの組換え一本鎖可変断片）ファージディスプレイライブラリ（およそその多様性として、ユニークな特異性が 10^{10} ）（Z. Y. ZhuおよびD. S. Dimitrov、データは未発表）を使用して、組換えヒトCD19タンパク質のためのScFvを選択した（Miltenyi Biotec、未発表）。ファージディスプレイさせた 10^{12} 個のScFvの増幅ライブラリを、 $5\mu\text{g}$ 、 $3\mu\text{g}$ 、および $1\mu\text{g}$ にて被覆したCD22と共に、体積 $5\times 100\mu\text{l}$ （96ウェルプレートの5つのウェル中に等しく分配）にて、1回目、2回目、および3回目のバイオパニングの間、各回につき2時間ずつ、室温でインキュベートした。各回のインキュベーションの後、1回目の後には5回、以降の回の後には10回、0.05% Tween 20（PBST）含有リン酸緩衝生理食塩水でウェルを洗浄して、非特異的に結合したファージを除去し、結合したファージは 37°C において1時間かけてTG1コンピテントセルと混合し、感染した細胞から当該ファージを増幅して次の回のバイオパニングにおいて使用した。3回目のバイオパニングの実施後、感染したTG1細胞から380個のクローンを無作為に選び、その1つ1つを、自動式のBioRobotics BioPickコロニーピッキングシステム（Genomic Solutions、Ann Arbor、MI）を使用して、96ウェルプレート中の $100\mu\text{g}/\text{ml}$ カルベニシリンおよび0.2%グルコースを含有する2YT培地 $150\mu\text{l}$ 中に接種した。この細菌培養物の600nmでの光学濃度（OD600）が0.5に達した後、感染多重度（MOI）が10のヘルパーファージM13K07および $50\mu\text{g}/\text{ml}$ （最終濃度）のカナマイシンを培地に添加し、プレートを 30°C においてさらに一晚、250rpmの振とう器中にてインキュベートした。ファージ上清を3%脱脂乳（PBS中）と体積比4：1にて混合して、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）に使用し、CD22結合親和性の高いScFvまたはVHを提示するファージのクローンを特定した。96ウェルプレートの各ウェルに50ngずつ被覆した組換えヒトCD22と共に、上清を室温で2時間インキュベートし、PBSTで5回洗浄した（ 4°C において一晚インキュベートした後、3%脱脂乳（PBS中）でブロッキングし、0.05% Tween 20を含有するPBSで3回洗浄した）。CD22結合ファージを、西洋ワサビペルオキシダーゼ標識ヤギ抗M13抗体を使用して検出した。この抗体と共にインキュベートした後、ウェルを洗浄することによって、非特異的に結合した抗体を除去し、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン（TMB）基質を添加し、溶液の吸光度を450nmにおいて測定した（A450）。A450が1.0を超えたCD22結合クローンを選択して、さらな

10

20

30

40

50

る特徴づけに供した。

【0326】

b) 選択した可溶性 S c F v の発現および精製

選択したクローンの V H および V L の DNA 配列を決定し、クローンによってコードされる、固有の配列を有する S c F v を、以下に記載される通りに発現させ、精製した。当該クローンから抽出したプラスミドを使用して、H B 2 1 5 1 細胞を形質転換した。新たに形質転換させた細胞の入ったプレートから単一コロニーを選び、これを、100 μg / ml のアンピシリンおよび 0.2 % グルコースを含有する 2 Y T 培地 200 ml 中に接種して、250 rpm にて振とうしながら 37 °C においてインキュベートした。この培養物の 600 nm における OD が 0.90 に達したときに、イソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシドを最終濃度 0.5 mM となるように添加して、培養物を 30 °C においてさらに一晩インキュベートした。8,000 × g において 20 分間遠心分離して細菌ペレットを採取し、これを、0.5 ml U ポリミキシン B (Sigma-Aldrich、St. Louis、MO) を含有する P B S バッファー中に再懸濁した。50 rpm にて回転させながら室温において 30 分間インキュベートした後、再懸濁したペレットを 25,000 × g で 4 °C において 25 分間遠心分離し、上清を使用して、N i - N T A 樹脂を用いて、業者のプロトコール (Q i a g e n) のとおりに、S c F v を精製した。

10

【0327】

c) E L I S A 結合アッセイ

E L I S A 分析のために、P B S 中に 2 μg / ml にて希釈した組換えヒト C D 2 2 50 μl を、4 °C において一晩かけて 96 ウェルプレートに被覆した。H i s タグおよび F l a g タグを有する精製 S c F v を段階希釈して、標的タンパク質で被覆したウェル中に添加した。洗浄後、1 : 3000 にて希釈した H R P 標識抗 F l a g 抗体を、1 時間かけて室温において添加した。洗浄後、3, 3, 5, 5' -テトラメチルベンジジン (T M B) 基質を添加し、室温において 10 分間インキュベートした後、1 N H₂ S O₄ を添加して反応を停止させ、450 nm での O. D. を読み取って、S c F v の相対的な C D 2 2 結合能力を定量した。

20

【0328】

d) s c F v ライブラリの酵母ディスプレイ

ファージディスプレイに用いたものと同じ S c F v 出発材料を、酵母 S c F v ディスプレイシステムにも組み込んだ。ファージに基づく s c F v 分析を補うために、ヒト s c F v ライブラリを発現する酵母ライブラリについてもスクリーニングを行なった。C H O K 1 細胞の細胞表面上に発現した組換え C D 2 2 - F c および C D 1 9 の両方に結合する s c F v を発現する酵母を濃縮するために、C D 2 2 でトランスフェクションした C H O K 1 細胞の細胞パニングを行なった。細胞表面に対する 1 回目のパニングのために、パニング実施の 2 日前に、C H O K 1 - C D 2 2 細胞を 6 ウェルプレート中に播種して、F 1 2 K 培地中において増殖させて 50 % コンフルエントとした。次いで、酵母細胞 5 × 10⁷ 個を P B S A バッファーで 2 回洗浄して、3 ml の F 1 2 K 培地中に再懸濁し、次いで C H O K 1 - C D 2 2 細胞中に穏やかに滴下した。氷上で穏やかに 2 時間揺らした後、C H O K 1 - C D 2 2 細胞を氷冷 P B S A で 3 回洗浄して、C H O K 1 - C D 2 2 に結合していない酵母細胞を除去し、次いで 0.05 % トリプシン-EDTA (G i b c o) を使用して、C H O K 1 - C D 2 2 細胞と、結合している酵母細胞とを、プレートから解離させた。次いで、酵母および C H O K 1 細胞の両方を含有する細胞混合物を、10 ml の S D C A A 培地中に接種し、30 °C において一晩増幅させた後、S G C A A 培地中で 30 °C にて 16 時間かけて誘発を行なった。2 回目の細胞パニングのために、上述されるものと類似するプロトコールを、よりストリンジェントな洗浄条件を用いて実施した。このパニング方法によって、16 P、24 P、25 P、11 S、および 12 S バインダが生成した。バインダ配列を、一連の i n v i t r o C A R T 機能アッセイにおいて、下記の実施例 2 中に記載される C A R T コンストラクト中に組み込んだ。C A R T 様式におけるファージディスプレイからのかかるバインダの特徴づけによって、16 P バインダのみが

30

40

50

*in vitro*において特異的な腫瘍溶解活性を有すること、この活性はCARポジティブコントロールよりも低いことが明らかとなった。さらに、16Pに基づくCAR T細胞を、*in vivo*異種移植片モデルにおいて試験したところ、その抗腫瘍機能は非常に弱かった（下記実施例2）。総合すると、これらの結果から、かかるバインダセットから作製したCARの生物学的特徴は未だ最適ではなかったため、抗CD22 ScFvバインダの親和性の成熟が必要であることが示された。

【0329】

16Pの親和性を増大させるために、酵母にディスプレイされた突然変異ScFvのライブラリを、エラープローンPCRを使用して作製して、ScFv遺伝子配列中に無作為の点突然変異を作製した。エレクトロポレーション後、得られた突然変異体ライブラリを、次いで、SDCAA培地中で30℃において一晚、16時間かけて増殖させ、その後、SGCAA培地に切り換えて、30℃においてさらに16時間増殖させた。次いで、CD22-Fcを捕獲抗原として使用したMACS（免疫磁気（immunomagnetic）カラム、Miltenyi Biotec）によって、突然変異体ライブラリを選別し、ライブラリのサイズを小さくして、CD22-Fcに結合できた突然変異体の集団を増やした。次いで、当該プールを抗c-Myc-Alexa 488およびCD19-Fc／抗Hu-Fcを用いて二重染色し、結合親和性およびc-Myc発現レベルが最も高いバインダを選択することによって、最も強いバインダを選択した。次いで、このプロセスをさらに2回繰り返すと、蛍光タグをつけた抗原を有する酵母粒子のフローサイトメトリーにおいて、突然変異体プールの平均結合親和性が開始コンストラクトよりも高くなった。標識CD22の量を減らしながら酵母プールのフローサイトメトリーを行なって、結合親和性（Binding affinities）を評価した。このプロセスの結果、16PについてのEC50（ScFvを提示する酵母に標識CD19の50％が結合する有効濃度）が0.5 μg/mlから、親和性成熟バインダ（16P1、16P2、16P3、16P3v2、16P6、16P8、16P10、16P13、16P15、16P16、16P17、16P20、16P20v2）について親和性0.01 μg/ml未満に増加した。

【0330】

結果：

CD22構造が固有の難題を有するために、ファージディスプレイの候補からは、高い生物学的活性および特異性を有する十分に機能的なCARコンストラクトは得られなかった。したがって、生理活性と高い特異性を有するバインダのためのScFvを、酵母ディスプレイによって生成させた。酵母に提示されたScFvのフローサイトメトリー解析に基づいて、組換えヒトCD22に対して特異的な13個のScFvクローンを特定し、それぞれ、ヒト抗CD22 ScFvバインダ16P（LTG2202、ファウンダークローン、EC50 0.5 μg/ml）、および親和性成熟バインダ（EC50 0.01 μg/ml未満）16P1、16P2、16P3、16P3v2、16P6、16P8、16P10、16P13、16P15、16P17、16P20、16P20v2として分類した。LTG2203、LTG2205、LTG2206、LTG2207、LTG2208、LTG2209、LTG2210、LTG2216、LTG2217、LTG2218、LTG2219、およびLTG2220 ヒト抗CD22バインダを発現するCARの作製が、下記の実施例2中に概説される。

【実施例2】

【0331】

抗CD22完全ヒト結合配列を発現するCAR。

ホモ・サピエンスCD22（SIGLEC-2、Leu14）は、B細胞白血病およびリンパ腫に発現する細胞表面糖タンパク質であり、よく研究されている。少なくとも2種の抗CD22抗体薬（イノツズマブ オゾガマイシン）または免疫毒素結合体（モキセツモマブ パストクス）について、臨床試験が実施された（NCT02981628、NCT00659425）。このアプローチはある程度成功し、現在も、たとえば他の化学

療法剤との組み合わせとして、研究が続けられている (Muller F, Stookey S, Cunningham T, Pastan I, 2017, Paclitaxel synergizes with exposure time adjusted CD22-targeted immunotoxins against B-cell malignancies, Oncotarget 8:30644-30655)。しかしながら、CD19 CARを用いたT細胞に基づく療法の現時点での進歩を考慮すると、CD22発現悪性腫瘍を標的とするための最良のアプローチは、細胞に基づく免疫療法であると考えられる。m971に基づく抗CD22 CARを特徴とする療法は、アメリカ国立がん研究所において現在臨床試験中であるが (NCT02315612、P. I.: Terry Fry、M. D.)、結果はまだ発表されていない。ここで提示されるCARコンストラクトは、ヒト配列由来の新しいCD22結合部位を作製および実施するための革新的かつ新規のアプローチであり、個々のコンストラクトの細胞毒性およびサイトカイン産生能力の範囲を考慮すれば、in vivoにおいて大幅に異なる活性プロファイルがみられる可能性がある。

【0332】

本明細書中に記載される新規の抗CD22 CAR-Tコンストラクトは、初代ヒトT細胞における細胞表面発現と、CD22陽性腫瘍細胞に対する特異性および潜在細胞毒性およびサイトカイン機能とが、高レベルである。実施例1のように、ファージディスプレイによって最初に特定したScFv候補に由来するCD22結合配列を使用して、CD22 CARを設計し、特徴づけのために、選択された構造ドメインおよびシグナル伝達ドメインを含有するレンチウイルス発現ベクター中に、EF1aプロモーターの制御下においてクローニングし、in vitroで、形質導入効率、死滅機能、およびサイトカイン産生について、モデル細胞株および初代ヒトT細胞の両方において試験した。表1は、使用される学術用語の概要を示す。CARコンストラクトLTG1538、抗CD19 CARは、ポジティブコントロールおよび比較として使用する。m971 CAR LTG2200は、抗CD22 CARポジティブコントロールとして使用する。

【0333】

10

20

30

40

50

【表 1】

表 1 完全ヒトCD22 CARの設計において使用されたコンストラクトLTG番号および対応するScFvバインダの名称

CAR コンストラクト LTG#	ScFv バインダ名称	CAR コンストラクトの説明
2200	m971	CAR22 ポジティブコントロール
2202	16P	新しいコンストラクト
2246	24P	新しいコンストラクト
2247	25P	新しいコンストラクト
2248	11S	新しいコンストラクト
2249	12S	新しいコンストラクト
2203	16P3	新しいコンストラクト
2204	16P16	新しいコンストラクト
2205	16P20	新しいコンストラクト
2206	16P2	新しいコンストラクト
2207	16P6	新しいコンストラクト
2208	16P10	新しいコンストラクト
2209	16P17	新しいコンストラクト
2210	16P20v2	新しいコンストラクト
2216	16P1	新しいコンストラクト
2217	16P3v2	新しいコンストラクト
2218	16P8	新しいコンストラクト
2219	16P13	新しいコンストラクト
2220	16P15	新しいコンストラクト
1538	FMC63	CD19 特異的 CAR
UTD	N/A	非形質導入T細胞

【0334】

材料および方法：

(a) 細胞株

Burkittリンパ腫細胞株Raji、および慢性骨髄性白血病株K562は、American Tissue Culture Collection (ATCC、Manassas、VA) から購入した。REHおよびNALM-6白血病株は、DSMZ (Leibniz Institute DSMZ、Braunschweig、ドイツ) から購入した。10%熱失活ウシ胎児血清 (FBS、Hyclone、Logan、UT) および2mM L-Glutamax (Thermo Fisher Scientific、Grand Island、NY) を添加したRPMI-1640培地中において、細胞を培養した。ヒト胚性腎株293Tは、ATCC (Gibco/Thermo Fisher Scientific、Grand Island、NY) から購入した。ルシフェラーゼ発現細胞株の単一細胞クローンを、ホタルルシフェラーゼをコードするレンチウイルスベクターを野生型腫瘍株に安定的に形質導入することによって発生させ (Lentigen Technology, Inc.、Gaithersburg、MD)、続いて、ルシフェラーゼ陽性クローンをクローニングおよび選択した。Oklahoma Blood Institute (OBI、Oklahoma City、OK) において、健康な志願者から、当該ドナーの同意を書面で得て、全血またはバフィーコートを採用した。バフィーコートから、CD4マイクロビーズおよびCD8マイクロビーズ (Miltenyi Biotec、Bergisch Gladbach、ドイツ) の1:1混合物を使用した陽性選択によって、製造元のプロトコールのとおり、CD4陽性およびCD8陽性のヒトT細胞を精製した。

【0335】

(b) キメラ抗原受容体 (CAR) 発現ベクターの作製

CAR抗原結合ドメインScFvの配列は、ヒト抗CD22 ScFvまたは重鎖可変断片に由来した。フレーム中のバインダ配列を、CD8a結合および膜貫通ドメインに結合し (aa 123~191、参照配列番号NP_001759.3)、次いで、4-1BB (CD137、aa 214~255、UniProt配列番号Q07011) シグナル伝達ドメインおよびCD3ゼータシグナル伝達ドメイン (CD247、aa 52~163、参照配列番号: NP_000725.1) に結合させることによって、CAR Tコンストラクトを作製した。CARコンストラクト配列を、第3世代レンチウイルスプラスミドバックボーン中にクローニングした (Lentigen Technology Inc.、Gaithersburg、MD)。HEK293T細胞を一過性トランスフェクションすることによって、レンチウイルスベクター (LV) を含有する上清を得て、LV含有上清を遠心分離することによってLVをペレット化して、-80℃において保存した。

【0336】

(c) 初代T細胞の精製および形質導入

CD4⁺およびCD8⁺細胞の免疫磁気ビーズ選択 (Miltenyi Biotec、Bergisch-Gladbach、ドイツ) を製造元のプロトコールのとおりを使用して、健康な志願者からのヒト初代T細胞を全血またはパフィーコートから精製した。200IU/mlのIL-2を添加したTexMACS培地中において、T細胞を密度0.3~2×10⁶個/mlにて培養し、CD3/CD28 MACS (登録商標) GMP T細胞TransAct試薬 (Miltenyi Biotec) を用いて活性化して、2日目に、CARコンストラクトをコードするレンチウイルスベクターを用いて、10μg/mlプロタミン硫酸塩 (Sigma-Aldrich、St. Louis、MO) の存在下において一晩かけて形質導入し、3日目に培地を交換した。200IU/mlのIL-2を添加したTexMACS培地中において培養物を繁殖させてから、8~13日目に回収した。

【0337】

(d) 免疫性エフェクターアッセイ (CTLおよびサイトカイン)

細胞介在性の細胞毒性を調べるために (CTLアッセイ)、ホタルルシフェラーゼを安定的に形質導入した標的細胞5,000個を、多様なエフェクター標的比にてCAR T細胞と組み合わせて、一晩インキュベートした。Steady Glo試薬 (Promega、Madison WI) を各ウェルに添加し、得られた発光を、1秒あたりのカウントとして定量した (試料CPS)。標的のみのウェル (最大CPS) と、標的のみのウェルに1% Tween-20を添加したもの (最小CPS) とを使用して、アッセイ範囲を決定した。特異的溶解の割合を、(1 - (試料CPS - 最小CPS) / (最大CPS - 最小CPS)) として計算した。E:T比10:1での共培養から上清を除去し、ELISAで (eBioscience、San Diego、CA)、IFNγ、TNFα、およびIL-2の濃度を分析した。

【0338】

(e) フローサイトメトリー分析

細胞の染色にあたり、CAR Tを形質導入した細胞50万個を培養物から回収して、0.5%ウシ血清アルブミン (Miltenyi Biotec) を添加した冷AutoMACSバッファー中において2回洗浄し、CD22-Fcペプチド、続いて抗Fc-PE結合体で染色することによって、CAR表面発現を検出した (Jackson ImmunoResearch、West Grove、PA)。業者のプロトコールにしたがって、指定された箇所でVioBlueフルオロフォア (Miltenyi Biotec) で標識した抗CD4抗体を使用した。形質導入していない細胞をネガティブコントロールとして使用した。すべての研究において、7AAD染色によって死細胞を除外した (BD Biosciences、San Jose、CA)。細胞を2回洗浄し、200μ

ルの染色バッファー中に再懸濁した後、フローサイトメトリーによって定量分析した。M A C S Q u a n t (登録商標) 10 A n a l y z e r (M i l t e n y i B i o t e c) を使用してフローサイトメトリー分析を行ない、F l o w J o ソフトウェア (A s h l a n d、O R) を使用してデータプロットを生成した。

【0339】

(f) CAR機能の *in vivo* 分析

すべての動物実験は、M I B i o r e s e a r c h A n i m a l C a r e a n d U s e o m m i t t e e (A n n A r b o r、M I) によって承認された。マウス適合 R a j i - l u c 細胞50万個を、N S G (N O D . C g - P r k d c ^{s c i d} I l 2 r g t m 1 W j l / S z J) マウスの尾静脈に注射した。R a j i - l u c 注射後の6日目に、150mg/kgのルシフェリンを腹腔内注射し、かつXenogen IVIS-200機器 (C a l i p e r B i o s c i e n c e s、現P e r k i n E l m e r、S h e l t o n、C o n n e c t i c u t) を使用して画像法を行なうことによって、腫瘍生着を測定した。L i v i n g I m a g e (バージョン4.1) ソフトウェア (P e r k i n E l m e r) を使用して画像を分析し、各マウスの生物発光シグナル流動を、平均輝度 (光子/秒/cm²/ステラジアン) として表した。7日目に、C A R T 細胞を尾静脈注射によってマウスに投与した。C A R T 注射後の指定日に画像診断を行なって、C A R T 細胞による腫瘍の増殖および根絶の反応速度を確立した。

【0340】

結果：

新規の抗C D 2 2 完全ヒトS c F v 結合配列を評価するために、コンストラクト2246～2249を組み込んでセット1のCARコンストラクトを設計した (ファージディスプレイライブラリ由来のS c F v 配列、表1、S c F v 1 (16P)、S c F v 2 (24P)、S c F v 3 (25P)、S c F v 4 (11S)、S c F v 5 (12S)、およびC A R コンストラクト2202 (m971陽性コントロール)、腫瘍抗原結合ドメインとして)。各CARの設計にあたり、腫瘍標的ドメインの後ろに、ヒトC D 8 タンパク質由来のリンカーおよび膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、ならびにC D 3 ゼータシグナル伝達ドメインを配置した (下記表2)。

【0341】

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2 : S c F v 配列を組み込んだ C D 2 2 を標的とする C A R コンストラクトのリスト

	C A R コンストラクト L T G #	組成
セット 1	2202	ScFv1-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2246	ScFv2-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2247	ScFv3-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2248	ScFv4-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2249	ScFv5-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
セット 2	2203	ScFv6-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2204	ScFv7-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2205	ScFv8-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2206	ScFv9-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2207	ScFv10-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2208	ScFv11-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2209	ScFv12-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2210	ScFv13-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2216	ScFv14-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2217	ScFv15-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2218	ScFv16-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2219	ScFv17-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2220	ScFv18-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
コントロール	1538	FMC63-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ
	2200	m971-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ

【0342】

抗 C D 2 2 キメラ抗原受容体を形質導入した T 細胞は、表面発現および細胞溶解活性を示す。

【0343】

a) 抗 C D 2 2 C A R の表面発現

新規の抗 C D 2 2 C A R を評価するために、材料および方法中に記載されるとおりに、ヒト E F 1 a プロモーターの制御下において C A R コンストラクトをコードするレンチウイルスベクター (L V) を作製した。健康なドナーに由来するヒト初代 T 細胞に、C A R をコードするレンチウイルスベクターを形質導入した。同じドナーからの非形質導入細胞 (U T D または偽と称する) または同じドナーからの G F P 形質導入細胞を、ネガティブコントロールとして使用した。データは、異なるドナーからの少なくとも 3 回のアッセイから得られた結果を表わす。

【0344】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3. CD22 を標的とする CAR の *in vitro* における機能の概要

	CAR LTG#	組成	バインダ ScFv	CTL	サイトカ イン反応	リガンドとは 独立した CTL (K562, K562- 19)	CAR 単独 IL-2	CAR 単独 TNF α	CAR 単独 IFN γ
セット 1	2202	ScFv1-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P	中	中	低	低	低	低
	2246	ScFv2-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	24P	低	NA	NA	NA	NA	NA
	2247	ScFv3-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	25P	無	NA	NA	NA	NA	NA
	2248	ScFv4-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	11s	無	NA	NA	NA	NA	NA
	2249	ScFv5-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	12s	無	NA	NA	NA	NA	NA
セット 2	2203	ScFv6-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P3	高	高	高	低	中	高
	2204	ScFv7-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P16	高	高	高	低	中	高
	2205	ScFv8-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P20	高	高	高	低	中	高
	2206	ScFv9-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P2	高	高	高	低	中	高
	2207	ScFv10-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P6	高	高	高	低	中	高
	2208	ScFv11-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P10	高	高	高	低	中	高
	2209	ScFv12-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P17	高	高	高	低	低	低
	2210	ScFv13-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P20v1	高	高	高	低	中	高
	2216	ScFv14-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P1	高	高	高	低	中	高
	2217	ScFv15-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P3v2	高	高	高	低	中	高
	2218	ScFv16-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P8	高	高	高	低	低	低
	2219	ScFv17-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P13	高	高	高	低	中	中
	2220	ScFv18-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	16P15	高	高	高	低	中	高
コントロ ール	2200	m971-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	m971	高	高	低	低	低	低
	1538	FMC63-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ	FMC63	高	高	低	低	低	低

Med : 中、CTL : 細胞毒性 T リンパ球反応 (標的細胞溶解)、NA : データ入手不可能、無 : 溶解せず

【0345】

材料および方法中に記載されるとおりに、培養 0 日目に、TransAct T 細胞試薬 (Miltenyi Biotec, Inc.) を使用し、IL-2 の存在下において、T 細胞を活性化した。培養 8 ~ 10 日目に、ビオチンに結合させたタンパク質 L を用い、続いてストレプトアビジン-PE 試薬で染色することによって、形質導入 T 細胞の表面における抗 CD22 CAR の発現を検出した。代替的には、CD22-Fc ペプチド (R&D Systems, Inc.) を用い、続いて抗 Fc-PE 抗体で染色することによって、CAR T を染色し、フローサイトメトリーによってデータを取得した (図 3)。ラムダ軽鎖からなる (そのため、タンパク質 L に反応しない) CAR2247 を除くすべての CAR コンストラクトが、タンパク質 L 染色を用いた検出により、50 ~ 70 % を超える表面 CAR 発現を示した。これとは対照的に、抗 CD22 ScFv 抗原結合部位に特異的に結合する CD22-Fc ペプチドで染色した際には、CAR16P のみが CA

R発現（上限30%）を示した（CAR 24Pは図示せず）。かかるデータから、CARコンストラクトの大部分がT細胞表面上に発現したが、CD22タンパク質結合を維持するScFv構成を呈したのはCAR16Pコンストラクトのみであったことが示される。
【0346】

b) 抗CD22 CARの細胞溶解アッセイおよびサイトカインアッセイ

発生させたCAR T細胞の細胞溶解機能を証明するために、ルシフェラーゼに基づく死滅アッセイを行ない、材料および方法中に記載されるとおりに、一晩かけた細胞死滅アッセイにおいて、CAR-TをCD22陽性Raji-luc細胞、CD22陽性Reh-luc細胞、CD22陰性K562-luc細胞とE:T比20:1、10:1、5:1、または2.5:1にて組み合わせることによって行なった（図4）。抗CD19 CARコンストラクト1538は、RajiおよびReh（CD19⁺）とは反応するがK562（CD19⁻）株とは反応しないことが以前に示されているが、これをポジティブコントロールとして使用した。CAR2202（バインダ16P）のみが、投与量依存的かつCD22特異的な腫瘍死滅を示し、CAR 2247（25P）、2248（11S）、および2249（12S）は腫瘍特異的な活性を有さなかった。

