

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 1 部門第 1 区分

【発行日】平成30年3月8日 (2018.3.8)

【公表番号】特表2017-505621 (P2017-505621A)

【公表日】平成29年2月23日 (2017.2.23)

【年通号数】公開・登録公報2017-008

【出願番号】特願2016-549152 (P2016-549152)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 14/725 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2015.01)

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/16 (2006.01)

A 6 1 P 31/16 (2006.01)

A 6 1 P 31/18 (2006.01)

A 6 1 P 31/12 (2006.01)

A 6 1 P 31/06 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/10 (2006.01)

【 F I 】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 1 2 N 5/10

C 0 7 K 14/725

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 37/24

A 6 1 K 39/00 H

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 1/16

A 6 1 P 31/16

A 6 1 P 31/18

A 6 1 P 31/12

A 6 1 P 31/06

A 6 1 P 31/04

A 6 1 P 31/10

【手続補正書】

【提出日】平成30年1月26日 (2018.1.26)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書  
【補正対象項目名】0215  
【補正方法】変更  
【補正の内容】  
【0215】

参考文献

- Kunert A et al. *Front Immunol*. 2013 Nov 8;4:363
- Hinrichs CS, et al. *Immunol Rev*. 2014 Jan;257(1):56-71
- Li et al 2005 *Nature Biotechnology* 23 349-354.
- Dietrich et al., 2003, *J Immunol*. 15;170(10):5103-9.
- Trautmann et al., 2002, *Eur J Immunol*. Nov;32(11):3181-90.
- Wei et al., *Immunogenetics*. 1994;40(1):27-36.
- Imataki et al, *J Immunol*. 2012 Feb 15;188(4):1609-19.
- Schultz ES, Lethé B, Cambiaso CL, Van Snick J, Chaux P, Corthals J, Heirman C, Thielemans K, Boon T, van der Bruggen P. A MAGE-A3 peptide presented by HLA-DP4 is recognized on tumor cells by CD4<sup>+</sup> cytolytic T lymphocytes. *Cancer Res* 2000; 60: 6272-6275. (PMID: 11103782)
- Vigneron N, Ooms A, Morel S, Ma W, Degiovanni G, Van den Eynde B. A peptide derived from melanocytic protein gp100 and presented by HLA-B35 is recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on melanoma cells. *Tissue Antigens* 2005; 65: 156-162. (PMID: 15713214)
- Tomita Y, Imai K, Senju S, Irie A, Inoue M, Hayashida Y, Shiraishi K, Mori T, Daigo Y, Tsunoda T, Ito T, Nomori H, Nakamura Y, Kohrogi H, Nishimura Y. A novel tumor-associated antigen, cell division cycle 45-like can induce cytotoxic T-lymphocytes reactive to tumor cells. *Cancer Sci* 2011; 102: 697-705. (PMID: 21231984)
- Vigneron N, Van den Eynde BJ. Proteasome subtypes and the processing of tumor antigens: increasing antigenic diversity. *Curr. Opin Immunol* 2012; 24: 84-91. (PMID: 22206698)
- Ma W, Vigneron N, Chapiro J, Stroobant V, Germeau C, Boon T, Coulie PG, Van den Eynde BJ. A MAGE-C2 antigenic peptide processed by the immunoproteasome is recognized by cytolytic T cells isolated from a melanoma patient after successful immunotherapy. *Int J Cancer* 2011; 129: 2427-2434. (PMID: 21207413)
- Corbière V, Chapiro J, Stroobant V, Ma W, Lurquin C, Lethé B, van Baren N, Van den Eynde BJ, Boon T, Coulie PG. Antigen spreading contributes to MAGE vaccination-induced regression of

melanoma metastases. *Cancer Res* 2011; 71: 1253-1262. (PMID: 21216894)

Dalet A, Stroobant V, Vigneron N, Van den Eynde BJ. Differences in the production of spliced antigenic peptides by the standard proteasome and the immunoproteasome. *Eur J Immunol*. 2011; 41: 39-46. (PMID: 21182075)

