

【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】令和6年2月26日(2024.2.26)

【国際公開番号】WO2021/163477  
 【公表番号】特表2023-526149(P2023-526149A)  
 【公表日】令和5年6月21日(2023.6.21)  
 【年通号数】公開公報(特許)2023-115  
 【出願番号】特願2022-549088(P2022-549088)

【国際特許分類】

10

- C 1 2 N 15/12(2006.01)
- C 0 7 K 14/725(2006.01)
- C 1 2 N 15/09(2006.01)
- C 1 2 N 15/63(2006.01)
- C 1 2 N 15/867(2006.01)
- C 1 2 N 1/15(2006.01)
- C 1 2 N 1/19(2006.01)
- C 1 2 N 1/21(2006.01)
- C 1 2 N 5/10(2006.01)
- C 1 2 P 21/02(2006.01)
- C 1 2 Q 1/6886(2018.01)
- A 6 1 P 37/04(2006.01)
- A 6 1 P 35/00(2006.01)
- A 6 1 K 39/395(2006.01)
- A 6 1 K 35/17(2015.01)
- A 6 1 K 35/76(2015.01)
- A 6 1 K 48/00(2006.01)
- A 6 1 K 47/68(2017.01)

20

【F I】

- C 1 2 N 15/12
- C 0 7 K 14/725 Z N A
- C 1 2 N 15/09 1 0 0
- C 1 2 N 15/63
- C 1 2 N 15/867 Z
- C 1 2 N 1/15
- C 1 2 N 1/19
- C 1 2 N 1/21
- C 1 2 N 5/10
- C 1 2 P 21/02 C
- C 1 2 Q 1/6886 Z
- A 6 1 P 37/04
- A 6 1 P 35/00
- A 6 1 K 39/395 E
- A 6 1 K 39/395 T
- A 6 1 K 35/17
- A 6 1 K 35/76
- A 6 1 K 48/00
- A 6 1 K 39/395 C
- A 6 1 K 39/395 L
- A 6 1 K 47/68

30

40

50

## 【手続補正書】

【提出日】令和6年2月14日(2024.2.14)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0005】

本発明の一実施形態は、(a)配列番号1~3、(b)配列番号4~6、(c)配列番号31~33、(d)配列番号34~36、(e)配列番号64~66、(f)配列番号67~69、(g)配列番号1~6、(h)配列番号31~36、又は(i)配列番号64~69のアミノ酸配列を含む単離又は精製されたT細胞受容体(TCR)であって、TCRが、ヒト白血球抗原(HLA)クラスI分子によって提示される12位のグリシンからバリンへの置換を伴う突然変異ヒトRASアミノ酸配列に対して抗原特異性を有し、突然変異ヒトRASアミノ酸配列が、突然変異ヒトキルステンラット肉腫ウイルスがん遺伝子ホモログ(KRAS)、突然変異ヒトハーベイラット肉腫ウイルスがん遺伝子ホモログ(HRAS)、又は突然変異ヒト神経芽腫ラット肉腫ウイルスがん遺伝子ホモログ(NRAS)のアミノ酸配列であり、12位は、それぞれ、野生型ヒトKRAS、野生型ヒトHRAS、又は野生型ヒトNRASを参照して定義される、TCRを提供する。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0006】

本発明の別の実施形態は、本発明のTCRの機能的部分を含む単離又は精製されたポリペプチドであって、機能的部分が、(a)配列番号1~3の全て、(b)配列番号4~6の全て、(c)配列番号31~33の全て、(d)配列番号34~36の全て、(e)配列番号64~66の全て、(f)配列番号67~69の全て、(g)配列番号1~6の全て、(h)配列番号31~36の全て、又は(i)配列番号64~69の全てのアミノ酸配列を含む、ポリペプチドを提供する。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

本発明の実施形態は、5'から3'まで、第1の核酸配列及び第2の核酸配列を含む単離又は精製核酸を提供し、ここで、第1及び第2の核酸配列は、それぞれ、配列番号7及び8；7及び91；90及び8；90及び91；8及び7；91及び7；8及び90；91及び90；37及び38；37及び93；92及び38；92及び93；38及び37；93及び37；38及び92；93及び92；70及び71；70及び133；132及び71；132及び133；71及び70；133及び70；71及び132、133及び132、23及び24、23及び103、102及び24、102及び103、24及び23、103及び23、24及び102、103及び102、39及び40、39及び109、108及び40、108及び109、40及び39、109及び39、40及び108、109及び108、78及び79、78及び139；138及び79、138及び139、79及び78、139及び78、79及び138、139及び138、21及び22、21及び101、100及び22、100及び101、22及び21、101及