【0347】

新規のヒトコンストラクトCAR2202（16P）が*in vitro*において機能的であると判断した後、材料および方法中に記載されるとおりに、確立されたRaji Burkittリンパ腫のNSGマウス異種移植片モデルにおいて*in vivo*で、その抗腫瘍活性を試験した。0日目に尾静脈から腫瘍を移植し、6日目に進行度診断を行ない、7日目にマウスを静注によりCAR T細胞 4×10^6 個で処置した。処置群は、CAR16P（2202）、CAR19（1538）ポジティブコントロール、CAR22（2200 m971）ポジティブコントロール、およびUTD（非形質導入T細胞）ネガティブコントロールであった。図5中に示すように、ポジティブコントロールCAR T調製物であるCAR22（2200 m971）およびCAR19（1538）は、研究18日目以降、腫瘍増殖を有効に阻害したが、試験コンストラクトCAR 2202（16P）は腫瘍の進行を穏やかにしか減速せず、研究32日目以降は、その作用とネガティブコントロール処置（UTD）とを区別できなくなった。したがって、ScFvバインダ2202（16P）の*in vitro*および*in vivo*における抗腫瘍活性は弱く、改善されたScFvバインダ配列を組み込んださらなるCARコンストラクトを作製する必要があった。

【0348】

材料および方法中に記載されるとおりに、ScFvバインダ配列を組み込んでCD22に対する親和性が改善されたセット2のCARコンストラクト（LTG番号2203～2220）（下記表1、セット2）を構築した。親和性が改善されたScFvバインダの誘導は、実施例1中に記載される。ヒトEF1aプロモーターの制御下においてセット2のCARコンストラクトをコードするLVを作製し、上述されるように*in vitro*において発現および機能を試験した。簡潔には、材料および方法中に記載されるとおりに、培養0日目に、IL-2の存在下において、TransAct T細胞試薬（CD3抗原およびCD28抗原の活性的な会合、Miltenyi Biotec, Inc.）を使用して、T細胞を活性化した。培養8～10日目に、CAR T細胞を回収し、フローサイトメトリーによってCAR表面発現を評価した。同時インキュベーションアッセイによってCTL活性を評価し、ELISAによって炎症性サイトカインの分泌を評価した。すべてのCAR22コンストラクトの機能についての結果を比較した概要が、表3中に示される。ポジティブコントロールCARコンストラクトと、最も有利な機能的プロファイルを有する新規のCAR22候補とが、太字で示される。

【0349】

セット2のCARコンストラクト（LTG番号2203～2220）についての試験を、LVにコードされるCAR配列を独立したドナーからの細胞中に形質導入することによって、少なくとも3回の別個の実験において行なった。セット2からのCAR Tコンス

トラクトをドナー細胞中に形質導入したところ、典型的には20%~80%の範囲でCAR発現が生じ、この検出はCD22-Fc染色法によって行ない、大部分がCD4+ T細胞からなるものであった(図6、選択されたコンストラクト)。

【0350】

CAR T細胞をルシフェラーゼ発現腫瘍細胞とE:T比10:1~2.5:1の範囲で同時インキュベートして一晚アッセイすることによって、CARのCTL活性を求めた(図7)。培養期の最後に腫瘍細胞集団のうち生存部分に由来する残存ルシフェラーゼ活性を求め、材料および方法中に記載されるとおりに%溶解を計算した。新規のCD22を標的とするCAR細胞はCD22+ Rajiリンパ腫株およびReh白血病株において強い死滅活性を示したが、ネガティブコントロール群GFPおよびUTDは溶解を生じなかった(図7A)。例外はコンストラクト2202(16P)で、これは、腫瘍株を比較的中程度に死滅させた。CAR19を標的とするコントロール1538およびCD22を標的とするコントロール2200(m971)は、予期されたとおり、Raji腫瘍およびReh腫瘍を死滅させた。K562株(CD22-K562株およびCD19-K562株)は、ポジティブコントロールコンストラクト2202および1538について、バックグラウンドの死滅活性を示し、これは、E:T比10:1にてそれぞれ40%および60%の腫瘍細胞溶解であった。この活性は、CAR T細胞が分泌した炎症性サイトカインの間接的な作用または混入NK/NKTの活性によるものであると考えられる。試験CAR22コンストラクトのK56に対する死滅活性は、コントロール2200(m971)と同等か、または、これよりわずかに高かった。新規のCAR22コンストラクトの特異性をさらに詳細に示すために、本出願人は、CD22またはCD19を安定して発現するよう操作したK562細胞を使用した(図7B)。

【0351】

K562-CD19株において、ポジティブコントロールCAR19(1538)はE:T 10:1にて上限70%の溶解を示したが、コントロールCAR22 2200(m971)のバックグラウンドの死滅活性は、E:T比10:1にて上限20%と低かった。これとは対照的に、同じE:T比において試験CAR22コンストラクトの大部分が生じた%溶解は20%~60%であった。

【0352】

対比として、K562-CD22株において、CD22 CARコントロールCAR22 2200(m971)と新規のCAR22コンストラクトの大部分との特異的なCTL活性は80%であり、CAR19コントロール1538の非特異的な死滅活性は20%と低かった。したがって、K562株のCARコンストラクトに対する感受性にもかかわらず、試験したすべての新規のCD22 CARが、CD22発現標的に対して特異的な溶解活性を示した。

【0353】

次いで、CD22陽性細胞株RajiおよびREH(図8)によって誘発した際に、CAR22コンストラクトが形質導入されたCAR T細胞により分泌された炎症性サイトカインIFN-ガンマ、TNF-アルファ、およびIL-2の濃度を測定した。サイトカイン産生の基礎レベルを調べる目的で、各コンストラクトにCAR T細胞単独のコントロールを含めた。CD22+Raji細胞に曝露したT細胞は、TNF-アルファ、IFN-ガンマ、およびIL-2のレベルを強く誘発したが、大部分のCAR22コンストラクトについて、Reh腫瘍はIFNgおよびTNFaの誘発のみに影響を及ぼしたが、IL-2の誘発には影響を及ぼさなかった。あるコンストラクトサブセットに対して、T細胞単独コントロール群もサイトカインの誘発を示したことから、当該コンストラクトが特異的なリガンドの非存在下において活性化される可能性が大きくなった。これより、CARの設計およびバインダの選択は些細なことではない、というのは、可溶性のIgGまたはScFv様式において活性であり、かつCAR T様式においてT細胞表面上での発現に適用できるいくつかのバインダは、それにもかかわらず、CD22陽性腫瘍と共にインキュベートされた際の死滅効率またはサイトカイン産生効率が低いためである。たとえば

、L T G 2 2 1 7 (1 6 P 3 v 2 バインダ) および L T G 2 2 2 0 (1 6 P 1 5) の場合、このコンストラクトが腫瘍標的の非存在下においてT細胞の自己活性化を示すことによって、I L - 2 および T N F - アルファが持続的に産生された。このことは、臨床使用に悪影響を及ぼす可能性があり、したがって、L T G 2 2 1 7 および L T G 2 2 2 0 は治療的候補として不適格である。

【0354】

C A R 2 2 細胞の非特異的な活性化を回避するために、本出願人らは、特定の腫瘍の非存在下において炎症性サイトカインを分泌しないまたは分泌が最小限であるコンストラクトを特定した (L T G 2 2 0 9 (1 6 P 1 7) 、 L T G 2 2 1 8 (1 6 P 8) 、 および L T G 2 2 1 9 (1 6 P 1 3)) 。

【0355】

次に、新規の C A R 2 2 コンストラクト 2 2 1 9 および 2 2 0 9 を、N S G R a j i 異種移植片腫瘍モデルにおいて試験した。コンストラクト 2 2 0 0 (m 9 7 1) および 1 5 3 8 (F M C 6 3) をポジティブコントロールとして使用し、腫瘍単独 (T A) および非形質導入T細胞 (U T D) をネガティブコントロールとして使用した。実験の手順は、材料および方法に詳細を示すとおりに行なった。0日目に R a j i - ルシフェラーゼ発現腫瘍細胞をマウスに移植し、続いて7日目に C A R T 処置を行なった。週1回の生物発光測定を研究6日目に開始して、腫瘍の進行および C A R T 活性を調べた (図9) 。6日目以降に腫瘍増殖が衰えることなく進行したネガティブコントロール群 T A および U T D と比較して、C A R 試験コンストラクト 2 2 0 9 および 2 2 0 9 は腫瘍の進行を阻害し、21日目には腫瘍生物発光を処置開始 (6日目) 時のベースラインまで低減した。試験コンストラクト 2 2 0 9 および 2 2 0 9 の抗腫瘍作用は、ポジティブコントロール C D 2 2 C A R コンストラクト 2 2 0 0 (m 9 7 1) と等しいか、これよりも大きかった。

【0356】

要約すると、酵母スクリーニングライブラリに由来する親和性が改善された新規の完全ヒト抗 C D 2 2 C A R コンストラクト L T G 番号 2 2 0 3 ~ 2 2 2 0 (下記表2) が高い機能性を有することが示された。とりわけ、C A R コンストラクト 2 2 0 9 、 2 2 1 9 、 2 2 1 8 が、優れていた、またはポジティブコントロール L T G 2 2 2 0 (m 9 7 1) とは異なる活性プロファイル示したことから、高い治療活性を有することが予期される。

【0357】

本文中に引用された各出願および特許、ならびに各出願および特許中に引用された各文献または先行技術文献 (訴訟中の各発行済特許「出願引用文献」を含む) 、ならびに当該出願および特許のいずれかに対応するおよび／またはその優先権を主張する各 P C T 出願または特許および外国出願または特許、ならびに各出願引用文献中に引用または参照された各文献を、引用により明白に本明細書に援用し、これらは本発明の実施において使用されてよい。より一般的には、文献または先行技術文献は本文中、請求項の前の先行技術文献一覧、または本文自体のいずれかにおいて引用され、当該文献または先行技術文献の各々 (「本明細書中引用先行技術文献」) 、および各本明細書中引用先行技術文献中に引用された各文献または先行技術文献 (製造元の規格、説明書などを含む) を、引用により明白に本明細書に援用する。

【0358】

いくつかの具体的な実施形態についての上述される記載は、他者が最新の知識の適用により、一般的概念から逸脱することなく、多様な用途のために当該具体的な実施形態を容易に変更または適合させるのに十分な情報を提供するものであり、したがって、このような適合および変更は、当該開示される実施形態の等価物の意味および範囲内であると理解されるべきである。本明細書中において使用される語句または専門用語は説明目的であって限定目的でないことが理解される。図面および記載中、例示的な実施形態が開示されており、特定の用語が使用されている可能性があるが、これらは、特記しない限り、一般的かつ説明目的のみで使用されており、限定を目的とするものではないため、これによって請求項の範囲が限定されるものではない。また、当業者には、本明細書中に開示される方法

10

20

30

40

50

の特定の工程を別の順序で実施してよいこと、または工程を組み合わせでよいことが理解される。したがって、本明細書中に開示される具体的な実施形態に付属の請求項が限定されないことが意図される。当業者には、本明細書中に記載される本発明に係る実施形態の多くの等価物が認識され得る、または常套的な実験法のみを使用して把握できる。かかる等価物は、下記請求項に包含される。

【0359】

本開示に係る配列

以下に列記される核酸およびアミノ酸配列は、37 C. F. R. 1. 822で規定されるように、ヌクレオチド塩基の標準的な文字省略およびアミノ酸の3文字コードを使用し
て示される。各核酸配列について一方の鎖のみが示されるが、示された鎖に言及する場合
にはその相補鎖が含まれることが理解される。付属の配列表において：

配列番号1は、CD22特異的バインダ(s c F v 1) 16Pの核酸配列である：

CAAGTACAACCTCCAGCAAAGCGGGCCTGGTCTGGTGAAG
CCGTCACAGACGCTTTCACCTTACGTGTGCGATCTCCGGTG
ACTCCGTGAGTTCTAATAGCGCGGCTTGGAAGTGGATTAG
GCAGTCTCCATCCCGAGGATTGGAATGGCTCGGCAGGACT
TATTATAGAAGTAAGTGGTACAACGATTATGCAGTCTCTG
TGAAATCTCGCATCACCATTAACCCAGACACGTCTAAGAA
TCAGTTTCAGTCTTCAACTCAACTCTGTAACCCCCGAAGAT
ACAGCGGTCTACTACTGTGCTCAGGAGGTGCAACCCCCACG
ATGCTTTTGTATATCTGGGGGCCAGGGTACCATGGTTACGGT
GTCTTCTGGGGGAGGGGGGTCCGGTGGGGGAGGATCAGGG
GGTGGGGGCGAGCGACATACAAATGACGCAATCCCCGTCTT
CTGTTTCTGCGTCTGTCTCGGAGATAAAGTAACAATAACCTG
TCGAGCGTCAACAGGACGTTAGTGGCTGGCTTGCCTGGTAT
CAGCAAAAACCGGGGCTCGCCCCGCAATTGCTTATATTTG
GAGCGAGTACTCTTTCAGGGCGAGGTACCTAGCAGATTTTC
TGGGTCCGGCTCAGGTACGGACTTCAACCCTGACCATATCT
AGCTTTCAGCCTGAAGATTTTCGCCACCTACTATTGTCAAC
AGGCGAAGAACTTTCCATATACGTTTCGGGCAGGGTACGAA
ATTGGAGATAAAA

配列番号2は、CD22特異的バインダ(s c F v 1) 16Pのアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPHDAFDIWGQGTMT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPGAPQLLIFGASTLQGEVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAQKNFPYTFGQGT
KLEIKR

配列番号3は、CD22 CAR LTG2202(LP-s c F v 1-CD8TM-4
1BB-CD3ゼータ)の核酸配列である：

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTA
CCACACCCAGCATTCCTCCTGATCCCAACAAGTACAACCTCC
AGCAAAGCGGGCCTGGTCTGGTGAAGCCGTCACAGACGCT
TTCACCTTACGTGTGCGATCTCCGGTGACTCCGTGAGTTCT
AATAGCGCGGCTTGGAAGTGGATTAGGCAGTCTCCATCCC
GAGGATTGGAATGGCTCGGCAGGACTTATTATAGAAGTAA
GTGGTACAACGATTATGCAGTCTCTGTGAAATCTCGCATC
ACCATTAACCCAGACACGTCTAAGAATCAGTTTCAGTCTTC
AACTCAACTCTGTAACCCCCGAAGATACAGCGGTCTACTA

CTGTGCTCAGGAGGTGCAACCCACGATGCTTTTGTATATC
TGGGGGCCAGGGTACCATGGTTACGGTGTCTTCTGGGGGGAG
GGGGGTCCGGTGGGGGAGGATCAGGGGGTGGGGGGCAGCGA
CATACAAATGACGCAATCCCCGTCTTCTGTCTTCTGCGTCT
GTCGGAGATAAAGTAACAATAACCTGTGAGCGTCAACAGG
ACGTTAGTGGCTGGCTTGCCTGGTATCAGCAAAAACCGGG
GCTCGCCCCGCAATTGCTTATATTTGGAGCGAGTACTCTT
CAGGGCGAGGTACCTAGCAGATTTTCTGGGTCCGGCTCAG
GTACGGACTTCAACCCTGACCATATCTAGCTTGCAGCCTGA
AGATTTTCGCCACCTACTATTGTCAACAGGCGAAGAAGCTTT
CCATATACGTTTCGGGCAGGGGTACGAAATTGGAGATAAAAG
CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGCGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGGCCCGTGCGAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCGAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCAACGGCGGGA AAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAAG
ACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号4は、CD22 CAR LTG2202 (LP-scfv1-CD8TM-4
1BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCLELPHPAFLLI PQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVQPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKNFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

配列番号5は、scfv1 (16P) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号6は、scfv1 (16P) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号7は、scfv1 (16P) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKNFPYT

配列番号8は、scfv1 (16P) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号 9 は、s c F v 1 (16 P) HCDR 2 のアミノ酸配列である：

TY YRSKWYN

配列番号 10 は、s c F v 1 (16 P) HCDR 3 のアミノ酸配列である：

AQE VQPHDAFDI

配列番号 11 は、CD 22 特異的バインダ (s c F v 2) 24 P の核酸配列である：

CAAGTACAGCTGCAACAATCTGGCCCTGGGCTTGTGAAA
CCCTCTCAGACTTTGTCTTGACGTGCGCGATAAGTGGCG
ATTCAGTTAGTTCTAACAGCGCCGCTTGGAACCTGGATTAG
ACAGAGCCCCAGTCGGGGACTCGAATGGCTTGGCCGGACT
TATTATCGCAGTAAATGGTATAATGATTATGCTGTGAGTG
TGAAAAGTAGGATCACAAATCAACCCCGATACGAGCAAGAA
TCAATTCTCATTTGCAACTGAACAGCGTCACTCCCGAGGAT
ACAGCTGTATATTTATTGTGCAAGAGAAGGTGGGTGGTATG
GCGAGATGGATGTATGGGGGAAAGGAACCTACGGTAACCTGT
GTCCAGTGGCGGAGGCGGTTTCAGGTGGTGGAGGCTCTGGA
GGAGGAGGGTCCGAAATCGTGCTTACCCAGTCTCCGGCTA
CTCTGAGCGTTAGTCCGGGTGAAAGGGCCTCACTCTCTTG
TCGAGCTTTCACAGTCAGTCTCTTCTACTTGGCTTGGTAT
CAGCAGAAGCCAGGTCAGGCGCCCCGCTTGCTCATTTACG
ACGCAAGCACACGAGCGACAGGCATTCCAGACAGATTTTC
TGGTTCTGGTTCTGGCACGGACTTTACTCTTACTATAAAC
TCACTTGAGGCGAGGATGCTGCGACTTACTATTGTCAACC
AATCAAGCTCTCTGCCTTACACCTTTGGGCAAGGCACCAA
ACTCGAAATCAAG

10

20

配列番号 12 は、CD 22 特異的バインダ (s c F v 2) 24 P のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYN DYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREGGWYGEMDVWGKGT T V T
VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGERASLS
CRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASTRATGIPDRF
SGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLPYTFGQGT
KLEIKR

30

配列番号 13 は、CD 22 CAR LTG 2246 (LP-s c F v 2-CD 8 TM-4 1 BB-CD 3 ゼータ) の核酸配列である：

ATGCTGCTGTTGGTGACATCACTTCTGCTCTGTGAACCTC
CCCCATCCAGCCTTTCTGCTTATACCGCAAGTACAGCTGC
AACAAATCTGGCCCTGGGCTTGTGAAACCCCTCTCAGACTTT
GTCCTTGACGTGCGCGATAAGTGGCGATTTCAGTTAGTTCT
AACAGCGCCGCTTGGAACCTGGATTAGACAGAGCCCCAGTC
GGGGACTCGAATGGCTTGGCCGGACTTATTATCGCAGTAA
ATGGGTATAATGATTATGCTGTGAGTGTGAAAAGTAGGATC
ACAATCAACCCCGATACGAGCAAGAATCAATTCTCATTTGC
AACTGAACAGCGTCACTCCCGAGGATACAGCTGTATATTA
TTGTGCAAGAGAAGGTGGGTGGTATGGCGAGATGGATGTA
TGGGGGAAAGGAACCTACGGTAACCTGTGTCCAGTGGCGGAG
GCGGTTTCAGGTGGTGGAGGCTCTGGAGGAGGAGGGTCCGA
AATCGTGCTTACCCAGTCTCCGGCTACTCTGAGCGTTAGT
CCGGGTGAAAGGGCCTCACTCTCTTGTCGAGCTTCACAGT
CAGTCTCTTCTACTTGGCTTGGTATCAGCAGAAGCCAGG

40

50

TCAGGCGCCCCGCTTGCTCATTTACGACGCAAGCACACGA
GCGACAGGCATTCCAGACAGATTTTCTGGTTCTGGTTCTG
GCACGGACTTTACTCTTACTATAAACTCACTTGAGGCAGA
GGATGCTGCGACTTACTATTGTCAACCAATCAAGCTCTCTG
CCTTACACCTTTGGGCAAGGCAACCAAACTCGAAATCAAGG
TTACGGGTATCATCTGCGGCCGCAACTACCACCCCTGCCCC
TCGGCCGCGCGACTCCGGGCCCAACCATCGCAAGCCAACCC
CTCTCCTTGCGCCCCGAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTG
GAGCCGTGCATACCCGGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATAT
CTACATTTGGGCCCCGCTGGCCGGGCACTTGCGGCGTGCTC
CTGCTGTGCTGCTGGTCAACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCC
GGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCG
GCCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTG
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCG
TCAAGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCCCCGCATATCAACA
GGGCCAGAAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGG
AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCG
ACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAACCCCTCA
GGAAGGACTGTACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCG
GAAGCCTACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGA
GGGGAAAGGGTCACGACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCAC
CGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCAATATGCAAGCA
CTCCCAACCCCGG

配列番号14は、CD22 CAR LTG2246 (LP-scfv2-CD8TM-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLI PQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAREGGWYGEMDVWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
EIVLTQSPATLSVSPGERASLSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYDASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTINSLEA
EDAATYYCHQSSSLPYTFGQGTKLEIKVTVSSAAATTTTPA
PRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM
RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQ
QGQNQLYNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNP
QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS
TATKDTYDALHMQALPPR

配列番号15は、scfv2 (24P) LCDR1のアミノ酸配列である：

QSVSSY

配列番号16は、scfv2 (24P) LCDR2のアミノ酸配列である：

DAS

配列番号17は、scfv2 (24P) LCDR3のアミノ酸配列である：

HQSSSLPYT

配列番号18は、scfv2 (24P) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号19は、scfv2 (24P) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号20は、scfv2 (24P) HCDR3のアミノ酸配列である：

AREGGWYGEMDV

10

20

30

40

50

配列番号 21 は、CD 22 特異的バインダ (s c F v 3) 25 P の核酸配列である：

CAAGTACAGCTCCAACAGAGTGGACCTGGTCTCGTTAAG
CCGTCCCAAACACTGTCTTTGACGTGCGCTATTAGTGGCG
ACAGCGTATCATCCAATTCTGCTGCTTGGAACCTGGATTAG
ACAGTCACCGTCCAGAGGCTTGGAATGGCTGGGCGAGGACG
TACTACCGCTCAAAATGGTATAACGATTACGCGGTTAGTG
TCAAATCCAGGATTACCATTAACCTGACACAAGTAAGAA
TCAGTTTTTCTCTTCAGCTGAATTCCCTGACTCCTGAGGAT
ACGGCCCGTTTTACTACTGTGCCCCGAGAACACCAGAATGAGG
CGGCTTTTTGATATTTGGGGGGCAAGGAACAATGGTCACAGT
TAGCAGTGGGGGGGGGTGGCTCCGGGGGGAGGTGGTTCCGGC
GGCGGTGGTTCTCAATCCGTCTGACACAACCTCCCTCAG
CGAGCGGGACTCCCGGTCAAAGGGTGACCATCTCTTGTTC
TGGGGGGAGGTAGTAACATCGGGACAAATACTGCGTCTTG
TATCAGCAACTCCCTGGGACCGCTCCCAAGTTGTTGATAT
ATCGCAATACGCAACGACCTAGTGGGATACCTGATAGATT
CAGCGGAAGCAAAAGTGGTACGAGTGCGTCTTTGGCAATA
TCTGGCCTCCAGTCCGAGGACGAAGCGGATTACTATTGTG
CGGCCTGGGATGACTCACTGAATGGTTATGTGTTTCGGTGC
AGGTACTCAACTCACCGTACTTTGGT

10

20

配列番号 22 は、CD 22 特異的バインダ (s c F v 3) 25 P のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSLTPEDTAVYYCAREQNEAAFDIWGQGTMT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSGSVLTQPPSASGTPGQRVITIS
SGGGSNIGTNTASWYQQLPGTAPKLLIYRNTQRPSPGIPDR
FSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFG
AGTQLTLVLG

配列番号 23 は、CD 22 CAR LTG 2247 (LP-s c F v 3-CD 8 TM-41BB-CD 3 ゼータ) の核酸配列である：

30

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTA
CCACACCCAGCATTCTCCTGATCCCACAAGTACAGCTCC
AACAGAGTGGACCTGGTCTCGTTAAGCCGTCCCAAACACT
GTCTTTGACGTGCGCTATTAGTGGCGACAGCGTATCATCC
AATTCTGCTGCTTGGAACCTGGATTAGACAGTCACCGTCCA
GAGGCTTGGAATGGCTGGGCGAGGACGTAACCGCTCAAA
ATGGTATAACGATTACGCGGTTAGTGTCAAATCCAGGATT
ACCATTAACCTGACACAAGTAAGAATCAGTTTTTCTCTTC
AGCTGAATTCCCTGACTCCTGAGGATACGGCCCGTTTTACTA
CTGTGCCCGAGAACACCAGAATGAGGCGGCTTTTGTATATT
TGGGGGGCAAGGAACAATGGTCACAGTTAGCAGTGGGGGGG
GTGGCTCCGGGGGGAGGTGGTTCCGGCGGCGGTGGTTCTCA
ATCCGTCTGACACAACCTCCCTCAGCGAGCGGGACTCCC
GGTCAAAGGGTGACCATCTCTTGTCTGTTCTGGGGGAGGTAGTA
ACATCGGGACAAATACTGCGTCTTGGTATCAGCAACTCCC
TGGGACCGCTCCCAAGTTGTTGATATATCGCAATACGCAA
CGACCTAGTGGGATACCTGATAGATTACGCGGAAGCAAAA
GTGGTACGAGTGCGTCTTTGGCAATATCTGGCCTCCAGTC
CGAGGACGAAGCGGATTACTATTGTGCGGCCTGGGATGAC
TCACTGAATGGTTATGTGTTTCGGTGACAGGTACTCAACTCA

40

50

CCGTACTTGGTGCGGCCGCAACTACCAACCCTGCCCTCG
GCCGCCGACTCCGGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCTC
TCCTTGCGCCCCGAAGCTTGCCGCCCGGCCGGGTGGAG
CCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTA
CATTTGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTG
CTGTCGCTGGTCATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCGGA
AGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCC
CGTGACAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGAGA
TTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCA
AGTTCTCACGGTCCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGG
CCAGAATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGA
GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACC
CGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAACCCTCAGGA
AGGACTGTACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAA
GCCTACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGG
GAAAGGGTCAACGACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGC
CACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCAATATGCAAGCACTC
CCACCCCGG

配列番号24は、CD22 CAR LTG2247 (LP-s c F v 3-CD8TM-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLI PQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSLTPEDTAVY
YCAREHQNEAAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSSGGGSNIGTNTASWYQQL
PGTAPKLLIYRNTQRP SGIPDRFSGSKSGTSASLAISGLQ
SEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGAGTQLTVLGAAATTTTPAP
RPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI
YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR
PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQ
GQNQLYNEELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLST
ATKDTYDALHMQALPPR

配列番号25は、s c F v 3 (25P) LCDR1のアミノ酸配列である：

GSNIGTNT

配列番号26は、s c F v 3 (25P) LCDR2のアミノ酸配列である：

RNT

配列番号27は、s c F v 3 (25P) LCDR3のアミノ酸配列である：

AAWDDSLNGYV

配列番号28は、s c F v 3 (25P) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号29は、s c F v 3 (25P) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号30は、s c F v 3 (25P) HCDR3のアミノ酸配列である：

AREHQNEAAFDI

配列番号31は、CD22 特異的バインダ (s c F v 4) 11s の核酸配列である：

CAAGTCCAGTTGCAACAGTCCGGGCCAGGTCTGGTTAAG
CCATCCCAAACCTCTGAGTTTGACGTGCGCTATTAGCGGAG
ATTCCGTGTCCAGCAATTCTGCAACCTGGAATTGGATCCG
GCAGAGTCCGAGTGGCGGTTTGGAATGGCTCGGACGCACT