Chapiro J, Claverol S, Piette F, Ma W, Stroobant V, Guillaume B, Gairin J-E, Morel S, Burlet-Schiltz O, Monsarrat B, Boon T, Van den Eynde B. Destructive cleavage of antigenic peptides either by the immunoproteasome or by the standard proteasome results in differential antigen presentation. *J Immunol* 2006; 176: 1053-1061. (PMID: 16393993)

Guillaume B, Chapiro J, Stroobant V, Colau D, Van Holle B, Parvizi G, Bousquet-Dubouch MP, Theate I, Parmentier N, Van den Eynde BJ. Two abundant proteasome subtypes that uniquely process some antigens presented by HLA class I molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 18599-18604. (PMID: 20937868)

Dalet A, Robbins PF, Stroobant V, Vigneron N, Li YF, El-Gamil M, Hanada K, Yang JC, Rosenberg SA, Van den Eynde BJ. An antigenic peptide produced by reverse splicing and double asparagine deamidation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: E323-331. (PMID: 21670269)

Vigneron N, Stroobant V, Chapiro J, Ooms A, Degiovanni G, Morel S, van der Bruggen P, Boon T, Van den Eynde B. An antigenic peptide produced by peptide splicing in the proteasome. *Science* 2004; 304: 587-590. (PMID: 15001714)

Skipper JCA, Hendrickson RC, Gulden PH, Brichard V, Van Pel A, Chen Y, Shabanowitz J, Wölfel T, Slingluff CL, Jr, Boon T, Hunt DF, Engelhard VH. An HLA-A2-restricted tyrosinase antigen on melanoma cells results from posttranslational modification and suggests a novel pathway for processing of membrane proteins. *J Exp Med* 1996; 183: 527-534. (PMID: 8627164)

Hanada K, Yewdell JW, Yang JC. Immune recognition of a human renal cancer antigen through post-translational protein splicing. *Nature* 2004; 427: 252-256. (PMID: 14724640)

Chaux P, Vantomme V, Stroobant V, Thielemans K, Corthals J, Luiten R, Eggermont AM, Boon T, van der Bruggen P. Identification of MAGE-3 epitopes presented by HLA-DR molecules to CD4<sup>+</sup> T

lymphocytes. *J Exp Med* 1999; 189: 767-777. (PMID: 10049940)

Zarour HM, Storkus WJ, Brusic V, Williams E, Kirkwood JM. NY-ESO-1 encodes DRB1\*0401-restricted epitopes recognized by melanoma-reactive CD4+ T cells. *Cancer Res* 2000; 60: 4946-4952. (PMID: 10987311)

Parkhurst, Clin Cancer Res 15:169, 2009

Theoret, Hum Gene Ther, 19:1219, 2008

Kung P, Goldstein G, Reinherz EL, Schiossman SF. Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens. *Science*, Volume 206, pp347-349 (1979)

Barker et al. *Blood* 115:1843-9 (2010),

Haque et al. *Blood* 110:1123-31 (2007).

Li et al., *Nature Med.* 16:1029-34 2010.

#### ( 1 )

高親和性 T C R、目的ペプチドに特異的な T C Rを発現する組換え細胞および / または目的ペプチドに特異的な T C Rを形成し得る T 細胞受容体 ( T C R ) ポリペプチド鎖をコードする核酸を得る方法であって、

a . T C Rを発現し得る細胞、および / または T C Rを発現し得る細胞に分化し得る細胞を含んでなる細胞集団に、ベイト T C R ポリペプチド鎖をコードするベイト核酸を形質導入すること、ここで、前記ベイト T C R ポリペプチド鎖は、前記目的ペプチドと特異的に結合するカウンター鎖 T C R ポリペプチド鎖とともに親 T C Rを構成し得るものである

i

b . 形質導入された細胞集団をベイト T C R ポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で培養すること ; ならびに

c . 下記の 1 以上 :

i ) 工程 ( b ) で得られた形質導入された細胞集団から、前記目的ペプチドと選択的に結合する、ベイト T C R ポリペプチド鎖とプレイ T C R ポリペプチド鎖を含んでなる T C Rを発現する組換え細胞を得ること ;

i i ) 工程 ( c ) ( i ) で得られた細胞から、プレイ T C R ポリペプチド鎖をコードするプレイ核酸を単離すること ; および / または

i i i ) 工程 ( c ) ( i i ) において単離された、単離されたプレイ核酸と、発現された際に高親和性 T C Rを提供するベイト核酸をペアとすること  
を含んでなる、方法。