TACTACAGGAGCAAATGGTACGATGATTATGCTGTTTCTG
TGCGCTCTCGAATCACCATGAATCCTGATACTTCTAAGAA
CCAATTTTCTTTGCAGTTGAACTCCGTACGCGCTGAAGAT
ACTGCGGTCTACTATTGCGCACGCGAAGGCGTAGCCGGCG
ATTTTGAATTACTGGGGGCAAGGAACATTGGTCAAGGTCTC
CTCTGGTGGAGGAGGATCAGGAGGCGGGGGTTTCAGGTGGA
GGTGGGAGCGATATTCAACTTACGCGAGTCTCCGAGCAGTC
TTTCTGCTTCCGTGGGAGACCGAGTGACGATTACTTGTAG
GGCATCTCAGTCAATAAGTTCCCTATCTTAAGTGGTATCAG
CAGAAGCCTGGAAAGGCTCCAAAACCTTCTTATTTATGCCG
CATCCTCATTGCAATCCGGGCGTGCCCTTCCCGATTTTCCGG
ATCTGGCTCAGGCACTGACTTTACCTTGACTATTAGTTCC
CTTCAACCAGAAGATTTTGCTACCTATTACTGCCAACAAAT
CATACAGTACCCCATATACATTTCGGCCAAGGCACGAAATT
GGAGATTAAA

10

配列番号32は、CD22特異的バインダ（scFv4）11sのアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATWNWI
RQSPSGGLEWLGRITYYRSKWYDDYAVSVRSRITMNPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREGVAGDFDYWGQGTLVTV
SSGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLASVGDRTITC
RASQSISSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTK
LEIKR

20

配列番号33は、CD22 CAR LTG2248（LP-scFv4-CD8TM-41BB-CD3ゼータ）の核酸配列である：

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTA
CCACACCCAGCATTCCTCCTGATCCCACAAGTCCAGTTGC
AACAGTCCGGGCGCAGGTCTGGTTAAGCCATCCCAAACCTCT
GAGTTTGTACGTGCGCTATTAGCGGAGATTCCGTGTCCAGC
AATTCTGCAACCTGGAATTGGATCCGGCAGAGTCCGAGTG
GCGGTTTGGAAATGGCTCGGACGCACTTACTACAGGAGCAA
ATGGTACGATGATTATGCTGTTTCTGTGCGCTCTCGAATC
ACCATGAATCCTGATACTTCTAAGAACCAATTTTCTTTGC
AGTTGAACTCCGTACGCGCTGAAGATACTGCGGTCTACTA
TTGCGCACGCGAAGGCGTAGCCGGCGATTTTGATTACTGG
GGGCAAGGAACATTGGTCAAGGTCTCCTCTGGTGGAGGAG
GATCAGGAGGCGGGGGTTTCAGGTGGAGGTGGGAGCGATAT
TCAACTTACGCGAGTCTCCGAGCAGTCTTTCTGCTTCCGTG
GGAGACCGAGTGACGATTACTTGTAGGGCATCTCAGTCAA
TAAGTTCCTATCTTAAGTGGTATCAGCAGAAGCCTGGAAA
GGCTCCAAAACCTTCTTATTTATGCCGCATCCTCATTGCAA
TCCGGGCGTGCCCTTCCCGATTTTCCGGATCTGGCTCAGGCA
CTGACTTTACCTTGACTATTAGTTCCCTTCAACCAGAAAG
TTTTTGCTACCTATTACTGCCAACAAATCATACAGTACCCCA
TATACATTTCGGCCAAGGCACGAAATTGGAGATTAAAGCGG
CCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCCGGC
CCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGGCCCGAA
GCTTGCCGCGCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGG
GGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCGCT
GGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGCTGCTGGTCAATC

30

40

50

ACCCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACA
TCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCCCGTGACAGACGACTCA
GGAAGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAGGAA
GAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCG
CCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTA
CAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTG
CTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGA
AACCAACGGCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAACGA
ACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAAATC
GGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACGACG
GGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTA
CGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

配列番号34は、CD22 CAR LTG2248 (LP-s c F v 4-CD8TM-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCLELPHPAFLLIIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSATWNWIRQSPSGGLEWLGRYYRS
KWYDDYAVSVRSRITMNPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCARREGVAGDFDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSD
IQLTQSPSSLASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPG
KAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPTP
APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAP
LAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTT
QEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQL
YNELNLGRREEYDVLDRGRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDT
YDALHMQALPPR

配列番号35は、s c F v 4 (11s) LCDR1のアミノ酸配列である：

QSISSY

配列番号36は、s c F v 4 (11s) LCDR2のアミノ酸配列である：

AAS

配列番号37は、s c F v 4 (11s) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQSYSTPYT

配列番号38は、s c F v 4 (11s) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAT

配列番号39は、s c F v 4 (11s) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYD

配列番号40は、s c F v 4 (11s) HCDR3のアミノ酸配列である：

AREGVAGDFDY

配列番号41は、CD22 特異的バインダ (s c F v 5) 12s の核酸配列である：

CAAGTTTCAGTTGCAGCAGAGTGGCCCTGGGCTTGTTAAA
CCATCACAGACGCTCTCACTGACCTGTGCCATCTCTGGAG
ACAGTGTAAGTTCTAACTCAGCCGCGTGGAATTGGATTAG
ACAATCACCAAGCCGGGGACTTGAAATGGCTTGGTCGGACG
TACTATAGATCTAAGTGGTATAATGACTACGCAGTGTCAG
TGAAATCACGGATAACCATAAACCCCTGACACCAGCAAAAA
CCAATTTTCTCTTCAGCTTAATTCCGTCACGCCAGAAGAT
ACGGCCGTTTACTACTGTGCGAGGGGAAGGTGATGACGCAT
TGGACATCTGGGGTCAAGGGGACCATGGTGACTGTCTCTTC
CGGCGGGGGGGGTAGTGGAGGGGGTGGCTCAGGTGGTGGC

10

20

30

40

50

GGGTCAGATATACAAATGACACAGAGCCCTAGTAGTCTGA
GTGCTTCAGTGGGCGACCGCGTAACCTATAACCTGTAGAGC
ATCCCAAAGCATTTCCTTCTTAATTGGTACCAGCAG
AAGCCGGGACAGCGCCCAAACCTCCTGATCACCACTGCGA
GCGGACTTTGGTTTCAAGGTGTTTCTAGCCGGTTTATAGTGGGTC
AGGTAGCGGTACAGATTTCACTCTCACGATAAACTCCCTT
CAGCCTGAGGACCTGGCGACATATTACTGTCAACAATCCT
ATACCACCCCACTGACATTTCGGAGGGGGGCACAAAACCTGGA
GATCAAA

配列番号42は、CD22特異的バインダ (s c F v 5) 12sのアミノ酸配列である：

10

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAREGDDALDIWGQGTMVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCR
ASQSI SHFLNWYQQKPGTAPKLLITTTASGLGSGVPSRFSG
SGSGTDFTLTINSLQPEDLATYYCQQSYTTPLTFGGGTKL
EIKR

配列番号43は、CD22 CAR LTG2249 (LP-s c F v 5-CD8TM-
41BB-CD3ゼータ)の核酸配列である：

20

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTA
CCACACCCAGCATTCCTCCTGATCCCAACAAGTTCAGTTGC
AGCAGAGTGGCCCTGGGCTTGTAAACCATCACAGACGCT
CTCACTGACCTGTGCCATCTCTGGAGACAGTGTAAGTTCT
AACTCAGCCGCGTGGAATTGGATTAGACAATCACCAAGCC
GGGGACTTGAATGGCTTGGTCGGACGTACTATAGATCTAA
GTGGTATAATGACTACGCAGTGTCAGTGAAATCACGGGATA
ACCATAAACCCTGACACCAGCAAAAACCAATTTTCTCTTC
AGCTTAATTCCGTCACGCCAGAAAGATACGGGCCGTTTACTA
CTGTGCGAGGGAAGGTGATGACGCATTGGACATCTGGGGT
CAGGGGACCATGGTGACTGTCTCTTCCGGCGGGGGGGGTA
GTGGAGGGGGTGGCTCAGGTGGTGGCGGGTCAAGATATACA
AATGACACAGAGCCCTAGTAGTCTGAGTGCTTCAGTGGGC
GACCGCGTAACCTATAACCTGTAGAGCATCCCAAAGCATT
CCCACCTTCTTAAATTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCACAGC
GCCCAAACCTCCTGATCACCACTGCGAGCGGACTTGGTTCA
GGTGTTCTTAGCCGGTTTATAGTGGGTAGCGGTACAG
ATTTCACTCTCACGATAAACTCCCTTCAGCCTGAGGACCT
GGCGACATATTACTGTCAACAATCCTATACCACCCCACTG
ACATTTCGGAGGGGGGCACAAAACCTGGAGATCAAAGCGGCCG
CAACTACCACCCCTGCCCTCGGGCCGCGACTCCGGCCCC
AACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCCGAAGCT
TGCCGCCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACC CGGGGGC
TGGACTTTGCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCCGCTGGC
CGGCACCTTGCGGCGTGCTCCTGCTGCTGGTCAACACC
CTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCT
TCAAGCAGCCGTTTATGCGGCCCGTGACAGCAGCTCAGGA
AGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAGGAAGAG
GGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCG
ACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAA
CGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG

30

40

50

G A C A A G C G A C G C G G A C G C G A C C C G G A G A T G G G G G G G A A A C
C A C G G C G G A A A A A C C C T C A G G A A G G A C T G T A C A A C G A A C T
C C A G A A A G A C A A G A T G G C G G A A G C C T A C T C A G A A A T C G G G
A T G A A G G G A G A G C G G A G G A G G G G A A A G G G T C A C G A C G G G C
T G T A C C A G G G A C T G A G C A C C G C C A C T A A G G A T A C C T A C G A
T G C C T T G C A T A T G C A A G C A C T C C C A C C C C G G

配列番号44は、CD22 CAR LTG2249 (LP-s c F v 5-CD8TM-41BB-CD3ゼータ)のアミノ酸配列である：

M L L L V T S L L L C E L P H P A F L L I P Q V Q L Q Q S G P G L V K P S Q T
L S L T C A I S G D S V S S N S A A W N W I R Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S
K W Y N D Y A V S V K S R I T I N P D T S K N Q F S L Q L N S V T P E D T A V Y
Y C A R E G D D A L D I W G Q G T M V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S D I
Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q S I S H F L N W Y Q Q K P G T
A P K L L I T T A S G L G S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I N S L Q P E D
L A T Y Y C Q Q S Y T T P L T F G G G T K L E I K A A A T T T P A P R P P T P A
P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L
A G T C G V L L L S L V I T L Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q
E E D G C S C R F P E E E E G G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y
N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y N E
L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y
D A L H M Q A L P P R

配列番号45は、s c F v 5 (12s) LCDR1のアミノ酸配列である：

Q S I S H F

配列番号46は、s c F v 5 (12s) LCDR2のアミノ酸配列である：

T A S

配列番号47は、s c F v 5 (12s) LCDR3のアミノ酸配列である：

Q Q S Y T T P L T

配列番号48は、s c F v 5 (12s) HCDR1のアミノ酸配列である：

G D S V S S N S A A

配列番号49は、s c F v 5 (12s) HCDR2のアミノ酸配列である：

T Y Y R S K W Y N

配列番号50は、s c F v 5 (12s) HCDR3のアミノ酸配列である：

A R E G D D A L D I

配列番号51は、CD22 特異的バインダ (s c F v 6) 16P3の核酸配列である：

C A G A T A C A G T T G C A G C A G T C A G G T C C A G G A C T A G T G A A G
C C C T C G C A G A C C C T C T C A C T C A C C T G T G C C A T C T C C G G G G
A C A G T G T C T C T A G C A A C A G T G C T G C T T G G A A C T G G A T C A G
G C A G T C C C C A T C G A G A G G C C T T G A G T G G C T G G G A A G G A C A
T A C T A C A G G T C C A A G T G G T A T A A T G A T T A T G C A G T A T C T G
T G A A A A G T C G A A T A A C C A T C A A C C C A G A C A C A T C C A A G A A
C C A G T T C T C C C T G C A G C T G A A C T C T G T G A C T C C C G A G G A C
A C G G C T G T G T A T T A C T G T G C C C A A G A G G T A C A A C C T G A T G
A T G C T T T A G A T A T C T G G G G C C A A G G G A C A A T G G T C A C C G T
C T C T T C A G G A G G T G G C G G G T C T G G C G G T G G A G G T A G C G G T
G G T G G C G G A T C C G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C T T
C C G T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A A A G T C A C C A T C A C T T G
T C G G G C G A G T C A G G A T G T T A G C G G C T G G T T A G C C T G G T A T
C A G C A G A A A C C A G G G C T A G C C C C T C A G C T C C T G A T C T C T G
G T G C A T C C A C T T T G C A A G G T G A A G T C C C A T C A A G G T T C A G
C G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T T A C T C T C A C C A T C A G C

AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAAAATTTCCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAA
GCTGGAAATCAAA

配列番号52は、CD22特異的バインダ（s c F v 6）16P3のアミノ酸配列である：

QIQ LQQSGPGLVKPSQTL S L T C A I S G D S V S S N S A A W N W I
R Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S K W Y N D Y A V S V K S R I T I N P D T S K
N Q F S L Q L N S V T P E D T A V Y Y C A Q E V Q P D D A L D I W G Q G T M V T
V S S G G G G S G G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S V S A S V G D K V T I T
C R A S Q D V S G W L A W Y Q Q K P G L A P Q L L I S G A S T L Q G E V P S R F
S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A K N F P Y T F G Q G T
K L E I K

10

配列番号53は、CD22 CAR LTG2203（LP-s c F v 6-CD8TM-41BB-CD3ゼータ）の核酸配列である：

A T G T T G T T G C T T G T C A C A A G C C T T C T T C T C T G T G A G C T T
C C G C A C C C G G C T T T C C T G C T G A T C C C G C A G A T A C A G C T T C
A G C A G T C C G G C C C C G G T C T G G T A A A G C C G T C C C A A A C G C T
T T C A C T C A C A T G C G C G A T C T C T G G T G A T T C T G T G T C A T C C
A A C A G C G C A G C A T G G A A T T G G A T C C G C C A A T C A C C C A G T A
G A G G C T T G G A G T G G T T G G G C C G G A C T T A T T A T C G A A G T A A
G T G G T A C A A T G A T T A T G C A G T C T C A G T T A A A T C C A G G A T C
A C T A T T A A C C C A G A T A C A A G T A A A A A C C A G T T C T C A T T G C
A A C T T A A T T C C G T A A C T C C G G A G G A C A C T G C A G T A T A T T A
C T G C G C T C A G G A G G T G C A G C C T G A T G A T G C T C T G G A C A T T
T G G G G A C A A G G C A C G A T G G T C A C G G T T A G T T C C G G G G G G G
G A G G T T C T G G C G G A G G T G G T A G T G G G G G G G G C G G C A G T G A
C A T C C A G A T G A C A C A G A G T C C C A G C A G C G T G T C T G C G T C A
G T C G G G G A T A A G G T A A C A A T T A C G T G T A G A G C G A G C C A G G
A C G T T T C C G G G T G G C T G G C G T G G T A C C A A C A A A A A C C C G G
T C T C G C T C C G C A G T T G C T C A T C T C T G G A G C G T C C A C C C T T
C A G G G A G A G G T G C C T A G C A G A T T T T C T G G G T C T G G A T C C G
G C A C G G A T T T T A C A C T T A C G A T T T C C T C T C T T C A A C C C G A
A G A T T T T G C T A C T T A C T A T T G C C A G C A G G C C A A A A A C T T C
C C G T A C A C G T T T G G A C A G G G C A C A A A G T T G G A A A T T A A G G
C G G C C G C A A C T A C C A C C C C T G C C C C T C G G C C G C C G A C T C C
G G C C C C A A C C A T C G C A A G C C A A C C C C T C T C C T T G C G C C C C
G A A G C T T G C C G C C C G G C C G C G G G T G G A G C C G T G C A T A C C C
G G G G G C T G G A C T T T G C C T G C G A T A T C T A C A T T T G G G C C C C
G C T G G C C G G C A C T T G C G G C G T G C T C C T G C T G T C G C T G G T C
A T C A C C C T T T A C T G C A A G A G G G G C C G G A A G A A G C T G C T T T
A C A T C T T C A A G C A G C C G T T C A T G C G G C C C G T G C A G A C G A C
T C A G G A A G A G G A C G G A T G C T C G T G C A G A T T C C C T G A G G A G
G A A G A G G G G G A T G C G A A C T G C G C G T C A A G T T C T C A C G G T
C C G C C G A C G C C C C G C A T A T C A A C A G G G C C A G A A T C A G C T
C T A C A A C G A G C T G A A C C T G G G A A G G A G A G A G G A G T A C G A C
G T G C T G G A C A A G C G A C G C G G A C G C G A C C C G G A G A T G G G G G
G G A A A C C A C G G C G G A A A A A C C C T C A G G A A G G A C T G T A C A A
C G A A C T C C A G A A A G A C A A G A T G G C G G A A G C C T A C T C A G A A
A T C G G G A T G A A G G G A G A G C G G A G G A G G G G A A A G G G T C A C G
A C G G G C T G T A C C A G G G A C T G A G C A C C G C C A C T A A G G A T A C

20

30

40

50

CTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号54は、CD22 CAR LTG2203 (LP-scfv6-CD8TM-41BB-CD3ゼータ)のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCCLPHPAFLLIPIQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVQPPDDALDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKNFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGDCSRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

10

配列番号55は、scfv6 (16P3) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号56は、scfv6 (16P3) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

20

配列番号57は、scfv6 (16P3) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKNFPYT

配列番号58は、scfv6 (16P3) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号59は、scfv6 (16P3) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号60は、scfv6 (16P3) HCDR3のアミノ酸配列である：

AQEVQPPDDALDI

配列番号61は、CD22 特異的バインダ (scfv7) 16P16の核酸配列である：

CAAGTACAGTTGCAGCAGTCAGGACCTGGCCTTGTGAAA
CCATCCCAAACCTCTCAGCCTCACGTGTGCTATTTCTGGTG
ACTCAGTAAGTAGCAATAGCGCTGCTTGGAACCTGGATCAG
ACAATCTCCCTCCAGGGGTCTCGAATGGCTGGGGGCGAACCC
TATTACCGATCTAAATGGTATAACGATTATGCAGTATCCG
TGAAATCCAGGATTACAATCAACCCAGATACGTTCAAGAA
TCAATTCTCTCTTTCAGCTCAACTCCGTAACCTCCAGAGGAC
ACTGCGGTATATTATTGCGCCCAAGAAGTCGAGCCACACG
ATGCCCTCGATATCTGGGGTCAAGGTACCATGGTTACAGT
TAGTAGTGGGGGTGGGGGAAGCGGGGGCGGTGGGTCCGGT
GGCGGGGGTTTCAGACATCAAGATGACCCCAATCCCCAAGCT
CTGTTTTCAGCATCCGTGGGCGATAAGGTAACCATTTACATG
CAGAGCGAGTCAGGACGTTTTCAGGGTGGCTGGCTTGGTAC
CAGCAAAAACCGGGACTCGCACCCGCAGCTGTTGATTTTCG
GCGCCAGTACGCTTTCAGGGCGAAGTACCGTCCAGGTTCAG
TGGGTTCAGGTCTGCGCACCGATTTTACGCTCACGATATCC
AGTCTCCAACCGGAGGATTTTGTCTACTTATTACTGCCAGC
AGGCTAAGTATTTTCCATACACATTTGGCCAGGGGGACAAA
GTTGGAGATCAAA

30

40

配列番号62は、CD22 特異的バインダ (scfv7) 16P16のアミノ酸配列である：

50

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTFK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPHDALDIWGQGTMTV
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIKMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVS GWLAWYQQK PGLAPQLLIFGASTLQGEVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGT
KLEIK

配列番号63は、CD22 CAR LTG2204 (LP-s c F v 7-CD8TM-
41BB-CD3ゼータ)の核酸配列である：

ATGCTGCTTTTGGTAACCTTCCTCTCTTTTGTGCGAGCTG
CCCCATCCAGCGTTCCTCCTCATCCCTCAAGTACAGTTGC
AGCAGTCAGGACCTGGCCTTGTGAAACCATCCCAAACCTCT
CAGCCTCACGTGTGCTATTTCTGGTGACTCAGTAAGTAGC
AATAGCGCTGCTTGGAACTGGATCAGACAATCTCCCTCCA
GGGGTCTCGAATGGCTGGGGCGAACCTATTACCGATCTAA
ATGGGTATAACGATTATGCAGTATCCGTGAAATCCAGGATT
ACAATCAACCCAGATACGTTCAAGAATCAATTCTCTCTTC
AGCTCAACTCCGTAACCTCCAGAGGACACTGCGGTATATTA
TTGCGCCCAAGAAGTCGAGCCACACGATGCCCTCGATATC
TGGGGTCAAGGTACCATGGTTACAGTTAGTAGTGGGGGTG
GGGGAAGCGGGGGCGGTGGGTCCGGTGGCGGGGGTTTCAGA
CATCAAGATGACCCAATCCCCAAGCTCTGTTTTCAGCATCC
GTGGGGCGATAAGGTAAACCATTACATGCAGAGCGAGTCAGG
ACGTTTTCAGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCAAAAACCGGG
ACTCGCACCGCAGCTGTTGATTTTTCGGCGCCAGTACGCTT
CAGGGCGAAGTACCGTCCAGGTTCAGTGGGTTCAGGTTCCTG
GCACCGATTTTTACGCTCACGATATCCAGTCTCCAACCGGA
GGATTTTGTCTACTTATTACTGCCAGCAGGCTAAGTATTTT
CCATACACATTTTGGCCAGGGGACAAAGTTGGAGATCAAAG
CGGCCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
ATCACCCCTTTTACTGCAAGAGGGGCGCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTATGCGGGCCCGTGCAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCGAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCAACGGCGGGA AAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACAG
ACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

配列番号64は、CD22 CAR LTG2204 (LP-s c F v 7-CD8TM-
41BB-CD3ゼータ)のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCLELPHPAFLIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRS

10

20

30

40

50

KWYNDYAVSVKSRITINPDTFKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVEPHDALDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
DIKMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCS CRFP EEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

10

配列番号65は、s c F v 7 (16P16) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号66は、s c F v 7 (16P16) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号67は、s c F v 7 (16P16) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKYFPYT

配列番号68は、s c F v 7 (16P16) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号69は、s c F v 7 (16P16) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

20

配列番号70は、s c F v 7 (16P16) HCDR3のアミノ酸配列である：

AQEVEPHDALDI

配列番号71は、CD22特異的バインダ (s c F v 8) 16P20の核酸配列である：

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAAG
CCCTCGCAGACCCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGG
ACAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAAGTGGATCAG
GCAGTCCCCATCGAGAGGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACA
TACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTG
TGAAAAGTTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAA
CCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGGAC
ACGGCTGTGTATTACTGTGCCCAAGAGGTAGAACCTCATG
ATGCTCTTGATATCTGGGGGCCAAGGGACAATGGTCAACCGT
CTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGCGGAGGCGGTAGCGGT
GGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACGCGAGTCTCCATCAT
CCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAAAGTCAACCATCACTTG
TCGGGCGAGTCAGGATGTTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTAT
CAACAGAAACCAGGGCTAGCCCCCTCAGCTCCTGATCTTTG
GTGCATCCACTTTGCAAGGTGAAGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAATATTTCCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAA
GCTGGAGATCAAA

30

40

配列番号72は、CD22特異的バインダ (s c F v 8) 16P20のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPHDALDIWGQGTMVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPGAPQLLIFGASTLQGEVPSRF

50

SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGT
KLEIK

配列番号73は、CD22 CAR LTG2205 (LP-scFv8-CD8TM-
41BB-CD3ゼータ)の核酸配列である：

ATGCTGCTCCTCGTAACCTCTCTTCTTTGTGAGTTG
CCACATCCAGCATTTCTTCTGATACCTCAAGTTCAACTCC
AGCAGAGTGGTCCAGGTTTGGTAAAACCCAGCCAGACTCT
CTCATTTGACGTGTGCCATATCAGGTGATTTCAGTTTCTCTCT
AATAGCGCGGCATGGAATTGGATCAGGCCAAAGCCCTAGTC
GCGGGCTGGAGTGGCTCGGCCGGACATACTACCGCTCAAA
GTGGGTACAACGACTACGCCGTCAGCGTAAAATCTCGGATT
ACCATTAACCCGGATACTTCCA AAAACCAATTCTCCCTGC
AGCTTAACAGTGTCA CGCCGGAAGATACGGCCGTTTATTA
CTGCGCACAAAGAGGTGGAACCGCACGACGCCCTCGATATC
TGGGGGCCAAGGC ACTATGGTGACCGTCAGTAGCGGAGGGG
GGGGTTCCGGAGGAGGCGGGCTCTGGTGGCGGAGGATCTGA
TATCCA AATGACCCAATCACCGTCTTTCAGTATCAGCTTCT
GTTGGTGACAAAGTTACGATTACCTGTCGAGCGTCACAGG
ACGTTTCTGGTTGGTTGGCTTGGTATCAGCAAAAACCAAGG
GCTTGCGCCTCAGTTGCTTATTTTGGGGCATCTACTTTG
CAGGGAGAGGTGCCCTCCCGGTTCTCCGGCAGTGGGAGCG
GCACCGATTTTACACTTACCATCTCTTCTTGCAACCCGA
AGACTTTGCGACGTACTATTGCCAGCAGGCCAAAGTATTTT
CCCTACACTTTTGGACAAGGGACTAAACTTGAAATCAAGG
CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTATGCGGCCCGTGACAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCACGGCGGAAAAACCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
ACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCACCCCGG

配列番号74は、CD22 CAR LTG2205 (LP-scFv8-CD8TM-
41BB-CD3ゼータ)のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVEPHDALDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLI FGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT

P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A
P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T
T Q E E D G C S C R F P E E E E G G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q
L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y
N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D
T Y D A L H M Q A L P P R

配列番号75は、s c F v 8 (16P20) L C D R 1のアミノ酸配列である：

Q D V S G W

配列番号76は、s c F v 8 (16P20) L C D R 2のアミノ酸配列である：

G A S

配列番号77は、s c F v 8 (16P20) L C D R 3のアミノ酸配列である：

Q Q A K Y F P Y T

配列番号78は、s c F v 8 (16P20) H C D R 1のアミノ酸配列である：

G D S V S S N S A A

配列番号79は、s c F v 8 (16P20) H C D R 2のアミノ酸配列である：

T Y Y R S K W Y N

配列番号80は、s c F v 8 (16P20) H C D R 3のアミノ酸配列である：

A Q E V E P H D A L D I

配列番号81は、CD22 特異的バインダ (s c F v 9) 16P2の核酸配列である：

C A G G T A C A G C T G C A G C A G T C A G G T C C A G G A C T G G T G A A G
C C C T C G C A G A C C C T C T C A C T C A C C T G T G C C A T C T C C G G G G
A C A G T G T C T C T A G C A A C A G T G C T G C T T G G A A C T G G A T C A G
G C A G T C C C C A T C G A G A G G C C T T G A G T G G C T G G G A A G G A C A
T A C T A C A G G T C C A A G T G G T A T A A T G A T T A T G C A G T A T C T G
T G A A A A G T C G A A T A A C C A T C A A C C C A G A C A C A T T C A A G A A
C C A G T T C T C C C T G C A G C T G A A C T C T G T G A C T C C C G A G G A C
A C G G C T G T G T A T T A C T G T G C C C A A G A G G T A G A A C C T C A T G
A T G C T C T T G A T A T C T G G G G C C A A G G G A C A A T G G T C A C C G T
C T C T T C A G G A G G T G G C G G G T C T G G C G G T G G A G G T A G C G G T
G G T G G C G G A T C C G A C A T C A A G A T G A C C C A G T C T C C A T C T T
C C G T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A A A G T C A C C A T C A C T T G
T C G G G C G A G T C A G G A T G T T A G C G G C T G G T T A G C C T G G T A T
C A G C A G A A A C C A G G G C T A G C C C C T C A G C T C C T G A T C T T T G
G T G C A T C C A C T T T G C A A G G T G A A G T C C C A T C A A G G T T C A G
C G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T T A C T C T C A C C A T C A G C
A G C C T G C A G C C T G A A G A T T T T G C C A C T T A T T A T T G T C A A C
A G G C T A A A T A T T T C C C T T A C A C T T T T G G C C A G G G G A C C A A
G C T G G A A A T C A A A

配列番号82は、CD22 特異的バインダ (s c F v 9) 16P2のアミノ酸配列である：

Q V Q L Q Q S G P G L V K P S Q T L S L T C A I S G D S V S S N S A A W N W I
R Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S K W Y N D Y A V S V K S R I T I N P D T F K
N Q F S L Q L N S V T P E D T A V Y Y C A Q E V E P H D A L D I W G Q G T M V T
V S S G G G G S G G G G S G G G G S D I K M T Q S P S S V S A S V G D K V T I T
C R A S Q D V S G W L A W Y Q Q K P G L A P Q L L I F G A S T L Q G E V P S R F
S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A K Y F P Y T F G Q G T
K L E I K

配列番号83は、CD22 CAR LTG2206 (LP-s c F v 9-CD8TM-41BB-CD3ゼータ)の核酸配列である：

A T G C T T C T T T T G G T G A C T T C C C T T T T G C T G T G C G A G T T G

10

20

30

40

50

CCACACCCCGCCTTCCTGCTTATTCCCCAAGTCCAGCTCC
 AACCAATCCGGACCCGGACTTGTTAAGCCGTCTCAGACGTT
 GTCACTCACATGCGCCATCAGTGGCGATAGCGTGTCAGC
 AACAGTGCCGCATGGAATTGGATACGACAGAGCCCTTCCC
 GAGGATTGGAATGGCTGGGACGAACGTACTATAGGTCCAA
 GTGGGTATAACGACTACGCGGTGTCAGTTAAATCTCGGATT
 ACTATAAATCCCGACACTTTTAAAGAATCAGTTTTCCTGC
 AACTCAATTTCAGTCACACCCGGAAGATACGGCAGTGTACTA
 TTGCGCTCAAGAAAGTTGAGCCACATGATGCGCTGGATATT
 TGGGGTTCAGGGGACTATGGTGACGGTAAGCAGTGGGGGCG
 GGGGCGAGTGGCGGAGGTGGCAGCGGGGGCGGTGGAAGCGA
 CATTAAGATGACTCAGTCTCCGTCTTCAGTTTCCGCTCC
 GTAGGGGACAAGGTTACAATTACTTGTCGCGCATCTCAGG
 ATGTCTCAGGTTGGCTGGCTTGGTATCAACAGAAGCCTGG
 CCTCGCCCCCTCAGCTTCTCATATTCGGGGCTAGTACCCTG
 CAAGGAGAAGTCCCGAGCAGGTTTTTCCGGTTCAGGGTCCG
 GGACAGACTTTACCTTGACCATCAGCTCCCTGCAACCGGA
 GGACTTCGCGACCTACTATTGTCAACAGGCGAAGTACTTC
 CCCTACACGTTTCGGGCAAGGGACTAAGCTCGAAATCAAGG
 CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGACTCC
 GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
 GAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
 GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCC
 GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
 ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCGCGGAAGAAGCTGCTTT
 ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCCCGTGACAGACGAC
 TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAG
 GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
 CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
 CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
 GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
 GGAAACCACGGCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
 CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
 ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
 ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
 CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

配列番号84は、CD22 CAR LTG2206 (LP-scfv9-CD8TM-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
 LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRYYRS
 KWyNDYAVSVKSRITINPDTFKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCAQEVEPHDALDIWGQGTMTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIKMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
 GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
 PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
 TQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
 NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD

TYDALHMQALPPR

配列番号 85 は、s c F v 9 (16P2) LCDR1 のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号 86 は、s c F v 9 (16P2) LCDR2 のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号 87 は、s c F v 9 (16P2) LCDR3 のアミノ酸配列である：

QQAKYFPYT

配列番号 88 は、s c F v 9 (16P2) HCDR1 のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号 89 は、s c F v 9 (16P2) HCDR2 のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号 90 は、s c F v 9 (16P2) HCDR3 のアミノ酸配列である：

AQEVEPHDALDI

配列番号 91 は、CD22 特異的バインダ (s c F v 10) 16P6 の核酸配列である：

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAG
CCCTCGCAGACCCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGG
ACAGTGTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAAGTGGATCAG
GCAGTCCCCATCGAGAGGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACA
TACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTG
TGAAAAGTTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAA
CCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGAT
ACGGCTGTGTATTACTGTGCCCAAGAGGTACAACCTGATG
ATGCTTTTGTATATCTGGGGGCCAAGGGACAATGATCACCGT
CTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGCGGTGGAGGTAGCGGT
GGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTT
CCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAAAGTCACCATCACTTG
TCGGGCGAGTCAGGATGTTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTAT
CAGCAGAAACCAGGGCTAGCCCCCTCAGCTCCTGATCTCTG
GTGCATCCACTTTGCAAGGTGGAGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAAAAATTTCCCTTACACTTTTGGTCAGGGGACCAA
GCTGGAAATCAAA

配列番号 92 は、CD22 特異的バインダ (s c F v 10) 16P6 のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPDDAFDIWGQGTMIT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPLAPQLLISGASTLQGGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKNFPYTFGQGT
KLEIK

配列番号 93 は、CD22 CAR LTG2207 (LP-s c F v 10-CD8TM-41BB-CD3ゼータ) の核酸配列である：

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGGCTGTGCGAGTTG
CCACACCCCGCCTTCTGCTTATTCCCCAAGTACAACCTCC
AGCAATCAGGGCCTGGCCTTGTCAGCCGAGTCAAACCTT
GAGTTTGTACGTGTGCCATCAGCGGTGACTCTGTCAAGTTCA
AACTCCGCAGCTTGGAACTGGATTTCGGCAGTCCCCCTCCA
GGGGCCTCGAATGGCTTGGACGGACGTA CTACAGATCAAA

ATGGGTACAACGACTACGCAGTCAGTGTAATAATCAAGGATT
 ACGATAAACCCCTGATACGAGTAAAAACCAGTTCTCTCTCC
 AACTGAACAGCGTCAACCCGGAAGATACAGCCGTGTATTA
 CTGTGCTCAGGAAGTGCAACCTGACGACGCATTTGACATC
 TGGGGTCAAGGGCACGATGATCACCGTGAGTAGTGAGGAG
 GAGGCAGTGGGGGAGGCGGTCTGGCGGGGGTGGGTCTGA
 TATACAGATGACACAGAGTCCCTCCTCAGTTTCCGCCTCT
 GTTGGAGATAAGGTGACAATTACATGCAGGGCGTCCCAAG
 ATGTTTCTGGATGGCTCGCATGGTACCAACAGAAGCCAGG
 ACTCGCCCCCTCAGCTCCTCATTAGCGGCGCTAGCACTCTC
 CAAGGGGGAGTACCGAGCAGGTTCTCTGGGTCCGGAAGTG
 GGACGGACTTTTACCCTGACAATATCCTCCCTTCAGCCAGA
 AGACTTCGCAACCTACTATTGCCAACAGGCGAAAAATTTCT
 CCTTACACGTTTCGGCCAAGGAACATAAACTTGAAATCAAGG
 CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCC
 GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
 GAAGCTTGCCGCCCCGGCCGCGGGTGAGCCGTGCATACCC
 GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCC
 GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
 ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
 ACATCTTCAAGCAGCCGTTTATGCGGCCCGTGACAGACGAC
 TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAG
 GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
 CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
 CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
 GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
 GGAAACCACGGCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
 CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
 ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
 ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
 CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

10

20

30

配列番号94は、CD22 CAR LTG2207 (LP-s c F v 10-CD8TM-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLI PQVQLQQSGPGLVKPSQT
 LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYRS
 KWyNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCAQEVQPDDAFDIWGQGTMITVSSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
 GLAPQLLISGASTLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYYCQQAKNFPYTFGQGTLKLEIKAAATTTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
 PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
 TQEEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDRGRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
 NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
 TYDALHMQALPPR

40

配列番号95は、s c F v 10 (16P6) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号96は、s c F v 10 (16P6) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

50

配列番号 97 は、s c F v 1 0 (1 6 P 6) L C D R 3 のアミノ酸配列である：

Q Q A K N F P Y T

配列番号 98 は、s c F v 1 0 (1 6 P 6) H C D R 1 のアミノ酸配列である：

G D S V S S N S A A

配列番号 99 は、s c F v 1 0 (1 6 P 6) H C D R 2 のアミノ酸配列である：

T Y Y R S K W Y N

配列番号 100 は、s c F v 1 0 (1 6 P 6) H C D R 3 のアミノ酸配列である：

A Q E V Q P D D A F D I

配列番号 101 は、C D 2 2 特異的バインダ (s c F v 1 1) 1 6 P 1 0 の核酸配列である：

C A G G T A C A G C T G C A G C A G T C A G G T C C A G G A C T G G T G A A G
C C C T C G C A G A C C C T C T C A C T C A C C T G T G C C A T C T C C G G G G
A C A G T G T C T C T A G C A A C A G T G C T G C T T G G A A C T G G A T C A G
G C A G T C C C C A T C G A G A G G C C T T G A G T G G C T G G G A A G G A C A
T A C T A C A G G T C C A A G T G G T A T A A T G A T T A T G C A G T A T C T G
T G A A A A G T C G A A T A A C C A T C A A C C C A G A C A C A T C C A A G A A
C C A G T T C T C C C T G C A G C T G A A C T C T G T G A C T C C C G A G G A C
A C G G C T G T G T A T T A C T G T G C C C A A G A G G T A G A A C C T C A G G
A T G C T T T T G A T A T C T G G G G C C A A G G G A C A A T G G T C A C C G T
C T C T T C A G G A G G T G G C G G G T C T G G T G G T G G C G G T A G C G G T
G G T G G C G G A T C C G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C T T
C C G T G T C T G C A T C T G T A G G A G A C A A A G T C A C C A T C A C T T G
T C G G G C G A G T C A G G A T G T T A G C G G C T G G T T A G C C T G G T A T
C A G C A G A A A C C A G G G C T A G C C C C T C A G C T C C T G A T C T T T G
G T G C A T C C A C T C T G C A A G G T G A A G T C C C A T C A A G G T T C A G
T G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T T A C T C T C A C C A T C A G C
A G C C T G C A G C C T G A A G A T T T T G C C A C T T A T T A T T G T C A A C
A G G C T A A A T A T T T C C C T T A C A C T T T T G G C C C G G G G A C C A A
G C T G G A A A T C A A A

配列番号 102 は、C D 2 2 特異的バインダ (s c F v 1 1) 1 6 P 1 0 のアミノ酸配列である：

Q V Q L Q Q S G P G L V K P S Q T L S L T C A I S G D S V S S N S A A W N W I
R Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S K W Y N D Y A V S V K S R I T I N P D T S K
N Q F S L Q L N S V T P E D T A V Y Y C A Q E V E P Q D A F D I W G Q G T M V T
V S S G G G G S G G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S V S A S V G D K V T I T
C R A S Q D V S G W L A W Y Q Q K P G L A P Q L L I F G A S T L Q G E V P S R F
S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A K Y F P Y T F G P G T
K L E I K

配列番号 103 は、C D 2 2 C A R L T G 2 2 0 8 (L P - s c F v 1 1 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ) の核酸配列である：

A T G C T T C T T T T G G T G A C T T C C C T T T T G C T G T G C G A G T T G
C C A C A C C C C G C C T T C C T G C T T A T T C C C C A A G T G C A G T T G C
A A C A G T C T G G A C C A G G C C T C G T A A A A C C T T C T C A A A C T T T
G T C A C T C A C T T G T G C C A T C T C A G G G G A C A G T G T C A G T T C C
A A C A G T G C G G C A T G G A A T T G G A T T A G G C A A T C C C C C T C T C
G A G G T C T G G A A T G G C T T G G G C G G A C T T A C T A C C G A A G T A A
G T G G T A C A A C G A T T A T G C A G T T T C T G T A A A A T C A C G A A T C
A C T A T A A A T C C G G A C A C T T C T A A G A A T C A G T T C T C T T T G C
A G C T T A A C T C T G T T A C T C C T G A A G A C A C A G C C G T A T A T T A
C T G T G C T C A A G A G G T A G A G C C G C A A G A T G C C T T C G A C A T C

10

20

30

40

50

TGGGGGCCAAGGGGACTATGGGTGACAGTAAGCTCCGGAGGGTG
 GGGGATCAGGGGGAGGTGGGTCCGGTGGTGGTGGCTCTGA
 CATACAGATGACACAGTCCCCTAGCTCTGTGTGTCAGCAAGT
 GTCGGTGACAAAGGTTACGATAACGTGCAGGGGCCAGTCAAG
 ATGTGTGTCAGGATGGTTTGGCGTGGTACCAACAGAAACCCGG
 CTTGGGCACCGCAGCTTTTGTATTTCCGGCGCGTCCACACTC
 CAAGGCGAAGTGCCCTTCTCGGTTTCTGGAAGCGGCAGCG
 GGACGGACTTTTACTTTGACAATATCCTCCCTCCAACCCGA
 GGATTTTCGCGACGTATTATTGCCAGCAAGCAAAATACTTC
 CCATACACCTTTCGGGCCTGGGACCAAACTGGAGATCAAAG
 CGGCCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCCGCCGACTCC
 GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
 GAAGCTTGCCGCCCGGCCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
 GGGGGCTGGACTTTGCGCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCC
 GCTGGCCGGCACTTTCGGCGTGGCTCCTGCTGTGCTGGTTC
 ATCACCCCTTTTACTGCAAGAGGGGCGGAAGAAGCTGCTTT
 ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCCCGTGCAGACGAC
 TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAG
 GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
 CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGGCCAGAATCAGCT
 CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
 GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
 GGAAACCAACGGCGGGA AAAACCCCTCAGGAAGGACTGTACAA
 CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
 ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAAG
 ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
 CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

配列番号104は、CD22 CAR LTG2208 (LP-s c F v 11-CD8 T M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCLELPHPAFL LIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
 LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRS
 KQYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
 YCAQEVEPQDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
 GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
 EDFATYYCQQAKEYFPYTFGPGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
 PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
 PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
 TQEEDGCSGRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
 LYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
 NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
 TYDALHMQALPPR

配列番号105は、s c F v 11 (16P10) LCDR1のアミノ酸配列である：
QDVSGW

配列番号106は、s c F v 11 (16P10) LCDR2のアミノ酸配列である：
GAS

配列番号107は、s c F v 11 (16P10) LCDR3のアミノ酸配列である：
QQAKEYFPYT

配列番号108は、s c F v 11 (16P10) HCDR1のアミノ酸配列である：
GDSVSSNSAA

10

20

30

40

50

配列番号109は、s c F v 1 1 (1 6 P 1 0) H C D R 2 のアミノ酸配列である：
T Y Y R S K W Y N

配列番号110は、s c F v 1 1 (1 6 P 1 0) H C D R 3 のアミノ酸配列である：
A Q E V E P Q D A F D I

配列番号111は、C D 2 2 特異的バインダ (s c F v 1 2) 1 6 P 1 7 の核酸配列である：

```
C A G G T A C A G C T G C A G C A G T C A G G T C C A G G A C T G G T G A A G
C A C T C G C A G A C C C T C T C A C T C A C C T G T G C C A T C T C C G G G G
A C A G T G T C T C T A G C A A C A G T G C T T G G A A C T G G A T C A G
G C A G T C C C C A T C G A G A G G C C T T G A G T G G C T G G G A A G G A C A
T A C T A C A G G T C C A A G T G G T A T A A T G A T T A T G C A G T A T C T G
T G A A A A G T C G A A T A A C C A T C A A C C C A G A C A C A T C C A A G A A
C C A G T T C T C C C T G C A G T T G A A C T C T G T G A C T C C C G A G G A C
A C G G C T G T G T A T T A C T G T G C C C A A G A G G T A G A A C C T C A T G
A T G C T T T T G A T A T C T G G G G C C A A G G G A C A A T G G T C A C C G T
C T C T T C A G G A G G T G G C G G G T C T G G C G G T G G A G G T A G C G G T
G G T G G C G G A T C C G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C T T
C C G T G T A T G C A T C T G T A G G A G A C A A A G T C A C C A T C A C T T G
T C G G G C G A G T C A G G A T G T T A G C G G C T G G T T A G C C T G G T A T
C A G C A G A A A C C A G G G C T A G C C C C T C A G C T C C T G A T C T C T G
G T G C A T C C A C T T T G C A A G G T G A A G T C C C A T C A A G G T T C A G
C G G C A G T G G A T C T G G G A C A G A T T T T A C T C T C A C C A T C A G C
A G C C T G C A G C C T G A A G A T T T T G C C A C T T A T T A T T G T C A A C
A G G C T A A A T A T T T C C C T T A C A C T T T T G G C C A G G G G A C C A A
G C T G G A A A T C A A A
```

配列番号112は、C D 2 2 特異的バインダ (s c F v 1 2) 1 6 P 1 7 のアミノ酸配列である：

```
Q V Q L Q Q S G P G L V K H S Q T L S L T C A I S G D S V S S N S A A W N W I
R Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S K W Y N D Y A V S V K S R I T I N P D T S K
N Q F S L Q L N S V T P E D T A V Y Y C A Q E V E P H D A F D I W G Q G T M V T
V S S G G G G S G G G G S G G G G S D I Q M T Q S P S S V Y A S V G D K V T I T
C R A S Q D V S G W L A W Y Q Q K P G L A P Q L L I S G A S T L Q G E V P S R F
S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A K Y F P Y T F G Q G T
K L E I K
```

配列番号113は、C D 2 2 C A R L T G 2 2 0 9 (L P - s c F v 1 2 - C D 8 T M - 4 1 B B - C D 3 ゼータ) の核酸配列である：

```
A T G C T T C T T T T G G T G A C T T C C C T T T T G C T G T G C G A G T T G
C C A C A C C C C G C C T T C C T G C T T A T T C C C C A G G T A C A G C T T C
A A C A G A G T G G G C C G G G A C T G G T G A A A C A C T C C C A A A C A C T
T T C T C T G A C G T G C G C T A T A T C A G G T G A C T C T G T T T C A T C T
A A T T C T G C T G C G T G G A A C T G G A T T C G A C A A T C T C C C A G T C
G C G G G T T G G A A T G G C T G G G A C G A A C A T A T T A T C G G T C T A A
G T G G T A T A A C G A T T A T G C T G T A T C T G T T A A A T C T C G A A T T
A C G A T T A A T C C T G A C A C C T C C A A G A A C C A G T T C T C C C T C C
A G T T G A A C T C A G T C A C A C C G G A A G A C A C T G C G G T C T A C T A
T T G C G C T C A A G A A G T C G A G C C A C A T G A T G C A T T C G A C A T C
T G G G G C C A G G G A A C G A T G G T C A C C G T C A G C A G T G G C G G C G
G C G G A T C T G G G G G T G G C G G T T C T G G C G G T G G A G G A T C A G A
C A T A C A A A T G A C G C A G A G T C C C T C A A G T G T G T A C G C G A G T
G T G G G G G A T A A G G T A A C T A T T A C G T G C A G A G C G T C A C A G G
```

ATGTTAGTGGATGGCTTGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGG
CCTTGCTCCACAGCTCCTTATCAGTGGTGCTTCTACACTT
CAGGGCGAGGTTCCGAGTAGATTCTCTGGTTCTGGATCTG
GTACTGACTTCACTCTTACAATTTCTTCTTTGCAACCAGA
AGACTTTTGC GACTTATTACTGCCAACAGGCCAAATACTTC
CCTTATACATTTTGGCCAAGGTACCAAGTTGGAGATAAAGG
CGGCCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCCGCCGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGGCGCCCC
GAAGCTTGCCCGCCCGGCCCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGGCTGGACTTTTGCCTGCGATATCTACATTTTGGGCCCC
GCTGGCCGGGCACTTGCGGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCAATGCGGCCCGTGCGAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCGAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCAACGGCGGGA AAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGGTCACG
ACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号114は、CD22 CAR LTG2209 (LP-s c F v 12-CD8 T M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLC ELPHPAFL LIPQVQLQQSGPGLVKHSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVEPHDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVYASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCS CRFP EEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

配列番号115は、s c F v 12 (16P17) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号116は、s c F v 12 (16P17) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号117は、s c F v 12 (16P17) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKEYFPYT

配列番号118は、s c F v 12 (16P17) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号119は、s c F v 12 (16P17) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号120は、s c F v 12 (16P17) HCDR3のアミノ酸配列である：

AQEVEPHDAFDI

10

20

30

40

50

配列番号 121 は、CD22 特異的バインダ (s c F v 13) 16 P 20 v 2 の核酸配列である：

```
CAAGTACAACCTTCAACAGTCTGGGCTTGTAAAA
CCTAGCCAAACTCTGTCCCTCACGTGCGCGATTTCAGGGG
ACAGTGTAAGTTCCAACCTCAGCCGCATGGAACCTGGATCAG
GCAGTCACCTTCAAGGGGGGCTCGAATGGCTTGGCCGAACG
TACTACAGGAGTAAGTGGTACAACGATTATGCAGTGTCTG
TGAAATCACGGATTACTATCAATCCCGACACGTCCAAGAA
CCAGTTCTCTCTGCAACTCAACTCAGTGACACCAGAGGAT
ACGGCCGTTTACTATTGTGCACAGGAAGTGCAACCTGATG
ATGCCCTTTGACATTTGGGGGTCAGGGGCACGATGGTTACGGT
AAGCTCTGGGGGAGGCGGCAGTGGAGGGGGAGGTAGTGGG
GGAGGGGGGATCTGATATACAGATGACACAAAGCCCGTCAT
CCGTCAGTGCTTCAAGTTGGTGATAAAGTAACCATTAAGTG
CCGCGCTTCCCAAGACGTTAGCGGATGGTTGGCTTGGTAT
CAACAAAAAACCGGGGTTGGCTCCGCAACTCCTCATATCCG
GTGCGAGTACGCTCCAAGGCGAAGTCCCTAGCAGATTTTC
CGGGAGCGGTTCCGGGTACAGATTTTCACGTTGACCATTAGC
TCTCTCCAGCCCCGAAGATTTTGC AACCTACTATTGCCAAC
AGGCCAAAAAATTTTCCATATACATTTGGTCAAGGCACTAA
GCTCGAAATCAAA
```

10

20

配列番号 122 は、CD22 特異的バインダ (s c F v 13) 16 P 20 v 2 のアミノ酸配列である：

```
QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPDDAFDIWGQGTMTV
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGLAWYQQKPG LAPQLLISGASTLQGEVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAQKNFPYTFGQGT
KLEIK
```

30

配列番号 123 は、CD22 CAR LTG2210 (LP-s c F v 13-CD8T M-41BB-CD3ゼータ) の核酸配列である：

```
ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGCTGTGCGAGTTG
CCACACCCCGCCTTCTGCTTATTCCCAAGTACAACCTTC
AACAGTCTGGGCTTGGGCTTGTAAAACCTAGCCAAACTCT
GTCCCTCACGTGCGCGATTTCAGGGGACAGTGTAAGTTCC
AACTCAGCCGCATGGAACCTGGATCAGGCAGTCACCTTCAA
GGGGGCTCGAATGGCTTGGCCGAACGTACTACAGGAGTAA
GTGGTACAACGATTATGCAGTGTCTGTGAAATCACGGATT
ACTATCAATCCCGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCTCTGC
AACTCAACTCAGTGACACCAGAGGATACGGCCGTTTACTA
TTGTGCACAGGAAGTGCAACCTGATGATGCCCTTTGACATT
TGGGGGTCAGGGGCACGATGGTTACGGTAAGCTCTGGGGGAG
GCGGCAGTGGAGGGGGAGGTTAGTGGGGGAGGGGGGATCTGA
TATACAGATGACACAAAGCCCGTCATCCGTCAGTGCTTCA
GTTGGTGATAAAGTAACCATTAAGTGCCGCGCTTCCCAAG
ACGTTAGCGGATGGTTGGCTTGGTATCAACAAAAAACCGGG
GTTGGCTCCGCAACTCCTCATATCCGGTGCGAGTACGCTC
CAAGGCGAAGTCCCTAGCAGATTTTCCGGGAGCGGTTCCG
GTACAGATTTTACGTTGACCATTAGCTCTCTCCAGCCCGA
```

40

50

A G A T T T T G C A A C C T A C T A T T G C C A A C A G G C C A A A A A T T T T
 C C A T A T A C A T T T G G T C A A G G C A C T A A G C T C G A A A T C A A A G
 C G G C C G C A A C T A C C A C C C C T G C C C C T C G G C C G C C G A C T C C
 G G C C C C A A C C A T C G C A A G C C A A C C C C T C T C C T T G C G C C C C
 G A A G C T T G C C G C C C G G C C G C G G G T G G A G C C G T G C A T A C C C
 G G G G G C T G G A C T T T G C C T G C G A T A T C T A C A T T T G G G C C C C
 G C T G G C C G G C A C T T G C G G C G T G C T C C T G C T G T C G C T G G T C
 A T C A C C C T T T A C T G C A A G A G G G G C C G G A A G A A G C T G C T T T
 A C A T C T T C A A G C A G C C G T T C A T G C G G C C C G T G C A G A C G A C
 T C A G G A A G A G G A C G G A T G C T C G T G C A G A T T C C C T G A G G A G
 G A A G A G G G G G A T G C G A A C T G C G C G T C A A G T T C T C A C G G T
 C C G C C G A C G C C C C C G C A T A T C A A C A G G G C C A G A A T C A G C T
 C T A C A A C G A G C T G A A C C T G G G A A G G A G A G A G G A G T A C G A C
 G T G C T G G A C A A G C G A C G C G G A C G C G A C C C G G A G A T G G G G G
 G G A A A C C A C G G C G G A A A A A C C C T C A G G A A G G A C T G T A C A A
 C G A A C T C C A G A A A G A C A A G A T G G C G G A A G C C T A C T C A G A A
 A T C G G G A T G A A G G G A G A G C G G A G G A G G G G A A A G G G T C A C G
 A C G G G C T G T A C C A G G G A C T G A G C A C C G C C A C T A A G G A T A C
 C T A C G A T G C C T T G C A T A T G C A A G C A C T C C C A C C C C G G

配列番号124は、CD22 CAR LTG2210 (LP-s c F v 13-CD8T M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