#### ( 2 )

工程 ( b ) で得られた形質導入された細胞集団から、前記目的ペプチドと選択的に結合する、ベイト T C R ポリペプチド鎖とプレイ T C R ポリペプチド鎖を含んでなる T C Rを発現する組換え細胞を得る工程が、形質導入されたベイト T C R ポリペプチド鎖を発現し、かつ、目的ペプチドと結合する細胞集団の 1 以上の細胞を単離することを含んでなる、( 1 ) に記載の方法。

#### ( 3 )

前記プレイ核酸が前記プレイ核酸をクローニングすることにより単離される、( 1 ) ~ ( 2 ) のいずれか一つに記載の方法。

#### ( 4 )

前記プレイ T C R ポリペプチド鎖が、対照 T C R ポリペプチド C D R 3 領域の C D R 3

領域、場合により親 T C R における同族ポリペプチド鎖の C D R 3 領域、に比べて少なくとも 1 つのアミノ酸修飾を含んでなる C D R 3 領域を含んでなる、( 1 ) ~ ( 3 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 5 )

前記方法が、

i ) ベイト T C R ポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で T C R を発現し得る細胞または T C R を発現し得る細胞に分化し得る細胞に、単離されたプレイ核酸およびベイト核酸を導入すること； i i ) プレイ T C R ポリペプチド鎖とベイト T C R ポリペプチド鎖とを含んでなる T C R のアビディティーおよび / または親和性を測定すること；ならびに、 i i i ) プレイ T C R ポリペプチド鎖をコードするプレイ核酸クローンを単離すること、ここで、前記ベイト T R ポリペプチド鎖および前記プレイ T C R ポリペプチド鎖は、対照 T C R、場合により親 T C R に比べて目的ペプチドに対して増大したアビディティーおよび / または親和性を有する T C R を構成するものである、  
をさらに含んでなる、( 1 ) ~ ( 4 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 6 )

カウンター鎖 T C R ポリペプチドとともに目的ペプチドに特異的な T C R を構成する T C R ポリペプチド鎖をコードする核酸を得るための ( 1 ) ~ ( 5 ) のいずれか一つに記載の方法であって、以下の工程：

a . T C R を発現し得る細胞、または T C R を発現し得る細胞に分化し得る細胞を含んでなる細胞集団に、カウンター鎖 T C R ポリペプチド鎖とともに T C R を構成するベイト T C R ポリペプチド鎖であって、場合により T C R および T C R ポリペプチド鎖から選択される T C R ポリペプチド鎖をコードするベイト核酸を形質導入し、ここで、前記ベイト T C R ポリペプチド鎖は、前記目的ペプチドを認識する T 細胞から従前に単離されたものであり、

b . 前記形質導入された細胞集団をベイト T C R ポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で培養し、

c . 工程 ( b ) で得られた形質導入された細胞集団から目的ペプチドに特異的な T C R を発現する細胞を得、かつ

d . 工程 ( c ) で得られた細胞から、前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸によりコードされるポリペプチドとともに T C R を構成するプレイ T C R ポリペプチド鎖をコードするプレイ核酸を単離すること  
を含んでなる、方法。

( 7 )

T C R を発現する組換え細胞を得る工程が、形質導入された細胞集団を、目的ペプチドを提示する抗原提示細胞とともに培養する工程を含んでなる、( 1 ) ~ ( 6 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 8 )

形質導入された細胞集団から目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を得る工程が、セルソーティング、場合により蛍光活性化セルソーティング ( F A C S ) を使用することを含んでなる、( 1 ) ~ ( 7 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 9 )