M L L L V T S L L L C E L P H P A F L L I P Q V Q L Q Q S G P G L V K P S Q T
 L S L T C A I S G D S V S S N S A A W N W I R Q S P S R G L E W L G R T Y Y R S
 K W Y N D Y A V S V K S R I T I N P D T S K N Q F S L Q L N S V T P E D T A V Y
 Y C A Q E V Q P D D A F D I W G Q G T M V T V S S G G G G S G G G G S G G G G S
 D I Q M T Q S P S S V S A S V G D K V T I T C R A S Q D V S G W L A W Y Q Q K P
 G L A P Q L L I S G A S T L Q G E V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
 E D F A T Y Y C Q Q A K N F P Y T F G Q G T K L E I K A A A T T T P A P R P P T
 P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A
 P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T
 T Q E E D G C S C R F P E E E E G G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q
 L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y
 N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D
 T Y D A L H M Q A L P P R

配列番号125は、s c F v 13 (16P20v2) LCDR1のアミノ酸配列である：
Q D V S G W

配列番号126は、s c F v 13 (16P20v2) LCDR2のアミノ酸配列である：
G A S

配列番号127は、s c F v 13 (16P20v2) LCDR3のアミノ酸配列である：
Q Q A K N F P Y T

配列番号128は、s c F v 13 (16P20v2) HCDR1のアミノ酸配列である：
G D S V S S N S A A

配列番号129は、s c F v 13 (16P20v2) HCDR2のアミノ酸配列である：
T Y Y R S K W Y N

配列番号130は、s c F v 13 (16P20v2) HCDR3のアミノ酸配列である：
A Q E V Q P D D A F D I

配列番号131は、CD22 特異的バインダ (s c F v 14) 16P1の核酸配列である：

C A G G T A C A G C T G C A G C A G T C A G G T C C A G G A C T G G T G A A G
 C C C T C G C A G A C C C T C T C A C T C A C C T G T G A C A T C T C C G G G G

ACAGTGTCTCTAGCAACAGTGTCTGCTTGGAACTGGATCAG
GCAGTCCCCATCGAGAGGCCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACA
TACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTG
TGAAAAGTTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAA
CCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGAC
ACGGCTGTGTATTACTGTGCCCAAGAGATAGAACCCTCATG
ATGCTTTTGTATATCTGGGACCAAGGGACAATGGTCAACGT
CTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGCGGTGGAGGTAGCGGT
GGTGGCGGATCCGTCATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTT
CCGTGTCTGCACTCTGTAGGAGACAAAGTCAACCATCACTTG
TCGGGCGAGTCAAGGATGTTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTAT
CAGCAGAAACCAGGGCTAGCCCCCTCAGCTCCTGATCTCTG
GTGCATCCTCTTTGCAAGGTGGAGTCCCATCAAGGTTTCA
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAATATTTCCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAA
GCTGGAAATCAAA

配列番号132は、CD22特異的バインダ(s c F v 14)16P1のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCDISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEIEPHDAFDIWDQGTMT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSGVIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSQWLAWYQQKPGAPQLLISGASSLQGGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGT
KLEIK

配列番号133は、CD22 CAR LTG2216(LP-s c F v 14-CD8T M-41BB-CD3ゼータ)の核酸配列である：

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTG
CCCCATCCGGCTTTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGC
AGCAGTCCGGTCTTGACTGGTCAAGCCGTCCAGACTCT
GAGCCTGACTTGCGATATTAGCGGGGACTCAGTCTCGTCC
AATTCGGCGGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTCAACATCAA
GGGGCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAA
ATGGGTATAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGTCCCGGATC
ACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACAGTTCTCACTCC
AACTGAACAGCGTGACCCCCGAGGATACCGCGGTGTACTA
CTGCGCACAAAGAAATCGAACCGCACGACGCCCTTCGACATT
TGGGACCAAGGGAACGATGGTCAACAGTGTCTCGGTGGAG
GAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGGT
GATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTCCTCGGTGTCCGCATCC
GTGGGCGGATAAGGTCAACCATTAACCTGTAGAGCGTCCAGG
ACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
CTTGGCTCCTCAACTGCTGATCTCCGGCGCCAGCTCACTT
CAGGGGGGGGTGCCATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCCG
GCACCGACTTCAACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGA
GGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTC
CCCTATACCTTCGGACAAGGCACTAAGCTGGAAATCAAGG
CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC

10

20

30

40

50

GAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCCCGTGACAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCGCATATCAACAGGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCACGGCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACAG
ACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号134は、CD22 CAR LTG2216 (LP-scfv14-CD8T
M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCDISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYRS
KQYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEIEPHDAFDIWDQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
VIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLISGASSLQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCSCRFP EEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

配列番号135は、scfv14 (16P1) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号136は、scfv14 (16P1) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号137は、scfv14 (16P1) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKYFPYT

配列番号138は、scfv14 (16P1) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号139は、scfv14 (16P1) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号140は、scfv14 (16P1) HCDR3のアミノ酸配列である：

AQEIEPHDAFDI

配列番号141は、CD22 特異的バインダ (scfv15) 16P3v3の核酸配列
である：

CAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCTCTGGACTGGTCAAG
CACTCCCAGACTCTGAGCCTGGCCTGCGCGATTAGCGGGG
ACTCAGTCTCGTCCAATTCTGGCGGGCCTGGAACCTGGATCCG
GCAGTCAACCATCAAGGGGCGCTGGAATGGCTCGGGCGCACT
TACTACCGGTCCAATGGTATAACGACTACGCCGTGTCCG
TGAAGTCCCGGATCACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAA

CCAGTTCTCACTCCA ACTG AACAGCGTGACCCCCGAGGAT
ACCGCGGTGTACTACTGCGCACAAAGAGTGCAGCCGCAGG
ACGCCCTGGACATTTGGGGGCAGGGAACGATGGTCAACAGT
GTCGTCCGGTGGAGGAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGA
GGCGGAGGTTTCGGATATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTCCT
TCGTGTCCGCATCCGTGGGCGGATAAGGTCATTATTACCTG
TAGAGCGTCCCAGGACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTAC
CAGCAGAAGCCAGGCTTGGCTCCTCAACTGCTGATCTCCG
GCGCCAGCACTCTTCAGGGGGGAAGTGCCATCACGCTTCTC
CGGATCCGGTTCCGGCACCCGACTTCAACCCTGACCATCAGC
AGCCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCCACTTACTACTGCCAAC
AGGCCAAGTACTTCCCCCTATACCTTCGGACAAGGCCACTAA
GCTGGAAATCAAG

配列番号142は、CD22特異的バインダ（scFv15）16P3v2のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKHSQTL SLACAI SGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPQDALDIWGQGTMVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSFVSASVGDKVIIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPG LAPQL LISGASTLQGEVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGT
KLEIK

配列番号143は、CD22 CAR LTG2217（LP-scFv15-CD8T M-41BB-CD3ゼータ）の核酸配列である：

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTG
CCCCATCCGGCTTTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGC
AGCAGTCCGGTCTTGGA CTGGTCAAGCACTCCCAGACTCT
GAGCCTGGCCTGCGCGATTAGCGGGGACTCAGTCTCGTCC
AATTCGGCGGGCCTGGA ACTGGATCCGGCAGTCACCATCAA
GGGGCCTGGAATGGCTCGGGGCGCACTTACTACCGGTCCAA
ATGGGTATAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGTCCCGGATC
ACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAGTTCTCACTCC
AACTGAACAGCGTGACCCCCGAGGATACCGCGGGTGTACTA
CTGCGCACAAAGAGTGCAGCCGCGCAGGACGCCCTGGACATT
TGGGGGCGAGGGAACGATGGTCAACAGTGTCTCGTCCGGTGGAG
GAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGGA
TATCCAGATGACCCAGAGCCCTCCTTCGTGTCCGCATCC
GTGGGCGGATAAGGTCATTATTACCTGTAGAGCGTCCCAGG
ACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
CTTGGCTCCTCAACTGCTGATCTCCGGCGCCAGCACTCTT
CAGGGGGGAAGTGCCATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCCG
GCACCGACTTCAACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGA
GGACTTCGCCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTC
CCCTATACCTTCGGACAAGGCCACTAAGCTGGAAATCAAGG
CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGCGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCTGGTTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCGCGGAAGAAGCTGCTTT

10

20

30

40

50

ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCCCGTGCGAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCGAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGGCCAGAAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCAACGGCGGAAAAACCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACG
ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCTTGCGATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

10

配列番号144は、CD22 CAR LTG2217 (LP-scfv15-CD8T
M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCCLPHPAFLLIPIQVQLQQSGPGLVKHSQT
LSLACAIISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVQPQDALDIWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSFVSASVGDKVIITCRASQDVSGWLAWEYQQKP
GLAPQLLISGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCSGRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVLDRGRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

20

配列番号145は、scfv15 (16P3v2) LCDR1のアミノ酸配列である：
QDVSGW

配列番号146は、scfv15 (16P3v2) LCDR2のアミノ酸配列である：
GAS

30

配列番号147は、scfv15 (16P3v2) LCDR3のアミノ酸配列である：
QQAKYFPYT

配列番号148は、scfv15 (16P3v2) HCDR1のアミノ酸配列である：
GDSVSSNSAA

配列番号149は、scfv15 (16P3v2) HCDR2のアミノ酸配列である：
TYYRSKWYN

配列番号150は、scfv15 (16P3v2) HCDR3のアミノ酸配列である：
AQEVQPQDALDI

配列番号151は、CD22 特異的バインダ (scfv16) 16P8の核酸配列であ
る：

40

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAG
CCCTCGCAGACCCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGG
ACAGTGCTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAACCTGGATCAG
GCAGTCCCATCGAGAGGCCTTGAGTGGCTGGGAAGGACA
TACTACAGGTCCAAGTGGTATACTGATTATGCAGTATCTG
TGAAAAATCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAA
TCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGAC
ACGGCTGTGTATTACTGTGCCCAAGAGGTAGAACCTCAGG
ATGCTTTTGTATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAACGT
CTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGCGGTGGAGGTAGCGGT

50

GGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTT
CCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAAAGTCACCATCACTTG
TCGGGCGAGTCAGGATGTTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTAT
CAGCAGAAACCAGGGCTAGCCCCCTCAGCTCCTGATCTTTG
GTGCATCCACTTTGCAAGGTGAAGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTCACCATCAGT
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAATATTTCCCTTACACTTTTGGCCGGGGGACCAA
GCTGGAAATCAAA

配列番号152は、CD22特異的バインダ（scFv16）16P8のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYTDYAVSVKNRITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPQDAFDIWGQGTMVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPG LAPQLLIFGASTLQGEVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGRGT
KLEIK

配列番号153は、CD22 CAR LTG2218（LP-scFv16-CD8T
M-41BB-CD3ゼータ）の核酸配列である：

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTG
CCCCATCCGGCTTTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGC
AGCAGTCCGGTCCTGGACTGGTCAAGCCGTCCTCAGACTCT
GAGCCTGACTTGCGCAATTAGCGGGGACTCAGTCTCGTCC
AATTCGGCGGCCTGGAACCTGGATCCGGCAGTCACCATCAA
GGGGCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAA
ATGGTATACCGACTACGCCGTGTCCGTGAAGAATCGGATC
ACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAGTTCTCACTCC
AACTGAACAGCGTGACCCCCGAGGATACCGCGGTGTACTA
CTGCGCACAAAGAAGTGGAACCGCAGGACGCCTTCGACATT
TGGGGACAGGGAACGATGGTCAACAGTGTCTCGGTGGAG
GAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGA
TATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTCCTCGGTGTCCGCATCC
GTGGGCGATAAGGTCAACCATTAACCTGTAGAGCGTCCCAGG
ACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
CTTGGCTCCTCAACTGCTGATCTTTCGGCGCCAGCACTCTT
CAGGGGGGAAGTGCCATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCCG
GCACCGACTTCAACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGA
GGACTTCGCCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTC
CCCTATACCTTCGGAAGAGGCACTAAGCTGGAAATCAAGG
CGGCCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCGGCCCGGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGCTGCTGGTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGCCCGTGCGAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT

10

20

30

40

50

CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCACGGCGGAAAAACCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAAG
ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号154は、CD22 CAR LTG2218 (LP-s c F v 16-CD8T
M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCLELPHPAFLILIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYTDYAVSVKNRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVEPQDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKEYFPYTFGRGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNG
LYNELNLGRREEYDVLDRGRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

配列番号155は、s c F v 16 (16P8) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

配列番号156は、s c F v 16 (16P8) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号157は、s c F v 16 (16P8) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKEYFPYT

配列番号158は、s c F v 16 (16P8) HCDR1のアミノ酸配列である：

GDSVSSNSAA

配列番号159は、s c F v 16 (16P8) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYT

配列番号160は、s c F v 16 (16P8) HCDR3のアミノ酸配列である：

AQEVEPQDAFDI

配列番号161は、CD22 特異的バインダ (s c F v 17) 16P13の核酸配列で
ある：

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAG
CCCTCGCAGACCCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCAGGGA
ACAGTGCTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAAGTGGATCAG
GCAGTCCCCATCGAGAGGCGCTTGAGTGGCTGGGAAGGACA
TACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTG
TGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAA
CCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGGAC
ACGGCTGTGTATTACTGTGCCCAAGAGGTAGAACCTCAAG
ATGCTTTTGTATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAACCGT
CTCTTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGCGGTGGAGGTAGCGGT
GGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTT
CCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAAAGTCAACCATCACTTG
TCGGGCGAGTCAGGATGTTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTAT
CAGCAGAAACCAGGGCTAGCCCTCAGCTCCTGATCTTTG

GTGCATCCACTTTTGCAAGGTGAAGTCCCATCAAGATTTCAG
CGGCGGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAATATTTCCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAA
GCTGGAAATCAAA

配列番号162は、CD22特異的バインダ（scFv17）16P13のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGNSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRIITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVPEQDAFDIWGQGTMTVT
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPG LAPQLLIFGASTLQGEVPSRF
SGGGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGT
KLEIK

10

配列番号163は、CD22 CAR LTG2219（LP-scFv17-CD8TM-41BB-CD3ゼータ）の核酸配列である：

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTG
CCCCATCCGGCTTTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCGAGCTGC
AGCAGTCCGGTCTTGGAAGTGGTCAAGCCGTCCCAGACTCT
GAGCCTGACTTGCGCCATTAGCGGGAAGTCAAGTCTCGTCC
AATTCGGCGGCCTGGAAGTGGATCCGGCAGTCAACCATCAA
GGGGCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAA
ATGGGTATAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGTCCCGGATC
ACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAAGTTCTCACTCC
AACTGAACAGCGTGACCCCGAGGATACCGCGGTGTACTA
CTGCGCACAAAGAAGTGGAAACCGCAGGACGCCCTTCGACATT
TGGGGACAGGGAACGATGGTCAACAGTGTCTCGTCCGGTGGAG
GAGGTTCGGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCGGA
TATCCAGATGACCCAGAGCCCTCCTCGGTGTCCGCATCC
GTGGGCGGATAAGGTCAACCATTAACCTGTAGAGCGTCCCAGG
ACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
CTTGGCTCCTCAACTGCTGATCTTTGGCGCCAGCACTCTT
CAGGGGGAGGTGCCATCACGCTTCTCCGGAGGTGGTTCCG
GCACCGACTTCAACCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGA
GGACTTCGCCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTC
CCCTATACCTTCGGACAAGGCCACTAAGCTGGAAATCAAGG
CGGCCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCGGCCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGGCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCTGGTTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTATGCGGCCCGTGCAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCAACGGCGGAAAAACCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA

20

30

40

50

ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGGTCAACG
ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCACCCCGG

配列番号164は、CD22 CAR LTG2219 (LP-s c F v 17-CD8 T M-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFL LIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGNSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVEPQDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGGGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCS CRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQ
LYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

10

配列番号165は、s c F v 17 (16P13) LCDR1のアミノ酸配列である：

QDVSGW

20

配列番号166は、s c F v 17 (16P13) LCDR2のアミノ酸配列である：

GAS

配列番号167は、s c F v 17 (16P13) LCDR3のアミノ酸配列である：

QQAKEYFPYT

配列番号168は、s c F v 17 (16P13) HCDR1のアミノ酸配列である：

GNSVSSNSAA

配列番号169は、s c F v 17 (16P13) HCDR2のアミノ酸配列である：

TYYRSKWYN

配列番号170は、s c F v 17 (16P13) HCDR3のアミノ酸配列である：

AQEVEPQDAFDI

30

配列番号171は、CD22 特異的バインダ (s c F v 18) 16P15の核酸配列である：

CAGGTACAGCTGCAGCAGTCAGGTCCAGGACTGGTGAAG
CCCTCGCAGACCCTCTCACTCACCTGTGCCATCTCCGGGG
ACAGTGCTCTCTAGCAACAGTGCTGCTTGGAACCTGGATCAG
GCAGTCCCATCGAGAGGCTTGAGTGGCTGGGAAGGACA
TACTACAGGTCCAAGTGGTATAATGATTATGCAGTATCTG
TGAAAAGTCGAATAACCATCAACCCAGACACATCCAAGAA
CCAGTTCTCCCTGCAGCTGAACTCTGTGACTCCCGAGGAC
ACGGCTGTGTATTACTGTGCCCAAGAGGTAGAACCTCATG
ATGCTCTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCAACCGT
CTCTTCAGGAGGTGGCGGGTCTGGCGGTGGAGGTAGCGGT
GGTGGCGGATCCGACATCCAGATGACGCACTCTCCATCAT
CCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAAAGTCACCATCACTTG
TCGGGCGAGTCAGGATGTTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTAT
CAACAGAAACCAGGGCTAGCCCCCTCAGCTCCTGATCTTTG
GTGCATCCACTTTGCAAGGTGAAGTCCCATCAAGGTTTCAG
CGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTTACTCTCACCATCAGC
AGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGCACTTATTATTGTCAAC
AGGCTAAATATTTCCCTTACACTTTTGGCCAGGGGACCAA

40

50

GCTGGAGATCAAA

配列番号172は、CD22特異的バインダ（scFv18）16P15のアミノ酸配列である：

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAWNWI
RQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYNDYAVSVKSRIITINPDTSK
NQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAQEVEPHDALDIWGQGTMTV
VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDKVTIT
CRASQDVSGWLAWYQQKPG LAPQLLIFGASTLQGEVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQAKEYFPYTFGQGT
KLEIK

10

配列番号173は、CD22 CAR LTG2220（LP-scFv18-CD8T
M-41BB-CD3ゼータ）の核酸配列である：

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTG
CCCCATCCGGCTTTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCGAGCTGC
AGCAGTCCGGTCTTGGA CTGGTCAAGCCGTCCCAGACTCT
GAGCCTGACTTGCGCGGATTAGCGGGGACTCAGTCTCGTCC
AATTCGGCGGGCCTGGA ACTGGATCCGGCAGTCACCATCAA
GGGGCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAA
ATGGGTATAACGACTACGCCGTGTCCGTGAAGTCCCGGATC
ACCATTAACCCCGACACCTCGAAGAACCAGTTCTCACTCC
AACTGAACAGCGTGACCCCGAGGATACCGCGGGTGTACTA
CTGCGCACAAAGAA GTGGAACCGCACGACGCCCTGGACATT
TGGGGGTCAGGGGAACGATGGTCAACAGTGTCTCGTCCGGTGGAG
GAGGTTCCGGAGGCGGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGGA
TATCCAGATGACCCAGAGCCCTCCTCGGTGTCCGCATCC
GTGGGCGGATAAGGTCAACCATTAACCTGTAGAGCGTCCCAGG
ACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG
CTTGGGCTCCTCAACTGCTGATCTTCGGCGCCAGCACACTT
CAGGGGGGAGGTGCCATCACGCTTCTCCGGATCCGGGTTCGG
GCACCGACTTCAACCCTGACCATCAGCAGCCTCCAGCCTGA
GGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAGTACTTTC
CCCTATACCTTCGGACAAGGCACTAAGCTGGAAATCAAGG
CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCGCCGGCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTTGGGGCCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCGCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTATGCGGCCCGGTGCAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCACGGCGGAAAAACCCCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGGTCACG
ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCTTG CATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

20

30

40

配列番号174は、CD22 CAR LTG2220（LP-scFv18-CD8T

50

M-41BB-CD3ゼータ)のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCLELPHPAFLLIIPQVQLQQSGPGLVKPSQT
LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAQEVEPHDALDIWGGQGTMTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGS
DIQMTQSPSSVSASVGDKVTITCRASQDVSGWLAWYQQKP
GLAPQLLIFGASTLQGEVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCQQAKYFPYTFGQGTKLEIKAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNK
LYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

10

配列番号175は、scFv18(16P15)LCDR1のアミノ酸配列である：
QDVSGW

配列番号176は、scFv18(16P15)LCDR2のアミノ酸配列である：
GAS

配列番号177は、scFv18(16P15)LCDR3のアミノ酸配列である：
QQAKYFPYT

20

配列番号178は、scFv18(16P15)HCDR1のアミノ酸配列である：
GDSVSSNSAA

配列番号179は、scFv18(16P15)HCDR2のアミノ酸配列である：
TYYRSKWYN

配列番号180は、scFv18(16P15)HCDR3のアミノ酸配列である：
AQEVEPHDALDI

配列番号181は、DNA CD8膜貫通ドメインのヌクレオチド配列である：
ATTTGGGGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTG
CTGTCGCTGGTCATCACCCCTTTACTGC

配列番号182は、CD8膜貫通ドメインのアミノ酸配列である：

30

IWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

配列番号183は、DNA CD8ヒンジドメインのヌクレオチド配列である：

ACTACCAACCCCTGCCCTCGGGCCGCGGACTCCGGGCCCA
ACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCCGAAGCTT
GCCGCCCGGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCT
GGACTTTGCTGCGATATCTAC

配列番号184は、CD8ヒンジドメインのアミノ酸配列である：

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG
LDFACDIY

配列番号185は、CD8アルファのアミノ酸番号137～206のヒンジおよび膜貫通領域のアミノ酸配列である(NCBI RefSeq: NP_001759.3)：

40

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG
LDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC

配列番号186は、4-1BBのDNAシグナル伝達ドメインのヌクレオチド配列である：

AAGAGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAG
CCGTTTCATGCGGGCCCGTGCGAGACGACTCAGGAAGAGGACG
GATGCTCGTGCGAGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATG
CGAAGCTG

配列番号187は、4-1BBのシグナル伝達ドメインのアミノ酸配列である：

50

K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G G
C E L

配列番号188は、CD3-ゼータのDNAシグナル伝達ドメインのヌクレオチド配列である：

C G C G T C A A G T T C T C A C G G T C C G C C G A C G C C C C C G C A T A T
C A A C A G G G C C A G A A T C A G C T C T A C A A C G A G C T G A A C C T G G
G A A G G A G A G A G G A G T A C G A C G T G C T G G A C A A G C G A C G C G G
A C G C G A C C C G G A G A T G G G G G G G A A A C C A C G G C G G A A A A A C
C C T C A G G A A G G A C T G T A C A A C G A A C T C C A G A A A G A C A A G A
T G G C G G A A G C C T A C T C A G A A A T C G G G A T G A A G G G A G A G C G
G A G G A G G G G A A A G G G T C A C G A C G G G C T G T A C C A G G G A C T G
A G C A C C G C C A C T A A G G A T A C C T A C G A T G C C T T G C A T A T G C
A A G C A C T C C C A C C C C G G

10

配列番号189は、CD3ゼータのアミノ酸配列である：

R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R
G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E
R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R

配列番号190は、リーダー／シグナルペプチド配列（LP）のヌクレオチド配列である：

A T G C T G C T G C T G G T G A C C A G C C T G C T G C T G T G C G A A C T G
C C G C A T C C G G C G T T T C T G C T G A T T C C G

20

配列番号191は、リーダー／シグナルペプチド配列（LP）のアミノ酸配列である：

M L L L V T S L L L C E L P H P A F L L I P

配列番号192は、ScFv CD19（FMC63）のヌクレオチド配列である：

G A C A T T C A G A T G A C T C A G A C C A C C T C T T C C T T G T C C G C G
T C A C T G G G A G A C A G A G T G A C C A T C T C G T G T C G C G C A A G C C
A G G A T A T C T C C A A G T A C C T G A A C T G G T A C C A A C A G A A G C C
C G A C G G G A C T G T G A A G C T G C T G A T C T A C C A C A C C T C A C G C
C T G C A C A G C G G A G T G C C A A G C A G A T T C T C C G G C T C C G G C T
C G G G A A C C G A T T A C T C G C T T A C C A T T A G C A A C C T C G A G C A
G G A G G A C A T C G C T A C C T A C T T C T G C C A G C A A G G A A A T A C C
C T G C C C T A C A C C T T C G G C G G A G G A A C C A A A T T G G A A A T C A
C C G G C G G A G G A G G C T C C G G G G G A G G A G G T T C C G G G G G C G G
G G G T T C C G A A G T G A A G C T C C A G G A G T C C G G C C C C G G C C T G
G T G G C G C C G T C G C A A T C A C T C T C T G T G A C C T G T A C C G T G T
C G G G A G T G T C C C T G C C T G A T T A C G G C G T G A G C T G G A T T C G
G C A G C C G C C G C G G A A G G G C C T G G A A T G G C T G G G T G T C A T C
T G G G G A T C C G A G A C T A C C T A C T A C A A C T C G G C C C T G A A G T
C C C G C C T G A C T A T C A T C A A A G A C A A C T C G A A G T C C C A G G T
C T T T C T G A A G A T G A A C T C C C T G C A A A C T G A C G A C A C C G C C
A T C T A T T A C T G T G C T A A G C A C T A C T A C G G T G G A A G C T
A T G C T A T G G A C T A C T G G G G G C A A G G C A C T T C G G T G A C T G T
G T C A A G C

30

40

配列番号193は、ScFv CD19（FMC63）のアミノ酸配列である：

D I Q M T Q T T S S L S A S L G D R V T I S C R A S Q D I S K Y L N W Y Q Q K
P D G T V K L L I Y H T S R L H S G V P S R F S G S G S G T D Y S L T I S N L E
Q E D I A T Y F C Q Q G N T L P Y T F G G G T K L E I T G G G G S G G G G S G G
G G S E V K L Q E S G P G L V A P S Q S L S V T C T V S G V S L P D Y G V S W I
R Q P P R K G L E W L G V I W G S E T T Y Y N S A L K S R L T I I K D N S K S Q
V F L K M N S L Q T D D T A I Y Y C A K H Y Y Y G G S Y A M D Y W G Q G T S V T

50

V S S

配列番号194は、1538 FMC63 CARヌクレオチド（LP-FMC63-CD8TM-41BB-CD3ゼータ）である：

```
ATGCTTCTCCTGGTCACCTCCCTGCTCCTCTGCGAACTG
CCTCACCCCTGCCTTCTTCTGATTCTGACATTCAGATGA
CTCAGACCACCTCTTCTTCTGTCGCGTCACTGGGAGACAG
AGTGACCATCTCGTGTCGCGCAAGCCAGGATATCTCCAAG
TACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCGACGGGACTGTGA
AGCTGCTGATCTACCACACCTCACGCCCTGCACAGCGGAGT
GCCAAGCAGATTCTCCGGCTCCGGCTCGGGAAACCGATTAC
TCGCTTACCATTAGCAACCTCGAGCAGGAGGACATCGCTA
CCTACTTCTTGCCAGCAAGGAAATACCCTGCCCTACACCTT
CGGCGGAGGAACCAAATTGGAAATCACCGGCGGAGGAGGC
TCCGGGGGGAGGAGGTTCGGGGGGCGGGGGTTCCGAAGTGA
AGCTCCAGGAGTCCGGCCCCCGGCCCTGGTGGCGCCGTCGCA
ATCACTCTCTGTGACCTGTACCGTGTCTGGGAGTGTCCCTG
CCTGATTACGGCGTGAGCTGGATTCTGGCAGCCGCGCGGA
AGGGCCTGGAATGGCTGGGTGTCTATCTGGGGATCCGAGAC
TACCTACTACAACCTCGGCCCTGAAGTCCCGCCTGACTATC
ATCAAAGACAACCTCGAAGTCCAGGTCTTTCTGAAGATGA
ACTCCCTGCAAACTGACGACACCGCCATCTATTACTGTGC
TAAGCACTACTACTACGGTGGAAAGCTATGCTATGGACTAC
TGGGGGGCAAGGCACTTCGGGTGACTGTGTCAAGCGCGGCCG
CAACTACCACCCCTGCCCTCGGCCCGCCGACTCCGGGCCCC
AACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCCGAAGCT
TGCCGCCCGGCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGGC
TGGACTTTTGCCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCCGCTGGC
CGGCACCTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCTGGTCAACCC
CTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGCTGCTTTACATCT
TCAAGCAGCCGTTTCATGCGGGCCCGTGCAGACGACTCAGGA
AGAGGACGGATGCTCGTGCGAGATTCCCTGAGGAGGAAGAG
GGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGTCCGCCG
ACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAA
CGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG
GACAAGCGACGCGGACGCGGACCCGGAGATGGGGGGGGAAC
CACGGCGGGA AAAACCTCAGGAAGGACTGTACAACGAAC
CCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAAATCGGG
ATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGACGGGC
TGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGA
TGCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG
```

10

20

30

40

配列番号195は、CD19特異的CAR LTG1538（scFv、FMC63）タンパク質（LP-FMC63-CD8TM-41BB-CD3ゼータ）のアミノ酸配列である：

```
MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIIPDIQMTQTTSSLSASLGD
RVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSG
VPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYT
FGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPS
QSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPrKGLEWLGVWIGSE
TTYYNsALKsRLTI IKDNsKsQVFLKMNSLQTDDTAIYYC
AKHYYYGGSYAMDYWGQGTsvTVSSAAATTTpAPRPPTPA
```

50

PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPL
 AGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQ
 EEDGCSCRFP EEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLY
 NELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNE
 LQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKDTY
 DALHMQALPPR

配列番号196は、CD22特異的CAR LTG2200 (scFv、m971 CARヌクレオチド (LP-m971-CD8TM-41BB-CD3ゼータ)) の核酸配列である：

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGCTGTGCGAGTTG
 CCACACCCCGCCTTCTGCTTATTTCCCCAGGTACAGCTCC
 AGCAGAGTGGCCCAAGGGCTCGTGAAAGCCAAGCCAGACGCT
 GTCCCTGACTTGTGCAATTTTCAGGGGATTTCAGTTTTCATCA
 AATAGCGCGGGCGTGGAATTGGATTTCGACAATCTCCTTCCC
 GAGGGTTTGGGAATGGCTTGGACGAACATATTACAGATCCAA
 ATGGGTATAACGACTATGCGGTATCAGTAAAGTCAAGAATA
 ACCATTAAACCCCGACACAAGCAAGAACCAATTCTCTTTTGC
 AGCTTAACCTCTGTCAAGCCAGAAAGACACGGCAGTCTATTA
 TTGCGCTCGCGAGGTAACGGGGTGACCTGGAAGACGCTTTT
 GACATTTTGGGGGCGAGGGTACGATGGTGACAGTCAAGTTCAG
 GGGGCGGTGGGAGTGGGGGAGGGGGTAGCGGGGGGGGGAGG
 GTCAGACATTCAGATGACCCAGTCCCCCTTCATCCTTGTCT
 GCCTCCGTCGGTGACAGGGTGACAATAACATGCAGAGCAA
 GCCAAACAATCTGGAGCTATCTCAACTGGTACCAGCAGCG
 ACCAGGAAAAGCGCCAAACCTGCTGATTTACGCTGCTTCC
 TCCCTCCAATCAGGCGTGCTTAGTAGATTTAGCGGTAGGG
 GCTCCGGCACCGATTTTACGCTCACTATAAGCTCTCTTTCA
 AGCAGAAGATTTTTCGCGACTTATTACTGCCAGCAGTCCCTAT
 AGTATACCTCAGACTTTTCGGACAGGGGTACCAAGTTGGAGA
 TTAAGGCGGGCCGCAACTACCACCCCTGCCCTCGGGCCGCC
 GACTCCGGGCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTG
 CGCCCCGAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGC
 ATACCCGGGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTTG
 GGCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGGCGTGCTCCTGCTGTCTG
 CTGGTTCATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAGC
 TGCTTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTTCATGCGGGCCCGTGCA
 GACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGAGATTCCCT
 GAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCT
 CACGGTCCGCGCAGCGCCCCCGCATATCAACAGGGGCCAGAA
 TCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAG
 TACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGA
 TGGGGGGGGAACCAACGGCGGGA AAAACCCCTCAGGAAGGACT
 GTACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTAC
 TCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGGAAGG
 GTCACGACGGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAA
 GGATACCTACGATGCCTTGCATATGCAAGCACTCCCACCC
 CGG

配列番号197は、LTG2200 CD22特異的 (specific) CAR (LP-m971scFv-CDTN-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQQSGPGLVKPSQT

10

20

30

40

50

LSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRS
KWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVY
YCAREVTGDLEDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQTIWSYLNWYQQ
RPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGRGSGTDFTLTISSL
QAEDFATYYCQQSYSIPQTFGQGTKEIKAAATTTTPAPRP
PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYI
WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV
QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQ
NQLYNEELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG
LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTAT
KDTYDALHMQALPPR

10

配列番号198は、メソテリン反応性scFv結合ドメイン(LTG1904)のヌクレオチド配列である：

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAG
CCTGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
TCACCTTTGATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGC
TCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGG
AATAGTGGTAGCATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCC
GATTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTA
TCTGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTG
TATTACTGTGCAAAAGATTTATCGTCAGTGGCTGGACCCT
TTAACTACTGGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCCTC
AGGAGGTGGCGGGTCTGGTGGAGGCGGTAGCGGCGGTGGC
GGATCCTCTTCTGAGCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTG
TGGCCTTGGGACAGACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGA
CAGCCTCAGAAGCTATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAG
CCAGGACAGGCCCTGTACTTGTCTATGGTAAAAACA
ACCGGCCCTCAGGGATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCAG
CTCAGGAAACACAGCTTCTCTTGACCATCACTGGGGCTCAG
GCGGAGGATGAGGCTGACTATTACTGTAACCTCCCGGGACA
GCAGTGGTAACCATCTGGTATTTCGGCGGAGGCACCCAGCT
GACCGTCTCTCGGT

20

30

配列番号199は、メソテリン反応性scFv結合ドメイン(LTG1904)のアミノ酸配列である：

EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQ
APGKGLEWVSGISWNSGSIQYADSVKGRFTISRDNANKNSL
YLQMNSLR AEDTALYYCAKDLSSVAGPFNYWGQGT LVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTVRITCQG
DSLRSYYASWYQQKPGQAPV LVIYGKNNRPSGIPDRFSGS
SSGNTASLTITGAQAED EADYYCNSRDSSGNHLVFGGGTQ
LTVLG

40

配列番号200は、メソテリン特異的CAR LTG1904(LP-LTG1904-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ)のヌクレオチド配列である：

ATGCTGCTGCTGGTGAC CAGCCTGCTGCTGTGCGAACTG
CCGCATCCGGCGTTTCTGCTGATTCCGGAGGTCCAGCTGG
TACAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGGTCCCT
GAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTTGATGAT
TATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTCCAGGGAAGGGCC
TGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAATAGTGGTAGCAT

50

AGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTCAACCATCTCC
AGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACA
GTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTACTGTGCAAA
AGATTTATCGTCAGTGGCTGGACCCTTTAACTACTGGGGC
CAGGGCACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGAGGTGGCGGGT
CTGGTGGAGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGATCCTCTTCTGA
GCTGACTCAGGACCCTGCTGTGTCTGTGGCCTTGGGACAG
ACAGTCAGGATCACATGCCAAGGAGACAGCCTCAGAAGCT
ATTATGCAAGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCC
TGTACTTTGTCACTATGGTAAAAACAACCGGCCCTCAGGG
ATCCCAGACCGATTCTCTGGCTCCAGCTCAGGAACACAG
CTTCCTTGACCATCACTGGGGCTCAGGCGGAGGATGAGGC
TGACTATTACTGTAACTCCCGGGACAGCAGTGGTAACCAT
CTGGTATTTCGGCGGAGGCAACCCAGCTGACCGTCTCGGTG
CGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGCGACTCC
GGCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTTGCGCCCC
GAAGCTTGCCGCCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTGCATACCC
GGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCC
GCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTCGCTGGTC
ATCACCCCTTTACTGCAAGAGGGGCCCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCCGTTTCAATGCGGCCCGTGACAGACGAC
TCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGACAGATTCCCTGAGGAG
GAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACGGT
CCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCT
CTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAC
GTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGG
GGAAACCACGGCGGAAAAACCCTCAGGAAGGACTGTACAA
CGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAA
ATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACAG
ACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATAC
CTACGATGCCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACCCCGG

10

20

30

配列番号201は、CAR LTG1904 (LP-LTG1904-CD8 TM-4
1BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPEVQLVQSGGGGLVQPGG
LRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGS
IGYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCA
KDLSSVAGPFNYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSS
ELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQA
PVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDE
ADYYCNSRDSSGNHLVFGGGTQLTVLGAAATTTTPAPRPPT
PAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA
PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQT
TQEEDGCSGRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNG
LYNELNLGRREEYDVLDRGRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY
NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKD
TYDALHMQALPPR

40

配列番号202は、CD33反応性一本鎖結合ドメインVH-4 (LTG1906) の
ヌクレオチド配列である：

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGGTACAG
CCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT

50

TCACCTTCAGTAGCTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAAGACAAGGGCTTGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAA
GATGGAAGTGAGAAATACTATGCGGACTCAGTGAAGGGCC
GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTA
TCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACAGCCACG
TATTACTGTGCGAAAGAAAATGTGGACTGGGGCCAGGGCA
CCCTGGTCACCGTCTCCTCA

配列番号203は、CD33反応性一本鎖結合ドメインVH-4 (LTG1906) のアミノ酸配列である：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQ
APRQGLEWVANIKQDGSEKYYADSVKGRFTISRDN SKNTL
YLQMNSLR AEDTATYYCAKENVDWGQGT LVT VSS

10

配列番号204は、CAR LTG1906 (LP-VH4-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ) のヌクレオチド配列である：

ATGCTGCTGCTGGTGACCAAGCCTGCTGCTGTGCGAACTG
CCGCATCCGGCGTTTCTGCTGATTCCGGAGGTGCAGCTGG
TGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGAGGGTCCCT
GAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGC
TATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAAGACAAGGGC
TTGAGTGGGTGGCCAACATAAAGCAAGATGGAAGTGAGAA
ATACTATGCGGACTCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCC
AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACA
GCCTGAGAGCCGAGGACACAGCCACGTATTACTGTGCGAA
AGAAAATGTGGACTGGGGGCCAGGGCACCCCTGGTCAACGTC
TCCTCAGCGGCCGCAACTACCAACCCCTGCCCTCGGCCGC
CGACTCCGGCCCCCAACCATCGCAAGCCAACCCCTCTCCTT
GCGCCCCCGAAGCTTGCCGCCCGGCCGCGGGTGGAGCCGTG
CATACCCGGGGGGCTGGACTTTGCCTGCGATATCTACATTT
GGGCCCCCGCTGGCCGGCACTTGCGGCGTGCTCCTGCTGTC
GCTGGTCAATCAACCTTTACTGCAAGAGGGGGCCGGAAGAAG
CTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCGTTTATGCGGCCCGTGTC
AGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAAGATTCCC
TGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTC
TCACGGTCCCGCCGACGCCCCCGCATATCAACAGGGGCCAGA
ATCAGCTCTACAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGA
GTACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGGACGCGACCCGGAG
ATGGGGGGGGAACCAACGGCGGGA AAAACCCCTCAGGAAGGAC
TGTAACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTA
CTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGGAAG
GGTCACGACGGGCTGTACCAGGGACTGAGCACCGCCACTA
AGGATACCTACGATGCCTTGCAATATGCAAGCACTCCCAACC
CCGG

20

30

40

配列番号205は、CAR LTG1906 (LP-VH4-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ) のアミノ酸配列である：

MLLLVTSLLLCELPHPAFL LIPEVQLVESGGGLVQPGGS
LRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPRQGLEWVANIKQDGSE
KYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLR AEDTATYYCA
KENVDWGQGT LVT VSSAAATTT PAPRPPTPAPT IASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLL
SLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF

50

PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE
 EYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
 YSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP
 PR

【図面】

【図 1】

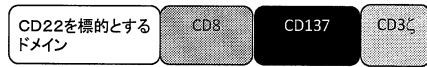


FIGURE 1

【図 2 A】

LTG2202: LP-16P-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号3)

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTACACACCCAGCA
 TTCTCTCTGATCCCAAGTACAACCTCCAGCAAGCGGGCTGGTCTGGT
 GAAGCCGTACAGACGCTTTCACTTACGTGTGCGATCTCCGTGACTCCGT
 GAGTTCTAATAGCGCGCTTGGAACTGGATTAGGCAGTCTCCATCCCGAG
 GATTGGAATGGCTCGGCGAGGACTTATTATAGAAAGTAAGTGGTACAACGAT
 TATGAGTCTCTGTGAAATCTCGCATCAACATTAACCCAGACACGCTTAAG
 AATCAGTTCACTCTTCAACTCAACTCTGTAAACCCCGAAGATACAGCGGT
 CTACTACTGTGCTCAGGAGGTGCAACCCACGATGCTTTGATATCTGGGG
 CCAGGGTACCATGGTTACGGTGTCTTCTGGGGGAGGGGGTCCGGTGGGG
 GAGGATCAGGGGTGGGGGACGACATACAAATGACGCAATCCCGTCT
 TTCTGTCTGCGCTGTGCGGAGATAAAGTAACAATAACCTGTGAGCGTC
 ACAGGACGTTAGTGGCTGGCTTGGTGTATCAGCAAAACCGGGCTCG
 CCCCACAATTGCTTATATTGGAGCGAGTACTCTTACGGGCGAGGTACCTA
 GCAGATTTTCTGGGTCCGGCTCAGGTACGGACTTACCCGTGACCATATCTA
 GCTTGACGCTGAAGATTTCGCCACTACTATTGTCAACAGGCGAAGAAC
 TTTCCATATACGTTCCGGCAGGTTACGAAATTGGAGATAAAAGCGGCCG
 AACTACCACCCCTGCCCTCGGCCGCCGACTCCGGCCCAACCATCGCAA
 GCCAACCCCTCTCTTGGCGCCCGAAGCTTCCCGCCCGCCCGGGTGA
 GCGTGCATACCCGGGGGTGGACTTTGCTTGCATATCTACATTTGGGCC
 CCGTGGCCCGCACTTGGCGGTGCTCTGCTGTCTGCTGCTATCACCTT
 TACTGCAAGAGGGGCCGGAAGAAGTGTCTTACATCTTCAAGCAGCCGT
 CATGCGGCCGTGACAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCTGTCAGA
 TTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACG
 GTCCGCCGACGCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACG
 AGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACG
 CGGACGCGACCCGAGATGGGGGGAACACGCGCGGAAAAACCTCAG
 GAAGGACTGTACAACGAATCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACT
 CAGAAATCGGGATGAAGGAGAGCGGAGGAGGGAAGGGTACGACG
 GGCTGTACAGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCTT
 CATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2202: LP-16P-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号4)

MLLLVTSLLCELPHAFLLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSN
 SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYSKWNNDYAVSVKSRITNPDTSKNQFSL
 QLSVTPEDTAVYYCAQEVPHDAFDIWGGTMTVTVSSGGSGGGSGSGG
 GSDIQMTQSPSSVSASVGDVITCRASQDVSGWLAWYQKPLAPQLLF
 GASTLQGEVPSRFSGSGGIDFTLTISLQPEDFATYYCQAKNPFYTFGQGT
 KLEIKAAATTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI
 YIWAPLAGTCVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGSCS
 RFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRR
 GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGL
 YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2A

10

20

30

40

50

【図 2 B】

LTG2246: LP-24P-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号13)

ATGCTGCTGTGTGGTACATCACTTCTGCTCTGTGAACATCCCCATCCAGCC
TTTCTGCTTATACCCGAAGTACAGCTGCAACAATCTGGCCCTGGGCTTGTG
AAACCCCTCTACAGCTTTGTCTTGTACCTGCGCGATAGTGGCGATTCAAGT
AGTTCTAACACGCCCGCTTGGAACTGGATTAGACAGAGCCCCAGTCCGGG
ACTCGAATGGCTTGGCCGAGCTTATTATCCGAGTAAATGGTATAAATGATTA
TGCTGTGAGTGTGAAAGTAGGATCACAAATCAACCCCGATACGAGCAAGA
ATCAATTTCTCAATTGCAACTGAACAGCGCTACTCCGAGGATACAGCTGTA
TATTATTGTGCAAGAGAAGGTGGGTGGTATGGCGAGATGGATGTATGCGGG
GAAAGGAACACGGTAACTGTGTCCAGTGGCGAGGCGGTTCAAGTGTGTG
GAGGCTCTGGAGGAGGAGGTTCCGAATCTGTCTTACCCAGTCTCCGGCT
ACTCTGAGCGTTAGTCCGGGTGAAAGGGCTCACTCTCTTGTGAGCTTCA
CAGTCAGTCTCTTCTACTTGTGCTTGGTATCAGCAGAAGCCAGGTCAAGC
GCCCGCTTGTCAATTACGACGCAAGCACAGGAGCAGGACATCCAG
ACAGATTTTCTGTTTCTGTTTCTGGCAGCGACTTACTCTTACTATAAACT
CACTTGAGGACAGGATGCTGCGACTTACTATTGTACCAATCAAGCTCT
CTGCCCTTACACCTTTGGGCAAGGCCAACAACTCGAAATCAAGGTTACGGT
ATCATCTGCGGCGCAACTACCCAGCTGCTCCCTCGGCCCGGAGCTTGGCCGC
CCCAACCATCGAAGCCAAACCCCTCTCTCTTGGCCCGGAGCTTGGCCGC
CGGCCGCGGTGGAGCCGCTGATACCCGGGGGCTGGACTTTGCTCTGCAT
ATCTACATTTGGCCCGCTGCGCGGCACTTGGCGGTGCTCTGCTGTGCTG
CTGCTCATCACCTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTTACAT
CTTCAAGCAGCCGTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTTACAT
GTGCTCGTGCAGATTCTCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAATCTGCG
CGTCAAGTCTTCAAGTCTCGCCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGA
GTAGTCTCGTGCAGATTCTCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAATCTGCG
CGTCAAGTCTTCAAGTCTCGCCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGA
GTAGTCTTCAACAGGAGTGAACCTTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGT
GCTTGGACAAGCGAGCGGACGCCAGCCGAGATGGGGGGGAAACACCGG
CGGAAAAACCCCTCAGGAAGGAGTGTATCAACGAATCCAGAAAGACAGA
TGGCGGAAGCTCTCAGAAATCTGGGATGAAGGAGAGCGGAGGAGGGG
AAAGGGTCAACGAGCGGCTGTACACGGGACTGACACCGCCACTAAGGAT
ACCTACGATGCTTGCATATGCAAGCACTCCCAACCCCG

LTG2246: LP-24P-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号14)

MLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSN
SAAWNWIQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVVYCCAREGGWYGMEDVVGKGTITVYSSGGGSGGGGSG
GGSEIVLTQSPATLSVSPGRRASLSCRASQSVSSYLAWYQKQGPAPRLLIY
DASTRATIGPQSFATLTLINSLEAEDAATYVCHQSSSLPYTFGGQTK
LEIKVTSWAAATTPAPRPTTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDF
ACDIYIWAFLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEDG
GCSRCFPEEBGGCELRLVKFSRSADAPAYQQGQNLQYNELNLRREYDVL
DKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKH
DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2B

【図 2 D】

LTG2248: LP-11s-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号33)

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCCTTCTGCTCTGTGAGTTACCAACCCAGCA
TTCTCTCTGATCCCAAGTCCAGTTGCAACAGTCCGGGCGAGGTCTGGTT
AAGCCATCCCAAACTGTGAGTTTGTAGCTGCGCTATTAGCGGAGCAAGT
GTCCAGCAATTCTGCAACCTTGGAAATGGATCCGGCAGAGTCCGAGTGGCG
GTTTGGAAATGGCTTGGCAGCACTTACTACGAGCAAAATGGTACGATGAT
TATGCTGTTCTGTGGGCTCTCGAATCACCATGAATCCTGATACCTTCTAAG
AACCAATTTTCTTGCAGTTGAATCCGTGACGCGTGAAGATACTGCGGTC
TACTATTGGCGACCGGAAGCGGTAGCGCGGATTTTGAATCTGGGCGCA
AGGAACATTTGGTACAGGTCTCTCTGTGGAGGAGGATCAGGAGGCGCGG
GGTTCAGTGTGGAGGTGGGAGGATTTCAACTTACGAGTCTCCGAGCAG
TCTTCTGCTTCTGTGGGAGACCGAGTACGATTAATCTGTAGGGCATCTCA
GTCAATAAGTCTTCACTTAACTGGTATCAGCAGAAGCGTGAAGAGGCTC
CAAAACTCTTATTATTCGCGCATCTCTATTGCAATCCGGCGTGCGCTTCC
GATTTTCCGATCTTGGTCAAGCCACTTACCTTACCTTGAATTAAGTTTCC
TTCAACCAAGAAATTTTGTACCTATTACTGCCAACATCATACAGTACCC
CATATACATTCCGCGCAAGCGACGAAATTTGAGATTAAGCGCGCGCAACT
ACCACCCCTGCGGCTCGGCCCGGCACTCGGCCCAACCATCGCAAGCG
ACCCCTCTCTTGGCGCCGAGCTTGGCGCCCGGCGCGGTGGAGCGC
TGCTATACCCGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTTGGGCGCCG
TGGCGCGCACTTGGCGGCTGCTCTGCTGTGCTGGTCAATCACCTTTACT
GCAAGAGGGGCGGGAAGAAGTGTCTTACATCTTCAAGCAGCGGTTCATG
CGGCCGTGACAGGACTAGGAAGAGGACGAGTGTCTGTGAGATTTCC
TGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGGTCAAGTCTTCAAGGCTC
CGCGACGCGCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAGCT
GAACCTTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACCGGGA
CGCGACCCGAGATGGGGGGGAAACACCGCGGGAAGAAACCCCTCAGGAAG
GACTGTACAACGAATCCAGAAAGACAGATGGCGGAAGCCTACTCAGA
AATCGGGATGAAGGAGGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGAGCGGT
GTACAGGAGTACGACACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCTTGCAT
TGCAAGCATCTCCACCCCGG

LTG2248: LP-11s-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号34)

MLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSATW
NWIQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVRSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTP
DFAVYCCAREGVAGDFDYWGGTGLTVYSSGGGSGGGGSGGGGSDIQLTQSPSSLS
ASVGDRTVITCRASQSSISYLNWYQKQGPAPRLLIYDASTRATIGPQSFATLTLINS
LEAEDAATYVCHQSSSLPYTFGGQTKLEIKVTSWAAATTPAPRPTTAPTIASQPL
SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLL
YIFKQPFMRPVQTTQEDGCSRCFPEEBGGCELRLVKFSRSADAPAYQQGQNLQYNE
LNLRREYDVLDKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKG
ERRRGKHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2D

【図 2 C】

LTG2247: LP-25P-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号23)

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCCTTCTGCTCTGTGAGTTACCAACCCAGCA
TTCTCTCTGATCCCAAGTACAGTCCAAACAGAGTGGAGCTGGTCTCGTT
AAGCCGTCCCAAACTGTGTTTGTGAGCTGCGCTATTAGTGGCGACAGCT
ATCATCCAATTCTGCTGCTTGGAACTGGATTAGACAGTACCGTCCAGAG
GCTTGGAAATGGTGGGAGGAGTACTACCGCTCAAAATGGTATAACGAT
TACCGGTTAGTGTCAAATCCAGGATTACCATTAAACCTGACACAAGTAA
GAATCAGTTTCTCTTCACTGCTGAATCCCTGACTCTGAGGATACCGCCGT
TTACTACTGTGCCCCAGAACACCAAGATGAGCGGCTTTTGATATTTGGG
GGCAAGGAACAATGGTACAGTTAGCAGTGGGGGGGGTGGCTCCGGGGG
AGGTGTTTCCGGCGCGGTGGTTCTCAATCCGTCTGTGACACAACCTCCCT
AGCGAGCGGAGTCCCGGTCAAGAGGTGAGCATCTCTTGTCTGGGGGAG
GTAGTAACATCGGGAACAATCTCGCTCTGGTATCAGCAACTCCCTGGG
ACCGCTCCCAAGTTGTGATATATCGCAATACGCAACGAGTCTAGTGGAT
ACCTGATAGATTACGCGGAAGCAAAAGTGGTACGAGTGGCTCTTGGCA
TATCTGGCTCCAGTCCGAGGACGAAGCGGATTACTATTGTGCGGCTGG
GATGACTCACTGAATGGTTATGTGTTGCGTGCAGGTACTCAACTACCGTA
CTTGTGCGGCGCAACTACACCCCTCTCTTGTGCGCCCGAAGCTTGGCGGCC
GGCGCGGGTGGAGCCGTGATACCCGGGGGCTGCACTTTGCGGTGAGTAT
TCTACATTTGGGCCCGCTGGCGGCACTTGGCGGTGCTCTGCTGTGCTG
TGCTCATCACCTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTACATC
TTCAAGCAGCGGTTATGCGGCGCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGG
GTCAAGTCTCACGGTCCGCGACGCCCGCCCATATCAACAGGGCCAGAA
TAGCTTCAACAGAGTGAACCTGGGAAGAGGGGGGATGCGAAGTCTGCG
CTGGAACAGCAGCGGACGCGACCGCGAGATGGGGGGGAAACACCGC
GGAAAAACCCCTCAGGAAGGAGTGTACAAAGCACTCCAGAAAGCAAGAT
GGCGGAAGCTACTCAGAAATCGGGATGAAGGAGAGCGGAGGAGGGGA
AAGGTTACGACGCGGTGTACCAAGGAGTACGACCCGCACTAAGGATA
CTACGATGCTTGCATATGCAAGCACTCCCAACCCCG

LTG2247: LP-25P-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号24)

MLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSAAW
NWIQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSLTPED
TAVYYCCAREHQNAAFDIWGGTMTVTSSGGGSGGGGSGGGGSGSVLTQPPSAS
GTPGQRTVTSISGGGSGNIGTNTASWYQKPGTAPKLLIYRNTQSPGIPDRFSGSKSGT
SASLAIISGLQSEDEADYVCAAWDDSLNLYVGLTAVLGAATTTAPRPTTAP
TIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAGTCGVLLSLVITLYCKR
GRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEDGCSRCFPEEBGGCELRLVKFSRSADAPAYQQGQ
NLQYNELNLRREYDVLDKRRGRDPEMGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS
EIGMKGERRRGKHGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2C