目的ペプチドに特異的な T C R をコードする核酸のペアを得るための ( 1 ) に記載の方法であって、以下の工程：

a . 細胞集団に、T C R を構成するベイトポリペプチド鎖の群から選択されるベイト T C R ポリペプチド鎖をコードするベイト核酸を形質導入すること、ここで、前記ベイト T C R ポリペプチド鎖は、目的ペプチドを認識する T 細胞から発現され、従前に単離されたものであり、前記細胞集団は、T C R を発現し得る細胞、または T C R を発現する細胞に分化し得る細胞を含んでなるものであり、

b . 前記形質導入された細胞集団をベイト T C R ポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で培養し、

c. 工程 ( b ) で得られた形質導入された細胞集団から、目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を得、

d. 工程 ( c ) で得られた細胞から、前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸によりコードされるポリペプチドとともに T C R を構成するポリペプチドをコードするプレイ核酸を単離し、かつ

e. 工程 ( a ) で前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸と工程 ( d ) で単離されたプレイ核酸をペアとすること  
を含んでなる、方法。

( 1 0 )

工程 ( c ) で組換え細胞を得ることが、形質導入された細胞集団を、目的ペプチドを提示する抗原提示細胞とともに培養する工程を含んでなる、( 1 ) ~ ( 9 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 1 )

前記細胞集団が末梢血単核細胞 ( P B M C )、場合により C D 3 リガンドで活性化された P B M C の集団である、( 1 ) ~ ( 1 0 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 2 )

工程 ( a ) で前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸が T C R 鎖または T C R 鎖をコードする、( 1 ) ~ ( 1 1 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 3 )

工程 ( a ) で前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸が、T C R によるペプチド認識に主として寄与する T C R 鎖をコードする、( 1 ) ~ ( 1 2 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 4 )

形質導入が 2 回、3 回、4 回、5 回および / または 6 回繰り返される、( 1 ) ~ ( 1 3 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 5 )

プレイ T C R ポリペプチド鎖をコードする単離されたプレイ核酸が T C R を発現し得る細胞、または T C R を発現し得る細胞に分化し得る細胞に形質導入され、場合により、ここで、前記単離されたプレイ核酸は、プレイ T C R ポリペプチド鎖とともに T C R を構成する T C R ポリペプチド鎖をコードする核酸、場合によりベイト T C R 核酸、と組み合わせて形質導入され、目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を含んでなる形質導入された細胞集団を生産する、( 1 ) ~ ( 1 4 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 6 )

細胞集団または細胞がまた、内在性 T C R 鎖の発現を抑制するためのアンチセンス分子でも形質導入される、( 1 ) ~ ( 1 5 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 7 )

形質導入された 1 以上の前記核酸、場合によりベイト核酸、のコードンが最適化される、( 1 ) ~ ( 1 6 ) のいずれか一つに記載の方法。

( 1 8 )

配列番号 4、6、8、10、12、14、52、54、56、58、60、62、81 ~ 86、88 ~ 91、94、96、98、112、114、116 ~ 122 から選択される配列および / または配列番号 4、6、8、10、12、14、52、54、56、58、60、62、81 ~ 86、88 ~ 91、94、96、98、112、114、116 ~ 122 から選択される配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 % もしくは少なくとも 99 % の配列同一性を有する配列および / または配列番号 3、5、7、9、11、13、51、53、55、57、59、61、93、95、97、111、113、115 のいずれか一つによりコードされる配列および / または 3、5、7、9、11、13、51、53、55、57、59、61、93、95、97、111、113、115 から選択される配列と少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくと

も 97%、少なくとも 98% もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有する配列を含んでなり、ならびに、4、6、8、10、12、14、52、54、56、58、60、62、81～86、88～91、94、96、98、112、114、116～122 から選択されるポリペプチドをコードするか、または CDR 領域もしくは非 CDR 領域などのその一部を含んでなり、場合により、本明細書の配列から少なくとも 1 つのアミノ酸変異を含んでなるか、もしくはコードし、および / または本明細書のいずれかの核酸配列のコード最適化型を含んでなる配列を含んでなる、単離されたおよび / または組換え操作された TCR ポリペプチド。

(19)