【図 2 E】

LTG2249: LP-12S-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号43)

ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCCTTCTGCTCTGTGAGTTACCAACCCAGCA
TTCTCTCTGATCCCAAGTTCAGTTGACGAGAGTGGCCCTGGGCTTGT
AAACCATCACAGACGCTCTCACTGAGCTTGCCATCTCTGGAGAGCAAGT
AAGTTCTAACTACGCGCGTGGAAATGGATTAGACAACTACCAAGCCGGG
GACTTGAATGGCTTGGTGGAGTACTATAGATCTAAGTGGTATAATAGC
TACGAGTGTCAAGTGAATACCGGATAAACCATAAACCTTGACACAGCAA
AAACCAATTTCTCTTCACTTAACTCCGTACCGCCAGAAAGATACCGCGGT
TTACTACTGTGCGAGGGAAGGTGATGACGATTTGACATCTGGGGTCAAG
GGACCATGGTGTGCTTCTTCCGGCGGGGGGGTGTGTTGAGGGGGTGGC
TCAGGTGGTGGCGGTCAGATATACAAATGACACAGAGCCCTAGTATGT
GAGTGTTCAGTGGCGACCGGTAACTATAACCTGTAGAGCATCCCAAC
GCATTTCCTCACTTCTTAAATTTGGTACCAGAGAAGACCGGCGACGCGCC
AAACTCTGATCACCCTGCGAGCGGACTTGGTTCAGGTTCTTACGCG
GTTTGTGGGTGAGTACGCTGACAGTTTCACTCTCAGTATAAACTCCCT
TCAGCCTGAGGACCTGGCGCATATTACTGTCAACAATCTATACCAACCC
CACTGACATTCGGAGGGGCGCAAAAACCTGGAGATCAAAAGCGCGCAAC
TACCAACCCCTGCGGCTCGGCCCGGCACTCGGCCCAACCATCGCAAGCC
AACCCCTCTCTTGGCGCCGGAAGCTTGGCGCGCGCGGGTGGAGCC
GTGCATACCCGGGGGCTGGACTTGGCTGCGATATCTACATTTGGGCGCCG
CTGGCGGCACTTGGCGGCTGCTCTGCTGTGCTGTGCTTACCTTACCTCCCT
TGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGTGTCTTACATCTTCAAGCAGCGGTTCAT
CGCGCGCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGAGTGTCTGTGAGATTTCT
CTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGCAACTGCGGCTCAAGTTCTACGCTC
CGCGCGCGCGCGCATATCAACAGGGGCGAGAATCAGCTCTACAACGAGC
TGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACGCGG
ACCGACCCGAGATGGGGGGGAAACACCGCGGGAAGAAACCCCTCAGGA
GGACTGTACAACGAATCTCAGAAAGACAAAGATGGCGGAAGGCTACTCAG
AAATCGGGATGAAGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGAGCGG
GTACAGGAGTACGACACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCTTGCAT
ATGCAAGCACTCCCAACCCCG

LTG2249: LP-12S-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号44)

MLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSN
SAAWNWIQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVVYCCAREGGDALDIWGGTMTVTSSGGGSGGGGSGGGG
SDIQTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQSSISHLNWYQKQPGTAPKLLITASG
LGSVPFRSFGSGSDITFLTLINSLEAEDAATYVCHQSSSLPYTFGGQTKLEIK
AAATTPAPRPTTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFL
AGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEDGCSRCFPEE
BGGCELRLVKFSRSADAPAYQQGQNLQYNELNLRREYDVLDKRRGRDPE
MGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKHGHDGLYQGLS
TATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2E

10

20

30

40

50

【図 2 F】

LTG2203: LP-16P3-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号53)

ATGTTGTTGCTTGTCACAAGCCTTCTTCTCTGTGTAGCTTCCGCACCCGGCTTTCCT
GCTGATCCCGCAGATACAGCTTTCAGCAGTCCGGCCCGGCTTGGTAAAGCCGTCC
CAAAACGCTTTCACCTACATCGCGCATCTCTGGTGATTCTGTGTATCCAACAGCG
CAGCATGGAAATGGATCCGCCAATCACCAAGTGAAGGCTTGGAGTGGTTGGGCC
GGACTTATTATCGAAGTAAGTGGTACAATGATTATGCAGTCTCAGTTAAATCCAG
GATCACTATTAACCCAGATACAAGTAAAAACCAGTTCTCATTTGCAACTTAATTCC
GTAACCTCCGGAGGACACTGCAGTATATTACTGCGCTCAGGAGGTGCAGCCTGAT
GATGCTCTGGACATTTTGGGGACAAGGCACGATGGTACAGGTTAGTTCGGGGGG
GGAGGTTCTGGCGGAGGTGGTAGTGGGGGGGGCGGCAGTGACATCCAGATGACA
CAGAGTCCCAGCAGCGTGTCTGCGTCAGTTCGGGGGATAAGTAAACAATTACGTT
AGAGCGAGCCAGGACGTTTCCGGGTGGCTGGCGTGGTACCAACAAAAACCCGGT
CTCGCTCCGCAGTTGCTCATCTCTGGAGCGTCCACCCTTCAGGAGAGGTGCTA
GCAGATTTTCTGGGTCTGGATCCGGCAGCGGATTTTACACTTACGATTTCCCTCTT
CAACCCGAAGATTTTGCTACTTACTATTGCCAGCAGGCCAAAAAATTTCCCGTACA
CGTTTGGACAGGGCAAAAAGTTGGAAATTAAGCGCGCCGCAACTACACCCCTG
CCCCCTCGCGCGGACTCCGGGCCCAACCATCGCAAGCCAAACCCCTCTCCTTGGC
CCCCGAAGCTTGGCGCCCGCGCGGTGGAGCCGTGCATACCCGGGGGTGGA
CTTTGCTTGCATATCTACATTTGGGCCCGCTGCGCGGCACCTTGGCGCGTGTCT
CTGCTGTGCTGGTCAATACCCCTTACTCTGAAGAGGGGCGGAAGAAGCTGCTTT
ACATCTTCAAGCAGCGTTCTATGCGGCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACG
GATGCTCTGTCAGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGATGCGAACTGCGCGTCA
AGTTCTCACCGTCCGCCGACGCCCGGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTA
CAACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGGATACGACGTGCTGGACAAGCGAC
CGCGACCGGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAACCCCTCAGGAA
GGAATGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCAGAAATC
GGGATGAAGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGACGGGCTGTACCAAGG
ACTGACACCCGCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGATATGCAAGCACTCCCA
CCCCGG

LTG2203: LP-16P3-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号54)

MLLVTSLLLCELPHPAFLLPQIQQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNS
AAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQNSV
TPEDTAVYYCAQEVQDDALDIWQGTMTVTSVSSGGSGGGSGGGSGDIQMTQS
PSSVSASVGDKVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLAPQLLISGASTLQGEVPSRFS
SGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQAKNFPYTFGQGTGLEIKAAATTPAPRPPTAP
TISLQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTGVLLLSLVITLYCKR
GRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSRPEPEEEGGCELVRVKFSRSADAPAYQQQG
NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS
EIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2F

【図 2 H】

LTG2205: LP-16P20-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号73)

ATGCTGCTCCTCGTAACCTCTCTCTCTTTGTGTAGTGGCCACATCCAGCAT
TCTTCTGATACCTCAAGTTCACCTCCAGCAGAGTGGTCCAGGTTTGGTAA
AACCCAGCCAGACCTCTCATTTGACGTGTGCCATATCAGGTTGATTCAGTTT
CCTCTAATAGCGCGCATGGAATTTGGATCAGCAAAAGCCCTAGTGCGGG
CTTGAGTGGCTCGGCCGACATCTACCCGTCAAAGTGGTACAACGACATA
CGCCGTCAGCGTAAATCTCCGATTAACCTTAAACCCGGATCTTCCAAA
ACCAATTTCTCCTGACGCTTAAACAGTGTACCGCCGGAAGATACGCCCGTT
TATTACTGCGCACAAGAGTGGAAACCCGACGACGCCCTCGATATCTGGGG
CAAAGGCACTATGTTGACCGTCAGTAGCGGAGGGGGGGTTCGGAGGA
GGCGGCTCTGTTGGCGGAGGATCTGATATCCAATGACCCAATCACCGTCT
TTCAGTATCAGCTCTGTGTGTGACAAAGTTACGATTACCTGTGCAAGCGTC
ACAGGACGTTTTCTGTTGGTGGCTTGGTATCAGCAAAAACAGCGGCTTG
CGCTCAGTTGCTTATTTTGGGGCATCTACTTTGACGGGAGAGGTGCCCT
CCCGGTTCTCCGGCAGTGGGAGCGGCACCGATTTTACACTTACCATCTCTT
CCTTGCAACCCGAAGACTTTGCGACGTACTATTGCCAGCAGGCAAGATAT
TTTCCCTACACTTTTGGACAAGGACTAAACTTGAAATCAAGGCGGCCG
AACTACCACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCCGGGCCCAACATCGCAA
GCCAACCCCTCTCTTGGCCGCCGAAGCTTCCCGCCCGCGCGGGTGGGA
GCCGTGCATACCGGGGGGTGAGACTTGTCTGCGATATCTACATTTGGGCG
CCGCTGGCCGGCACTTGGCGGCTGCTCTGCTGTGCTGTCTATCACCTTT
TACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGTGTCTTACTCTTCAAGCAGCCGTT
CATGCGGCCGTGCGACGACTACGGAAGAGGACGAGATGCTCTGTGCGA
TTCCTGAGGAGGAAGAGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCAG
GTCCGCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACG
AGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACG
CGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAACCCCTCAG
GAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACT
CAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGACG
GGCTGTACAGGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCCTG
CATATGCAAGCACTCCACCCCCG

LTG2205: LP-16P20-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号74)

MLLVTSLLLCELPHPAFLLPQVQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVPHDALDIWQGTMTVTSVSSGGSGGGSGGGSG
GGSDIQTQSPSSVSASVGDKVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLAPQLLIF
GASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
GLEIKAAATTPAPRPPTAPTHASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI
YIWAPLAGTGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSR
RPPEEEGGCELVRVKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSIGMKGERRRKGHDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2H

【図 2 G】

LTG2204: LP-16P16-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号63)

ATGCTGCTTTTGGTAACTTCCCTCCTTTTGTGCGAGCTGCCCATCCAGCG
TTCTCTCTCATCCCTCAAGTACAGTTGCAAGCAGTCAAGCAGTCCGCTTGTG
AAACCATCCCAAACCTCTCAGCCTCACGTGTGCTATTTCTGGTACTCAGTA
AGTAGCAATAGCGCTGCTTGGAACTGGATAGACAAATCTCCCTCCAGGGG
TCTCGAATGGCTGGGGCGAACCTATTACCGTACTAAATGGTATAACGATT
ATGCAGTATCCGTGAAATCCAGGATTACAATCAACCCAGATACGTTCAAG
AATCAATTTCTCTCTCAGCTCAACTCCGTAACCTCCAGAGGACATCGGTGA
TATTATTGCGCCCAAGAAGTCGAGCCACAGGATGCCCTCGATATCTGGGG
TCAAGGTACCATGGTTACAGTTAGTAGTGGGGGTGGGGGAAGCGGGGGG
GGTGGGTCCGCTGGCGGGGGTTCAGACATCAAGATGACCAATCCCCAAG
CTCTGTCTTCAAGCATCCGTGGGCGATAAAGTAAACCTATCATGCAGAGCGA
GTCAGGACGTTTCAGGGTGGCTGGCTTGGTACCAGCAAAAAACCCGGACTC
GCACCGCAGCTGTGTATTTTCGGCGCCAGTACGCTTCAGGGCGAAGTACC
TCTCAGGTTTCAGTGGGTGAGGTTCTGGCACCGGATTTACCGTACAGTATC
CAGTCTCCAACCGGAGGATTTTGCTACTTATTAATGTCAGCAGCGCTAAGTA
TTTTCCATACACATTTGGCCAGGGGACAAAGTTGGAGATCAAAGCGCGCG
CAACTACCACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCCGGGCCCAACCATCGGA
AGCCAACCCCTCTCTTGGCGCCCGAAGCTTGGAGATCAAAGCGCGCG
AGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTTTGGG
CCCCGTGGCCGGCACTTGGCGCGTGTCTGCTGCTGCTGCTGCTACACCT
TTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGTGTCTTACATCTTCAAGCAGCCG
TTCATGCGGGCCGTGCGACAGCACTCAGGAAGAGGACGAGTCTGCTGCGAG
ATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCAC
GGTCCCGCGACGCCCGCATATCAACAGGGCCAGAAATCAGCTCTACAAC
GAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGAC
CGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACGGCGGAAAAACCCCTCA
GGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGGCTACG
TCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGAC
GGGCTGTACCAAGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTT
GCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2204: LP-16P16-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号64)

MLLVTSLLLCELPHPAFLLPQVQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTFKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVPHDALDIWQGTMTVTSVSSGGSGGGSGGGSG
GGSDIKMTQSPSSVSASVGDKVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLAPQLLIF
GASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
GLEIKAAATTPAPRPPTAPTHASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI
YIWAPLAGTGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSR
RPPEEEGGCELVRVKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSIGMKGERRRKGHDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2G

【図 2 I】

LTG2206: LP-16P2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号83)

ATGCTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGTGCTGCGAGTTGCCACACCCCGCT
TCCTGCTTATTCGCCAAGTCCAGCTTCAACCAATCCGGACCCGGGACTTGTA
AGCGGTCTCAGACGTGTGTCACTACATGCGCCATCAGTGGCGGATAGCGTG
TCCAGCAACAGTGGCGCATGGAATTGGATACGACAGAGCCCTTCCCGAGG
ATTGGAATGGCTGGGACGAACGTACTATAGGTCCAAGTGGGATCAACGACT
ACGCGGTGTCAAGTAAATCTCGGATTACTATAAATCCCGACACTTTAAGA
ATCAGTTTTTCCCTGCAACTCAATTACGTACACACCGGGAAGATACGGCAGT
TACTATTGCGCTCAAGAAGTGAAGCCACATAGTGCCTGGATATTGGGG
TCAGGGGACTATGTTGACCGTTAAGCAGTGGGGCGGGGCGGATGCGCGGA
GGTGGCAGCGGGGGCGGTGGAAGCGACATTAAGATGACTCAGTCTCCGTC
TTCAGTTTCCGCTCCGTAGGGGACAAGGTTACAATTACTTGTGCGGCATC
TCAGGATGTCTCAGGTTGGCTGGCTTGGTATCAAGCAAGACGCTGGCCTCG
CCCTCAGCTCTCTCATATTCGGGGCTAGTACCTGCAAGGAGAGTCCCG
AGCAGGTTTTCGGTTTCAGGGTCCGGGACAGACTTTACCTTGACCATCAG
CTCCCTGCAACCGGAAGGACTTTCGCGACTTACTATTGTCAACAGCGCAAGT
ACTTCCCTACACGTTTCGGGCAAGGGACTAAGTCCGCAAAATCAAGGGCGCC
GCAACTACCACCCCTGCCCTCGGCCGCGGACTCCGGGCCCAACCATCGCA
AAGCAACCCCTCTCTTGGCGCCCGAAGCTTCCCGCCCGCGGGGTGG
GAGCGGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTGTCTGCGATATCTACATTTGG
GCCCGCTGGCGGCACTTGGCGGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTACCTACC
CTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGTCTTACATCTTCAAGCAGCG
GTTCTATGCGGCCCGTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCTGTCGA
GATTCTCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCA
CGTCCGCGGACGCGCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAA
CGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGACAAAGCGCA
CGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAAACCACCGCGGAAAAACCCCTC
AGGAAGGACTGTACAACGAACTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTCA
CTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTCAACGAC
GGGCTGTACCAAGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTT
GCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2206: LP-16P2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号84)

MLLVTSLLLCELPHPAFLLPQVQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTFKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVPHDALDIWQGTMTVTSVSSGGSGGGSGGGSG
GGSDIKMTQSPSSVSASVGDKVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLAPQLLIF
GASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
GLEIKAAATTPAPRPPTAPTHASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI
YIWAPLAGTGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEEDGCSR
RPPEEEGGCELVRVKFSRSADAPAYQQQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR
GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSIGMKGERRRKGHDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2I

10

20

30

40

50

【図 2 J】

LTG2207: LP-16P6-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号93)

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGTCTGTGCGAGTTGCCACACCCCGCCT
TCCTGCTTATTCCCCAAGTACAACCTCAGCAATCAGGGCTGGCCTTGTCA
AGCCGAGTCAAAAGCTTGAGTTTGACGTGTGCCATCAGCGGTGACTTGTCT
AGTTCAAACCTCCGACGTGGAACTGGATTCCGGCAGTCCCCCTCCAGGGG
CCTCGAATGGCTTGGACGGACGTACTACAGATCAAATGGTACAACGACT
ACGCAGTCAAGTGTAAAATCAAGGATTACGATAAACCTGATACGAGTAAA
AACCAGTTCTCTTCCAACCTGAACAGCGTCAACCCGGAAGATACAGCCGT
GTATTACTGTCTCAGGAAGTGCACCTGACGACGCAATTGACATCTGGG
GTCAGGGCAGCATGATCACCCTGAGTAGTGGAGGAGGAGGAGTGGGG
AGGCGTTCTTGGCGGGGTGGGTCTGATATACAGATGACACAGAGTCCCT
CCTCAGTTTCCGCCCTGTGTGGAGATAAAGGTGACAATTACATCGAGGGCG
TCCCAAGATGTTCTTGGATGGCTCGCATGGTACCAACAGAAGCCAGGACT
CGCCCTCAGCTTCTATTAGCGGGCTAGCACTCTCCAAGGGGAGTAC
CGAGCAGGTTCTCTGGGTCCGGAAGTGGGACGGACTTTACCCTGACAATA
TCCTCCCTTACAGGCAGAACTTCCGAACCTACTATTGCCAACAGGCGAA
AAATTTCCCTTACACGTTTGGGCCAAGGAACCTTGAATCAAGGCGG
CCGCAACTACCAACCCCTGGCCCTTGGCCGCGGCACTCCGGCCCAACCAT
GCAAGCCAAACCCCTCTCTTGCGCCCGGAAGCTTGCGCCCGCGCGGGG
TGGAGCCGTGCAATACCCGGGGGCTGGACTTTGCCCTGCGATATCTACATTG
GGCCCCCGTGGCGCGCACTTGCGCCGTCTCTGCTGTGCTGTGCTATCAC
CCTTTACTGCAAGAGGGGCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGC
CGTTATCGCGCCCGTGACAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGC
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTC
ACGGTCCGCCGACGCCCGCCCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACA
ACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG
ACCGGACGCGCAGCGGAGTGGGGGGAAACCCAGCGCGGAAACCCCT
CAGGAAGGACTGTACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACCG
ACGGGCTGTACCAAGGACTAGACACGCCACTAAGGATACCTACGATGCC
TTGCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2207: LP-16P6-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号94)

MLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTRYRSKYWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPDADFHWGGQMTIVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVYASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLGAPQLLISG
ASTLQGEVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQAKNFPYTFGGTKL
LEIKAAATTPAPRPPTPTPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQBEDGCSRF
PEEEEGGCELVRKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKQHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2J

【図 2 K】

LTG2208: LP-16P10-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号103)

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGTCTGTGCGAGTTGCCACACCCCGCCT
TCCTGCTTATTCCCCAAGTGCAGTTGCAACAGTCTGGACCAAGCCTCTGTAA
AACCTTCTCAAACCTTTGTACTCACTTGTGCATCTCAGGGGACAGTGTCA
GTTCAAACAGTGGCGCATGGAATTGGATTAGGCAATCCCCCTCTCGAGGT
CTGGAATGGCTTGGCGGACCTTACTACCGAAGTAAGTGGTACAACGATTA
TGCAGTTTCTGTAAAATCACGAATCACTATAAATCCGGACACTTCTAAGA
ATCAGTTCTCTTTGACAGTTAACTCTGTTACTCTGAAGCACAGCCGTAT
ATTACTGTGCTCAAGAGGTAGAGCCGCAAGTGCCTTCGACATCTGGGC
CAAGGGACTATGGTGACAGTAAGCTCCGGAGGTGGGGGATCAGGGGGAG
GTGGGTCCGGTGGTGGTGGCTGACATACAGATGACACAGTCCCTCAGC
TCTGTGTCAGCAAGTGTGCGTGACAAGGTTACGATAACGTGCAGGGCCAG
TCAAGATGTGTCAGGATGGTGGCGTGTACCAACAGAAACCCGGCTTGG
CACCAGCTTTTGTATTTCCGGCGCTCCCACTCCAAGGCGAAGTGCCTT
CTCGGTTTCTGGAAGCGGCGAGGGACGGACTTTACTTTGACAATATCTC
CCCTCAACCCGAGGATTTCCGCGACTTATTGTCCAGCAAGCAAAATAC
TCCCATACACTCTCGGCCTGGGACCAAACTGGAGATCAAGAGCGCCGC
AACTACCAACCCCTGCGCCTCGCGCGGCACTCCGGCCCAACCATCGAA
GCCAACCCCTCTCTTGCGCCCGGAAGCTTGCGCCCGCGCGCGGTGGA
GCCGTGCATACCCGGGGGTGAGCTTGGCTGCGATATCTACATTTGAGCC
CCGCTGGCGCGCACTTGCGCCGTCTCTGCTGTGCTGTGCTATCACCTT
TACTGCAAGAGGGGCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCCCT
CATGCGGCCGTGCGAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGCAGA
TTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCACG
GTCCGCCGACGCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACG
AGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGACG
CGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGAAACCCAGCGCGGAAACCCCTCAG
GAAGGACTGTACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAGCCTACT
CAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACGACG
GGCTGTACCAAGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCCTT
CATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2208: LP-16P10-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号104)

MLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTRYRSKYWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPDADFHWGGQMTIVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVYASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLGAPQLLIFG
ASTLQGEVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQAKNFPYTFGGTKL
LEIKAAATTPAPRPPTPTPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQBEDGCSRF
PEEEEGGCELVRKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKQHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2K

【図 2 L】

LTG2209: LP-16P17-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号113)

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGTCTGTGCGAGTTGCCACACCCCGCCT
TCCTGCTTATTCCCCAAGTACAACCTTCAACAGAGTGGCGGGGACTGGTG
AAACACTCCCCAACACTTTCTCTGACGTGCGCTATATCAGGTGACTTGTGT
TCATCTAATTTCTGCTGCGGTGGAACTGGATTCGCAACTCTCCAGTCCGGG
TTGGAATGGCTGGGACGAACATATTATCGGTCTAAGTGGTATAACGATTA
TGCTGTATCTGTGTTAAATCTCGAATTACGATTAACTCTGACACCTCCAGAA
CCAGTTCTCCCTCAGGTGAACCTCAGTCACACCGGAAGACATGCGGTCT
ACTATTGCGCTCAGGAAGTCCAGCAACATGATGCAATTGCAATCTGGGGC
CAGGGAACGATGCTCAGCGTGCAGGACTCCGGCGCGCGGATCTGGGGGTG
GCGGTTCTGGCGGTGGAGGATCAGACATACAAATGACCGCAGAGTCCCTCA
AGTGTGTACGCGAGTGTGGGGATAAGGTAACTATTACGTGACAGCGCTC
ACAGGATGTTAGTGGATGGCTTGGCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGCCCTTG
TCCCAACGCTCTTCACTAGTGGTCTTCACTTCAAGGCGAGGTCCGGA
GTAGATTCTCTGGTCTGGATCTGGTACTGACTTCACTCTTACAATTCTCT
TTTGCAACCAAGAAGACTTTGGCACTTATTACTGCCAACAGGCCAAATACCT
CCCTTATACATTTTGCCCAAGGTACCAAGTTGGAGATAAAGCGCGCCGCAA
CTACCACCCCTGCCCTCGCGCGCGCACTCCGGCCCAACCATCGCAAGC
CAACCCCTCTCTTGCGCCCGGAAGCTTGCGCCCGCGCGCGGTGGAGC
GTGTCATACCCGGGGGCTGGAATTTGCTGCGGATATCTACATTGGGCCCC
GCTGGCCGGCACTTGGCGGTGCTCTGCTGTGCTGGTCACTACCCCTTTA
CTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCGTTCA
TGCGCCCGTGCGAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCTGTGAGATTC
CTTGAGGAGGAAGAGGGGGGATCGCAACTGCGCGTCAAGTTCTCAGCGT
CCGCCGACGCCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACAACGAG
CTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGACGG
GACCGGACCCGGAGATGGGGGGGAACACCGCGGGAAGAACCCCTCAGGA
AGGACTGTACAACGAACCTCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTACTCA
GAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAGGGTCAAGCAGGG
CTGTACCAAGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCTTGCA
TAGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2209: LP-16P17-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号114)

MLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQSGPGLVKHSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTRYRSKYWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPDADFHWGGQMTIVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVYASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLGAPQLLISG
ASTLQGEVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQAKNFPYTFGGTKL
LEIKAAATTPAPRPPTPTPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQBEDGCSRF
PEEEEGGCELVRKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKQHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2L

【図 2 M】

LTG2210: LP-16P20v2-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータ核酸配列 (配列番号123)

ATGCTTCTTTTGGTGACTTCCCTTTTGTCTGTGCGAGTTGCCACACCCCGCCT
TCCTGCTTATTCCCCAAGTACAACCTTCAACAGTCTGGGCTGGGCTTGTAA
AACCTAGCCAAACTCTGTCCCTCAGTGC CGCATTCAGGGGACAGTGTGA
AGTTCCAACCTCAGCCGATGGAACTGGATTCAGGCACTCCTCAAGGGG
GCTCGAATGGCTTGGCGCAACGTACTACAGGAGTAAGTGGTACAACGATT
ATGCAGTGTCTGTGAAATCACGGATTACTACTCAATCCGACACGCTCAAAG
AACCACTTCTCTGCAACTCAACTCAGTGACACAGAGGATACGGCGCT
TTACTATTGTGCACAGGAAGTGCACACTGATGATGCTTTGACATTGGGG
TCAGGGCAGCATGGTTACGGTAAGCTCTGGGGGAGCGCGCACTGGAGGG
GGAGGTAGTGGGGGAGGGGGATCTGATATACAGATGACACAAAGCCGCT
CATCCGTCAAGTCTTCAAGTGGTGAATAAGTAACCTTACCTGCGCGGCT
CCCAAGACGTTAGCGGATGGTGGCTTGGTATCAACAAACCCGGGGTGT
GCTCCGCAACTCTCATATCCGGTGGAGTACGCTCCAGAGGAGGAGTCC
TAGCAGATTTTCCGGGAGCGGTTCCGGTACAGATTTCAAGTTGACCATTA
CTCTCTCCAGCCGAAGATTTTGCAACCTACTATTGGCCAAAGGCCAAAA
ATTTTCCATATACATTTGGTCAAGGCACTAAGCTCGAAATCAAGCGGCC
GCAACTACCAACCCCTGCCCTCGCGCGCGCACTCCGGCCCAACCATCGC
AAGCCAACCCCTCTCTTGCGCCCGGAAGCTTGCGCCCGCGCGCGGGTG
GAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGAATTTGCTGTGCGATATCTACATTTG
GCCCGCTGGCGCGCACTTGCGCCGTGCTCTGCTGTGCTGGTCACTACC
CTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGCG
GTTCTGCGCGCGGTGACAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCTGTGCA
GATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTCA
CGGTCCCGCGACGCCCGGCATATCAACAGGGCCAGAACTAGCTCTACA
CAGCTGAACTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGAGTCTGCTGGACAAGCGA
CGCGGACGCGACCCGGAGATGGGGGGGAACCAACCGCGGGAAGAACCCCT
AGGAAGGACTGTACAACGAACCTCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCTA
CTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAGGGTCAAGC
GGGCTGTACCAAGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCCCT
GCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2210: LP-16P20v2-CD8 TM-41BB-CD3 ゼータアミノ酸配列 (配列番号124)

MLLVTSLLLCELPHPAFLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTRYRSKYWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQEVQPDADFHWGGQMTIVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVYASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQQKPLGAPQLLISG
ASTLQGEVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQAKNFPYTFGGTKL
LEIKAAATTPAPRPPTPTPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQBEDGCSRF
PEEEEGGCELVRKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKQHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2M

10

20

30

40

50

【図 2 N】

LTG2216: LP-16P1-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号133)

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTGCCCATCCGGCT
TTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCTGGACTGGTC
AAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCAGATATTAGCGGGGACTCAGT
CTCGTCCAATTCCGGCGGCTGGAAGTCCGGCAGTCCGACATCAAGGG
GCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAATATGGTATAACGAC
TACGCCGTGTCCTGTAAGTCCCGGATCACCATTAAACCCGACACCTCGAA
GAACCAAGTTCTCACTCCAAGTGAACAGCGTGACCCCGAGGATAACCGCG
TGTAATACTGCGCACAGAAGATCGAACCGCACGACGCTTCGACATTTGG
GACCAAGGAACGATGGTACAGTGTCTGCTCGGTGGAGAGGTTCCGGAG
CGCGTGGATCTGGAGGGCGGAGGTTCCGGTATCCAGATGACCCAGAGCCCT
TCCTCGGTGTCGCCGATCCGTGGGCGATAAGGTCAACATTACCTGTAGAGC
GTCCAGGACGATGTCCGGATGGCTGGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCT
TGGCTCCTCAACTGCTGATCTCCGGCGCCAGCTCACTTACGGGGGGGGTG
CCATACAGCTTCTCCGGATCCGGTTCCGGGACCGACTTCAACCTGACCATC
AGCAGCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAA
GTACTTCCCTATACCTTCGGACAGGCACTAAGCTGGAATCAAGGCCG
CCGCAACTACCAACCTTGCCTCGGCGCCGACTCCGGCCCCAACCATC
GCAAGCAACCCCTCTCCTTTCGCCCGCGAAGCTTCCGCCCGCGCGCGG
TGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCTGGATATCTACATTG
GGCCCCGTGGCGGCACTTTCGGCGGTGCTCCTGCTGTGCTGGTCAAC
CCTTTACTGCAAGAGGGCGCGGAAGAAGCTGCTTACATCTTCAAGCAGC
CGTTCATGCGGCCGTGCGAGAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGC
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAAGTCCGCGTCAAGTTCTC
ACGGTCCGCCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTTACA
ACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG
ACGCGGACCGGACCCGGAGATGGGGGGGAAACACCGCGGAAACACCT
CAGGAAGGACTGTACAACGAATCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
ACGGGCTGTACAGGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCC
TTGCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2216: LP-16P1-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号134)

MLLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQQSGPLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQIEPHDAFDIWDQGTMTVTVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVSASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQKPLAPQLLIFG
ASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
LEIAAAATTPAPRPPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSGRF
PEEEEGGCELRYKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPMEGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2N

【図 2 P】

LTG2218: LP-16P8-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号153)

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTGCCCATCCGGCT
TTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCTGGACTGGTC
AAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCAGCAATTAGCGGGGACTCAGT
CTCGTCCAATTCCGGCGGCTGGAAGTCCGGCAGTCCGACATCAAGGG
GCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAATATGGTATAACGAC
TACGCCGTGTCCTGTAAGATCCGGATCACCATTAAACCCGACACCTCGAA
GAACCAAGTTCTCACTCCAAGTGAACAGCGTGACCCCGAGGATAACCGCG
TGTAATACTGCGCACAGAAGTGGAAACCGCAGGACGCTTCGACATTTGG
GGACAGGGAACGATGGTACAGTGTCTGCTCGGTGGAGGAGGTTCCGGAG
CGCGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGGATATCCAGATGACCCAGAGCCCT
TCCTCGGTGTCGCCGATCCGTGGGCGGATAAGGTCAACATTACCTGTAGAGC
GTCCAGGACGATGTCCGGATGGCTGGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCT
TGGCTCCTCAACTGCTGATCTTCCGGCGCCAGCACTTTCAGGGGGAAGTG
CCATACAGCTTCTCCGGATGGCTGGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCT
AGCAGCTCCAGCTGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAA
GTACTTCCCTATACCTTCGGAGAAGGCACTAAGCTGGAATCAAGGCCG
CCGCAACTACCAACCTTGCCTCGGCCCGGACTCCGGCCCCAACCATC
GCAAGCAACCCCTCTCCTTTCGCCCGCGGACTCCGGCCCCAACCATC
TGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTG
GGCCCGCTGGCGCGCACTTTCGGCGGTGCTCCTGCTGTGCTGGTCAAC
CCTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTACATCTTCAAGCAGC
CGTTCATGCGGCCGTGCGAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGC
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAAGTCCGCGTCAAGTTCTC
ACGGTCCGCCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTTACA
ACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG
ACGCGGACCGGACCCGGAGATGGGGGGGAAACACCGCGGAAACACCT
CAGGAAGGACTGTACAACGAATCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
ACGGGCTGTACAGGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCC
TTGCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2218: LP-16P8-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号154)

MLLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQQSGPLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQIEPHDAFDIWDQGTMTVTVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVSASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQKPLAPQLLIFG
ASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
LEIAAAATTPAPRPPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSGRF
PEEEEGGCELRYKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPMEGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2P

【図 2 O】

LTG2217: LP-16P3v2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号143)

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTGCCCATCCGGCT
TTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCTGGACTGGTC
AAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCGCCATTAGCGGGGACTCAGT
CTCGTCCAATTCCGGCGGCTGGAAGTCCGGCAGTCCGCACTCAAGGG
GCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAATATGGTATAACGAC
TACGCCGTGTCCTGTAAGTCCCGGATCACCATTAAACCCGACACCTCGAA
GAACCAAGTTCTCACTCCAAGTGAACAGCGTGACCCCGAGGATAACCGCG
TGTAATACTGCGCACAGAAGTGCAGCCGAGGACGCCCTGGACATTTGG
GGCAGGGAAACGATGGTACAGTGTCTGCTCGGTGGAGGAGGTTCCGGAG
CGCGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGGATATCCAGATGACCCAGAGCCCT
TCCTTCGTGTCGCCATCCGTGGGCGATAAAGGTCAATTATTACCTGTAGAGCG
TCCAGGACGCTGTCCGGATGGCTGGCTGGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCT
GGCTCCTCAACTGCTGATCTCCGGCGCCAGCACTTTCAGGGGGAAGTGC
CATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCGGGACCGGACTTCAACCTGACCATCA
CGAGCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAG
TACTTCCCTATACCTTCGGACAAGGCACTAAGCTGGAATCAAGGCCG
CGCAACTACCAACCTTGCCTCGGCCCGGACTCCGGCCCCAACCATC
CAAGCCAACCCCTCTCCTTTCGCCCGCGAAGCTTTCGCCCGCGCGCGGT
GGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTG
GGCCCCGTGGCGGCACTTTCGGCGGTGCTCCTGCTGTGCTGGTCAAC
CCTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTACATCTTCAAGCAGC
CGTTCATGCGGCCGTGCGAGAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGC
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAAGTCCGCGTCAAGTTCTC
ACGGTCCGCCGACGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTTACA
ACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG
ACGCGGACCGGACCCGGAGATGGGGGGGAAACACCGCGGAAACACCT
CAGGAAGGACTGTACAACGAATCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
ACGGGCTGTACAGGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCC
TTGCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2217: LP-16P3v2-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号144)

MLLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQQSGPLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQIEPHDAFDIWDQGTMTVTVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVSASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQKPLAPQLLIFG
ASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
LEIAAAATTPAPRPPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSGRF
PEEEEGGCELRYKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPMEGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2O

【図 2 Q】

LTG2219: LP-16P13-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号163)

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTGCCCATCCGGCT
TTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGCAGCAGTCCGGTCTGGACTGGTC
AAGCCGTCCCAGACTCTGAGCCTGACTTGCGCCATTAGCGGGGAACTCAGT
CTCGTCCAATTCCGGCGGCTGGAAGTCCGGCAGTCCGCACTCAAGGG
GCCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAATATGGTATAACGAC
TACGCCGTGTCCTGTAAGTCCCGGATCACCATTAAACCCGACACCTCGAA
GAACCAAGTTCTCACTCCAAGTGAACAGCGTGACCCCGAGGATAACCGCG
TGTAATACTGCGCACAGAAGTGGAAACCGCAGGACGCTTCGACATTTGG
GGACAGGGAACGATGGTACAGTGTCTGCTCGGTGGAGGAGGTTCCGGAG
CGCGTGGATCTGGAGGCGGAGGTTCCGGATATCCAGATGACCCAGAGCCCT
TCCTCGGTGTCGCCGATCCGTGGGCGGATAAAGTCAACATTACCTGTAGAGC
GTCCAGGACGATGTCCGGATGGCTGGCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCT
TGGCTCCTCAACTGCTGATCTTTCGGCGCCAGCACTTTCAGGGGGAGGTGC
CATCACGCTTCTCCGGAGGTGGTTCGGGACCGGACTTCAACCTGACCATCA
CGAGCTCCAGCCTGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAAG
TACTTCCCTATACCTTCGGACAAGGCACTAAGCTGGAATCAAGGCCG
CGCAACTACCAACCTTGCCTCGGCCCGGACTCCGGCCCCAACCATCG
CAAGCCAACCCCTCTCCTTTCGCCCGCGAAGCTTTCGCCCGCGCGCGGT
GGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTTGCTGCGATATCTACATTG
GGCCCCGTGGCGGCACTTTCGGCGGTGCTCCTGCTGTGCTGGTCAAC
CCTTTACTGCAAGAGGGGCGGGAAGAAGCTGCTTACATCTTCAAGCAGC
CGTTCATGCGGCCGTGCGAGAGCACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGC
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGGATGCGAAGTCCGCGTCAAGTTCTC
ACGGTCCGCCGAGGCCCGCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTTACA
ACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG
ACGCGGACCGGACCCGGAGATGGGGGGGAAACACCGCGGAAACACCT
CAGGAAGGACTGTACAACGAATCCAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
ACGGGCTGTACAGGGGACTGAGCACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCC
TTGCATATGCAAGCACTCCACCCCGG

LTG2219: LP-16P13-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号164)

MLLLVTSLLLCELPHAFLLIPQVQLQQSGPLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRITYYRSKYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQIEPHDAFDIWDQGTMTVTVSSGGGSGGGSGGG
GSDIQMTQSPSSVSASVGDVITTCRASQDVSGWLAWYQKPLAPQLLIFG
ASTLQGEVPSRFSGSGGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAKYFPYTFGQGT
LEIAAAATTPAPRPPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
WAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSGRF
PEEEEGGCELRYKFSRSADAPAYQQQGNQLYNELNLGRREYDVLDKRRGR
DPMEGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQ
GLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2Q

10

20

30

40

50

【図 2 R】

LTG2220: LP-16P15-CD8 TM-41BB-CD3ゼータ核酸配列 (配列番号173)

ATGTTGCTGCTCGTGACCTCGCTCCTTCTGTGCGAGCTGCCCATCCGGGT
TTTCTGCTCATCCCTCAAGTGCAGCTGCAGAGTCCGGTCTGGACTGGTC
AAGCCGTCAGACTCTGAGCCTGACTTGCCTGATTAGCGGGGACTCAGT
CTCGTCAATTCGGCGGCTGGAAGTCCGGATCCGGCAGTCACCATCAAGGG
GCTGGAATGGCTCGGGCGCACTTACTACCGGTCCAAATGTTATAACGAC
TACGCCGTGTCGTGAAGTCCCGGATCACCATTAAACCCGACACCTCGAA
GAACAGTTCTCACTCCAACGAACAGCTGACCCCGAGGATACCGCGG
TGTACTACTGCGCACAGAAGTGGAAACCGACGACGCGCTGGACATTTGG
GGTACAGGAACGATGGTACAGTGTCTGCTCCGGTGGAGGAGTTCCGGAG
GCGGTGGATCTGGAAGCGGAGGTTCCGATATCCAGATGACCCAGAGCCCT
TCCTCGGTGTCGCACTCCGTGGCGGATAAGGTACCATTAACCTGTAGAGC
GTCCAGGACGTGTCCGGATGGCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCT
TGGCTCTCAACTGCTGATCTTCCGGCCAGCACACTTCAGGGGGAGGTG
CCATCACGCTTCTCCGGATCCGGTTCGGGACCGGACTTACCTGACCATC
AGCAGCTCCAGCTGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAACAGGCCAA
GTACTTCCCTATACCTTCGGAACAAGGCACTAAGCTGGAATCAAGGCCG
CCGCAACTACCAACCTCGCCCTCGGCCCGGACTCCGGCCCAACCATC
GCAAGCCAACCCCTCTCTTGGCGCCCGAAGCTTGGCGCCCGCGCGGG
TGGAGCCGTGCATACCCGGGGGCTGGACTTGCCTGCGATATCTACATTTG
GGCCCGCTGGCCGCACTTGGCGGTGCTCTGCTGTCTGCTGTGTCATCAC
CCTTTACTGCAAGAGGGGCGGAAGAAGCTGCTTTACATCTTCAAGCAGC
CGTTTACGCGCCGCTGCAGACGACTCAGGAAGAGGACGGATGCTCGTGC
AGATTCCCTGAGGAGGAAGAGGGGGATGCGAACTGCGCGTCAAGTTCTC
ACGGTCCCGCCAGCGCCCGCATATCAACAGGGCCAGAATCAGCTCTACA
ACGAGCTGAACCTGGGAAGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCG
ACGCGGACGCGACCCGAGATGGGGGGAAACACCGCGGAAAGAACCT
ACGGAAGGACTGTATAACGAACCTCAAGAAAGACAAGATGGCGGAAGCT
ACTCAGAAATCGGGATGAAGGAGAGCGGAGGAGGGGAAAGGGTACG
ACGGGCTGTACAGGAGTACGACCGCCACTAAGGATACCTACGATGCC
TTGCATATGCAAGCACTCCACCCCG

LTG2220: LP-16P15-CD8 TM-41BB-CD3ゼータアミノ酸配列 (配列番号174)

MLLVTSLLCELPHAFLLIPQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSN
SAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKYNDYAVSVKSRITNPDTSKNQFSL
QLNSVTPEDTAVYYCAQVEPHDALDIWQGIMVTVSSGGGGGGGGSGG
GGSDIQMTQSPSSVSASVGDVITTCRASQDVSGVLAWYQQKPLAPOLLIF
GASTLQGEVPSRFSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQAKYFFPYTFGGGT
KLEIKAAATTPAPRPPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI
YTWAPLAGTCGVLLSLVITLYCKRGRKLLYFKQPFMRPVQITQDEEDGCS
RPFEEEGGCELRVFKFSRSDAPAYQQGQNLQYNELNLGRREYDVLDRKR
GRDPEMGGKPRKRNQEGLYNELQDKDMAEAYSEIGMKGERRRGKHDGL
YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR

FIGURE 2R

【図 4】

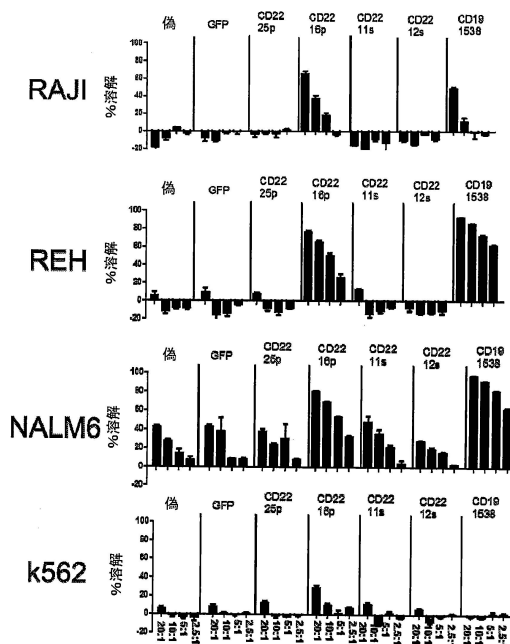


FIGURE 4

【図 3】

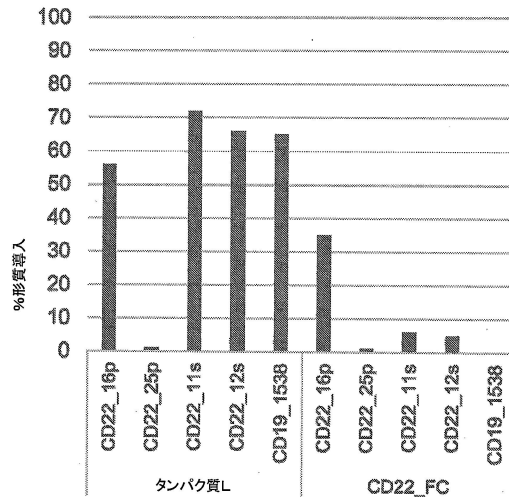


Figure 3

【図 5】

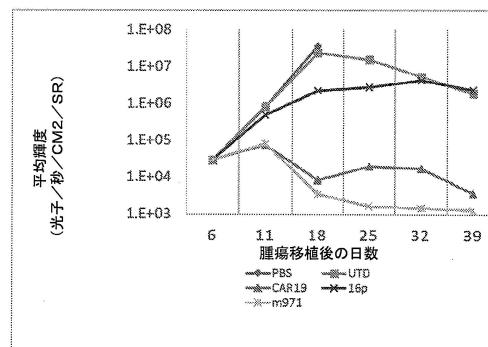


Figure 5

【図 6 - 1】

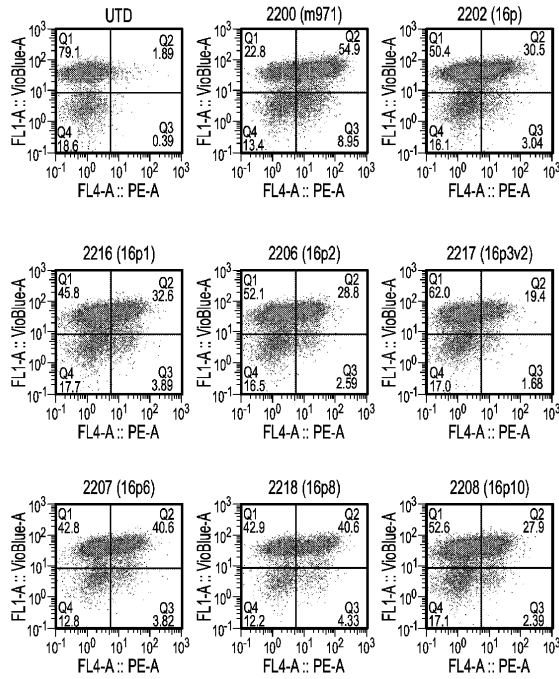


FIGURE 6

【図 6 - 2】

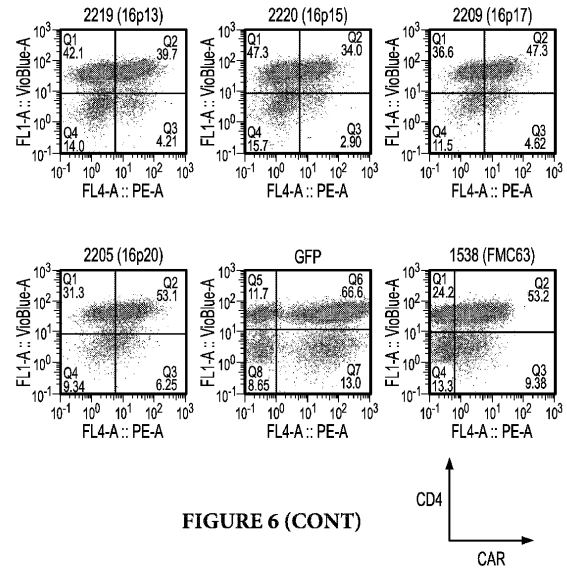
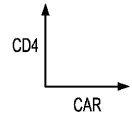


FIGURE 6 (CONT)



【図 7 A】

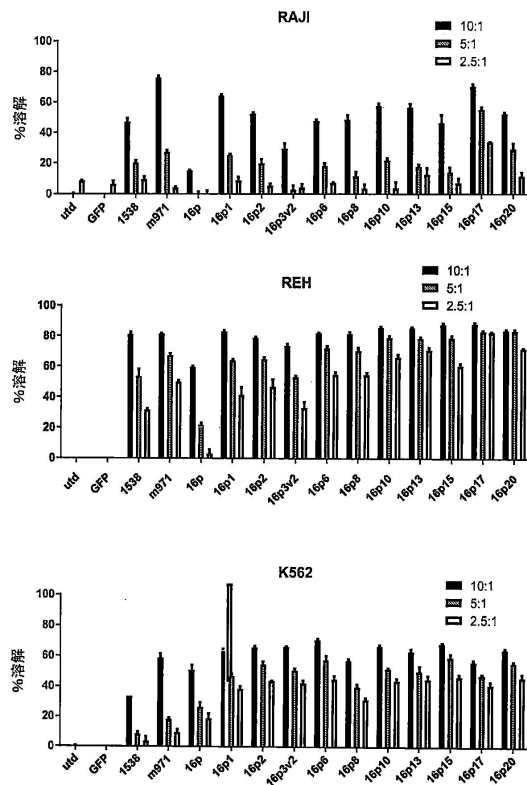


FIGURE 7A

【図 7 B】

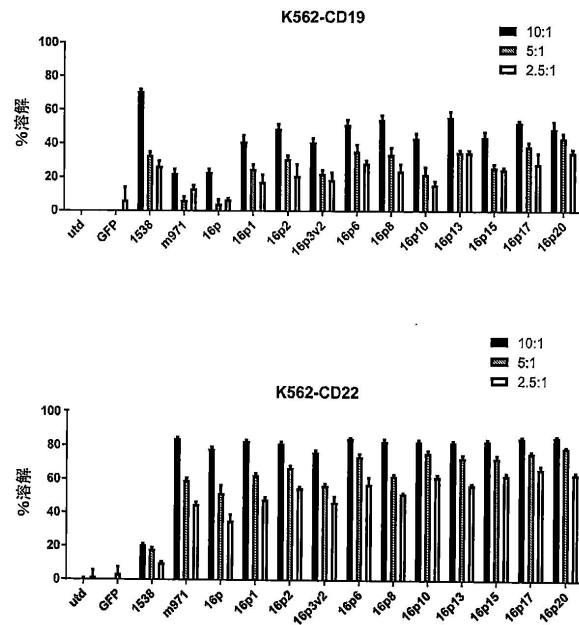


FIGURE 7B

10

20

30

40

50

【図 8】

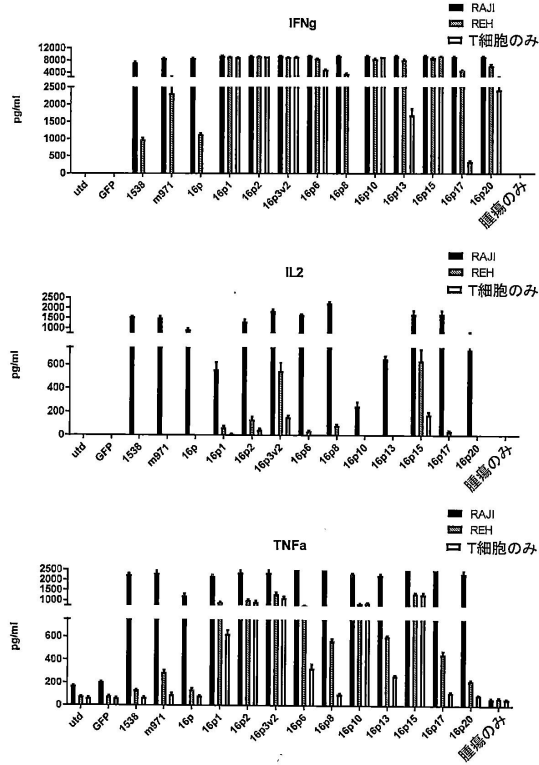


Figure 8

【図 9】

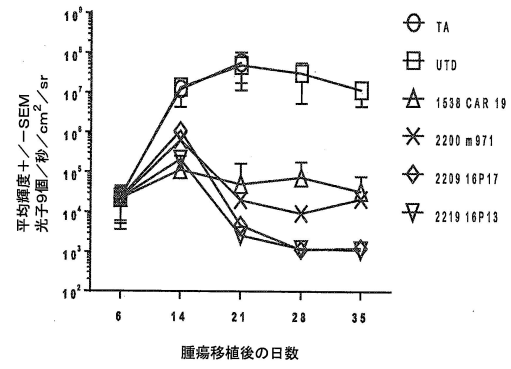


Figure 9

【配列表】

0007275118000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
C 0 7 K	14/705 (2006.01)	C 0 7 K	14/705	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00	
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z Z N A
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	

ールバード 6 0 1 1, スイート 3 2 5, オフィス オブ テクノロジー トランスファー

(74)代理人 110001195

弁理士法人深見特許事務所

(72)発明者 オレンタス, リマス・ジェイ

アメリカ合衆国、9 8 1 0 2 ワシントン州、シアトル、サーティーンズ・アベニュー・イースト、
2 0 9、ユニット・ビィ

(72)発明者 シュナイダー, ディナ

アメリカ合衆国、2 0 8 5 4 メリーランド州、ポトマック、インバーネス・リッジ・ロード、7
9 2 3

(72)発明者 ドロブリク, ボロ

アメリカ合衆国、2 1 0 4 2 メリーランド州、エリコット・シティ、ゴールデン・オーク・ドラ
イブ、1 2 6 3 7

(72)発明者 ディミトロフ, ディミタ・エス

アメリカ合衆国、2 1 7 0 1 メリーランド州、フレデリック、エヌ・シィ・アイーフレデリック
、シィ・シィ・アール・エヌ・ピィ、4 6 9 / 1 5 0 ・ピィ

(72)発明者 チュー, ゾンユイ

アメリカ合衆国、2 1 7 0 2 メリーランド州、フレデリック、カリントン・ウェイ、2 5 0 1

審査官 濱田 光浩

(56)参考文献 特表 2 0 1 4 - 5 3 4 2 0 7 (J P, A)

国際公開第 2 0 1 6 / 1 0 2 9 6 5 (W O, A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 3 5 / 1 7

A 6 1 P 3 5 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q

U n i P r o t / G e n e S e q

S w i s s P r o t / G e n e S e q