相補性決定領域 CDR1、CDR2 および CDR3 を含んでなり、前記 CDR の配列が、

CDR1：配列番号 20、22、24、26、28、30、100、102、104；

CDR2：配列番号 36、38、40、42、44、46、106、108、110；

および

CDR3：配列番号 52、54、56、58、60、62、81～91、112、114、116～122

から選択され、ならびに / または

前記 CDR 配列は、

CDR1：配列番号 20、22、24、26、28、30、100、102；

CDR2：配列番号 36、38、40、42、44、46、106、108、110；

および

CDR3：配列番号 52、54、56、58、60、62、81～91、112、114、116～122

から選択される配列と少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有するものである、

(18) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された TCR ポリペプチド。

(20)

前記 CDR 配列が、

CDR1：配列番号 20、22、24、26、28、30、100、102；

CDR2：配列番号 36、38、40、42、44、46、106、108；および

CDR3：配列番号 52、54、56、58、60、62、81～91、112、114、116～122

から選択される、(19) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された TCR ポリペプチド鎖。

(21)

前記 TCR ポリペプチド鎖が CDR1、CDR2 および CDR3 領域を含んでなる TCR ポリペプチド鎖であり、前記 CDR 配列は、

CDR1：配列番号 20、22、100、102；

CDR2：配列番号 36、38、106、108；および

CDR3：配列番号 52、54、81～91、112、114、116～122

から選択される、(20) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された TCR ポリペプチド鎖。

(22)

前記 TCR ポリペプチド鎖が、MART1<sub>27-35</sub> ペプチドと特異的に結合する TCR ポリペプチドカウンター鎖とともに親 TCR を構成し得る、(21) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された TCR ポリペプチド鎖。

(23)

TCR ポリペプチドカウンター鎖が、配列番号 2 を有する SIG35 鎖である、(22) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された TCR ポリペプチド鎖。

( 2 4 )

前記 T C R ポリペプチド鎖が、配列番号 4、6、9 4、9 6 および 9 8 から選択される配列を有する、( 1 9 ) ~ ( 2 3 ) のいずれか一つに記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド鎖。

( 2 5 )

前記 T C R ポリペプチド鎖が、C D R 1、C D R 2 および C D R 3 領域を含んでなる T R C ポリペプチド鎖であり、C D R 配列が、

C D R 1 : 配列番号 2 4、2 6、2 8、3 0 ;

C D R 2 : 配列番号 4 0、4 2、4 4、4 6 ; および

C D R 3 : 配列番号 5 6、5 8、6 0、6 2

から選択される、( 1 9 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド鎖。

( 2 6 )

前記 T C R 鎖が、W T 1<sub>2 3 4</sub> - 2<sub>4 3</sub> ペプチドと特異的に結合する T C R ポリペプチドカウンター鎖とともに親 T C R を構成し得る、( 2 5 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド鎖。

( 2 7 )

前記 T C R ポリペプチドカウンター鎖が配列番号 1 6 を有する T A K 1 鎖である、( 2 5 ) または ( 2 6 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド鎖。

( 2 8 )

前記 T C R ポリペプチド鎖が配列番号 8、1 0、1 2、および 1 4 から選択される配列を有する、( 2 5 ) ~ ( 2 7 ) のいずれか一つに記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド鎖。

( 2 9 )

前記 T C R ポリペプチドが T C R ポリペプチド鎖であり、前記 C D R 3 領域が配列番号 5 2、5 4、8 1 ~ 9 1、1 1 2、1 1 4 および 1 1 6 ~ 1 2 2 のいずれか 1 つを含んでなる、( 1 8 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド。

( 3 0 )

前記 T C R ポリペプチドが T C R ポリペプチド鎖であり、前記 C D R 3 領域が配列番号 5 6、5 8、6 0 および 6 2 のいずれか 1 つを含んでなる、( 1 8 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R ポリペプチド。

( 3 1 )

( 1 8 ) ~ ( 3 0 ) のいずれか一つに記載の、T C R ポリペプチド鎖をコードする単離されたおよび / または組換え操作された核酸。

( 3 2 )

i ) 配列番号 3、5、7、9、1 1、1 3、5 1、5 3、5 5、5 7、5 9、6 1、9 3、9 5、9 7、1 1 1、1 1 3 および 1 1 5 のいずれか 1 つに示される配列 ;

i i ) 配列番号 5 2、5 4、8 1 ~ 9 1、1 1 2、1 1 4 および 1 1 6 ~ 1 2 2 から選択される C D R 3 領域アミノ酸配列を含んでなる T C R ポリペプチド鎖をコードするもの ;

i i i ) 配列番号 4、6、9 4、9 6 または 9 8 から選択されるアミノ酸配列をコードするもの ;

i v ) 配列番号 5 6、5 8、6 0 および 6 2 からなる群から選択される C D R 3 領域アミノ酸配列を含んでなる T C R ポリペプチド鎖をコードするもの ; または

v ) 配列番号 8、1 0、1 2 および 1 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含んでなる T C R ポリペプチド鎖をコードするもの  
を含んでなる、( 3 1 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された核酸。

( 3 3 )



T C R ポリペプチド鎖と T C R ポリペプチド鎖とを含んでなり、前記 T C R ポリペプチド鎖は、配列番号 5 2、5 4、8 1 ~ 9 1、1 1 2、1 1 4 および 1 1 6 ~ 1 2 2 のいずれか 1 つの配列を含んでなる C D R 3 領域を含んでなり、ならびに / または前記 T C R ポリペプチド鎖は、配列番号 5 6、5 8、6 0 および 6 2 のいずれか 1 つの配列を含んでなる C D R 3 領域を含んでなり、場合により、前記 T C R は膜画分に含まれる、単離されたおよび / または組換え操作された T C R。

( 3 4 )

前記 T C R ポリペプチド鎖が、配列番号 1 6 を有する T A K 1 ポリペプチド鎖とともに T C R を構成する、( 3 3 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R。

( 3 5 )

前記 T C R ポリペプチド鎖が、配列番号 2 を有する S I G 3 5 ポリペプチド鎖とともに T C R を構成する、( 3 3 ) または ( 3 4 ) に記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R。

( 3 6 )

前記 T C R が 1 以上の哺乳動物 T C R ポリペプチド鎖、場合によりヒト T C R ポリペプチド鎖および / またはハイブリッド T C R ポリペプチド鎖、を含んでなる、( 3 3 ) ~ ( 3 5 ) のいずれか一つに記載の単離されたおよび / または組換え操作された T C R。

( 3 7 )

( 1 8 ) ~ ( 3 6 ) のいずれか一つに記載の単離された核酸、T C R ポリペプチド鎖または T C R を含んでなる組換え細胞。

( 3 8 )

プレイ核酸を含んでなり、および、目的ペプチドに特異的な T C R を発現し、前記 T C R が対照 T C R に比べて増大した親和性および / またはアビディティを有し、( 1 ) ~ ( 1 7 ) のいずれか一つに記載の方法により得られる、( 3 7 ) に記載の組換え細胞。

( 3 9 )

( 1 8 ) ~ ( 3 8 ) のいずれか一つに記載の前記 T C R ポリペプチド鎖、該 T C R ポリペプチド鎖をコードする核酸、T C R ポリペプチド鎖および / または組換え細胞を、場合により薬学上許容可能な担体と組み合わせて含んでなる組成物。

( 4 0 )

( 3 8 ) に記載の組換え細胞を含んでなる ( 3 9 ) に記載の組成物。

( 4 1 )

必要とする対象に治療上有効な量の ( 3 8 ) に記載の組換え細胞または ( 4 0 ) に記載の組成物を投与する工程を含んでなる、障害を改善または治療するための方法。

( 4 2 )

前記細胞集団を投与工程の前にサイトカインおよび / または抗原ペプチドで活性化する工程をさらに含んでなる、( 4 1 ) に記載の方法。

( 4 3 )

障害を治療するための ( 1 8 ) ~ ( 4 0 ) のいずれか一つに記載の方法を用いて生産された核酸、T C R ポリペプチド、T C R、組成物または組換え細胞。

( 4 4 )

障害を治療するための ( 9 ) ~ ( 4 0 ) のいずれか一つに記載の方法を用いて生産された核酸のペア、T C R、組成物および / または組換え細胞の使用。

( 4 5 )

前記障害が、白血病、固形腫瘍などの癌、肝炎、インフルエンザウイルスまたは H I V などのウイルス、結核菌、M R S A、または V R E などの細菌)、アスペルギルス属、カンジダ属、およびクリプトコッカス属などの真菌によって引き起こされる感染性疾患から選択される、( 4 1 ) ~ ( 4 4 ) のいずれか一つに記載の方法、核酸、T C R ポリペプチド、T C R、組成物または組換え細胞。

( 4 6 )

組換え細胞が同種異系反応性を軽減するように選択されている、(41)～(44)のいずれか一つに記載の方法、核酸、TCRポリペプチド、TCR組成物または組換え細胞または使用。

【手続補正2】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

高親和性TCR、目的ペプチドに特異的なTCRを発現する組換え細胞および/または目的ペプチドに特異的なTCRを形成し得るT細胞受容体(TCR)ポリペプチド鎖をコードする核酸を得る方法であって、

a. TCRを発現し得る細胞、および/またはTCRを発現し得る細胞に分化し得る細胞を含んでなる細胞集団に、ベイトヒトTCRポリペプチド鎖、場合によりTCR鎖またはTCR鎖をコードするベイト核酸を形質導入すること、ここで、前記ベイトヒトTCRポリペプチド鎖は、前記目的ペプチドと特異的に結合するカウンター鎖TCRポリペプチド鎖とともに親TCRを構成し得るものである；

b. 形質導入された細胞集団をベイトTCRポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で培養すること；ならびに

c.

i) 工程(b)で得られた形質導入された細胞集団から、前記目的ペプチドと選択的に結合する、ベイトTCRポリペプチド鎖とプレイトCRポリペプチド鎖を含んでなるTCRを発現する組換え細胞を得ること、ここで、工程(c)(i)は組換え細胞のアビディティを試験することおよび形質導入されたベイトTCRポリペプチド鎖を発現し、かつ、目的ペプチドと結合する細胞集団の1以上の細胞を単離することを含んでなり；

ii) 工程(c)(i)で得られた細胞から、場合によりプレイ核酸をクローニングすることにより、プレイトCRポリペプチド鎖をコードするプレイ核酸を単離すること；および/または

iii) 場合により、工程(c)(ii)において単離された、単離されたプレイ核酸と、発現された際に高親和性TCRを提供するベイト核酸をペアとすること

を含んでなり、

ここで、ベイトTCR鎖とペアをなすプレイトCR鎖は、従前に選択された親和性よりも高い親和性を有するTCRを構成するものである、方法。

【請求項2】

前記プレイトCRポリペプチド鎖が、対照TCRポリペプチドCDR3領域のCDR3領域、場合により親TCRにおける同族ポリペプチド鎖のCDR3領域、に比べて少なくとも1つのアミノ酸修飾を含んでなるCDR3領域を含んでなる、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記方法が、

i) ベイトTCRポリペプチド鎖の発現を許容する条件下でTCRを発現し得る細胞またはTCRを発現し得る細胞に分化し得る細胞に、単離されたプレイ核酸およびベイト核酸を導入すること；ii) プレイトCRポリペプチド鎖とベイトTCRポリペプチド鎖とを含んでなるTCRのアビディティおよび/または親和性を測定すること；ならびに、iii) プレイトCRポリペプチド鎖をコードするプレイ核酸クローンを単離すること、ここで、前記ベイトTCRポリペプチド鎖および前記プレイトCRポリペプチド鎖は、対照TCR、場合により親TCRに比べて目的ペプチドに対して増大した親和性を有するTCRを構成するものである、

をさらに含んでなる、請求項1または2に記載の方法。

## 【請求項 4】

カウンター鎖 T C R ポリペプチドとともに目的ペプチドに特異的な T C R を構成する T C R ポリペプチド鎖をコードする核酸を得るための請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法であって、以下の工程：

a . T C R を発現し得る細胞、または T C R を発現し得る細胞に分化し得る細胞を含んでなる細胞集団に、カウンター鎖 T C R ポリペプチド鎖とともに T C R を構成するベイト T C R ポリペプチド鎖であって、場合により T C R および T C R ポリペプチド鎖から選択される T C R ポリペプチド鎖をコードするベイト核酸を形質導入し、ここで、前記ベイト T C R ポリペプチド鎖は、前記目的ペプチドを認識する T 細胞から従前に単離されたものであり、

b . 前記形質導入された細胞集団をベイト T C R ポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で培養し、

c . 工程 ( b ) で得られた形質導入された細胞集団から目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を得、工程 ( c ) は組換え細胞のアビディターを試験することおよび形質導入されたベイト T C R ポリペプチド鎖を発現し、かつ、目的ペプチドと結合する細胞集団の 1 以上の細胞を単離することを含んでなり；かつ

d . 工程 ( c ) で得られた細胞から、前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸によりコードされるポリペプチドとともに T C R を構成するプレイ T C R ポリペプチド鎖をコードするプレイ核酸を単離すること

を含んでなり、

ここで、ベイト T C R 鎖とペアをなすプレイ T C R 鎖は、従前に選択された親和性よりも高い親和性を有する T C R を構成するものである、方法。

## 【請求項 5】

形質導入された細胞集団から目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を得る工程が、セルソーティング、場合により蛍光活性化セルソーティング ( F A C S ) を使用することを含んでなる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

目的ペプチドに特異的な T C R をコードする核酸のペアを得るための請求項 1 に記載の方法であって、以下の工程：

a . 細胞集団に、T C R を構成するベイトポリペプチド鎖の群から選択されるベイト T C R ポリペプチド鎖をコードするベイト核酸を形質導入すること、ここで、前記ベイト T C R ポリペプチド鎖は、目的ペプチドを認識する T 細胞から発現され、従前に単離されたものであり、前記細胞集団は、T C R を発現し得る細胞、または T C R を発現する細胞に分化し得る細胞を含んでなるものであり、

b . 前記形質導入された細胞集団をベイト T C R ポリペプチド鎖の発現を許容する条件下で培養し、

c . 工程 ( b ) で得られた形質導入された細胞集団から、目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を得、工程 ( c ) は組換え細胞のアビディターを試験することおよび形質導入されたベイト T C R ポリペプチド鎖を発現し、かつ、目的ペプチドと結合する細胞集団の 1 以上の細胞を単離することを含んでなり；

d . 工程 ( c ) で得られた細胞から、前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸によりコードされるポリペプチドとともに T C R を構成するポリペプチドをコードするプレイ核酸を単離し、かつ

e . 工程 ( a ) で前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸と工程 ( d ) で単離されたプレイ核酸をペアとすることを含んでなり、

ここで、ベイト T C R 鎖とペアをなすプレイ T C R 鎖は、従前に選択された親和性よりも高い親和性を有する T C R を構成するものである、方法。

## 【請求項 7】

工程 ( c ) で組換え細胞を得ることが、形質導入された細胞集団を、目的ペプチドを提示する抗原提示細胞とともに培養する工程を含んでなる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に

記載の方法。

【請求項 8】

前記細胞集団が末梢血単核細胞（P B M C）、場合により C D 3 リガンドで活性化された P B M C の集団である、請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

工程（a）で前記細胞集団に形質導入されたベイト核酸が、T C R によるペプチド認識に主として寄与する T C R 鎖をコードする、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

形質導入が 2 回、3 回、4 回、5 回および / または 6 回繰り返される、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記単離されたプレイ核酸は単独で、またはプレイ T C R ポリペプチド鎖とともに T C R を構成する T C R ポリペプチド鎖をコードする核酸、場合によりベイト T C R 核酸、と組み合わせて、T C R を発現し得るかまたは T C R を発現し得る細胞に分化し得る細胞に形質導入され、目的ペプチドに特異的な T C R を発現する組換え細胞を含んでなる形質導入された細胞集団を生産する、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

細胞集団または細胞がまた、内在性 T C R 鎖の発現を抑制するためのアンチセンス分子でも形質導入される、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

形質導入された 1 以上の前記核酸、場合によりベイト核酸、のコードンが最適化される、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。