び 2 1、2 2 及び 1 0 0、1 0 0 及び 1 0 1、4 1 及び 4 2、4 1 及び 1 0 7、1 0 6 及び 4 2、1 0 6 及び 1 0 7、4 2 及び 4 1、1 0 7 及び 4 1、4 2 及び 1 0 6、1 0 7 及び 1 0 6、7 4 及び 7 5、7 4 及び 1 0 1、1 0 0 及び 7 5、1 0 0 及び 1 0 1、7 5 及び 7 4、1 0 1 及び 7 4、7 5 及び 1 0 0、1 0 1 及び 1 0 0、1 2 4 及び 1 2 5、1 2 4 及び 1 0 5、1 0 4 及び 1 2 5、1 0 4 及び 1 0 5、1 2 5 及び 1 2 4、1 0 5 及び 1 2 4、1 2 5 及び 1 0 4、1 0 5 及び 1 0 4、1 2 6 及び 1 2 7、1 2 6 及び 1 1 1、1 1 0 及び 1 2 7、1 1 0 及び 1 1 1、1 2 7 及び 1 2 6、1 1 1 及び 1 2 6、1 2 7 及び 1 1 0、1 1 1 及び 1 1 0、1 3 4 及び 1 3 5、1 4 0 及び 1 3 5、1 3 4 及び 1 4 1、1 4 0 及び 1 4 1、1 3 5 及び 1 3 4、1 3 5 及び 1 4 0、1 4 1 及び 1 3 4、1 4 1 及び 1 4 0、4 7 及び 4 8、4 8 及び 4 7、4 9 及び 5 0、5 0 及び 4 9、7 2 及び 7 3、7 3 及び 7 2；9 4 及び 9 5；9 5 及び 9 4；9 4 及び 8 5；8 5 及び 9 4；9 6 及び 9 7；9 7 及び 9 6；9 6 及び 8 7；8 7 及び 9 6；8 8 及び 8 9；8 9 及び 8 8；5 1 及び 5 2；5 2 及び 5 1；5 3 及び 5 4；5 4 及び 5 3；8 0 及び 8 1；8 1 及び 8 0；5 5 及び 5 6；5 6 及び 5 5；5 7 及び 5 8；5 8 及び 5 7；7 6 及び 7 7、7 7 及び 7 6；1 2 8 及び 1 2 9；1 2 9 及び 1 2 8；1 3 0 及び 1 3 1；1 3 1 及び 1 3 0；1 4 2 及び 1 4 3；1 4 3 及び 1 4 2；1 1 2 及び 1 1 3；1 1 3 及び 1 1 2；1 1 8 及び 1 1 9；1 1 9 及び 1 1 8；1 4 4 及び 1 4 5；1 4 5 及び 1 4 4；1 1 4 及び 1 1 5；1 1 5 及び 1 1 4；1 2 0 及び 1 2 1；1 2 1 及び 1 2 0；1 4 6 及び 1 4 7；1 4 7 及び 1 4 6、1 1 6 及び 1 1 7、1 1 7 及び 1 1 6、1 2 2 及び 1 2 3、1 2 3 及び 1 2 2、1 4 8 及び 1 4 9、1 4 9 及び 1 4 8、1 5 0 及び 1 5 1、1 5 1 及び 1 5 0、1 5 4 及び 1 5 5、1 5 5 及び 1 5 4、1 5 2 及び 1 5 3、1 5 3 及び 1 5 2、1 5 6 及び 1 5 7、1 5 7 及び 1 5 6、1 6 0 及び 1 6 1、1 6 1 及び 1 6 0、1 5 8 及び 1 5 9、又は 1 5 9 及び 1 5 8 のアミノ配列をコードしている。

【**手続補正 4**】

【**補正対象書類名**】明細書

【**補正対象項目名**】0 0 1 2

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

【**0 0 1 2**】

【**図 1 A**】図 1 A は、野生型 (W T) R A S をコードするタンデムミニ遺伝子 (T M G) m R N A をトランスフェクトした自己 D C 標的細胞の反応性を示している。T I L は、患者 4 3 9 1 の腫瘍片 F 1、F 1 3、又は腫瘍片 F 2、F 3、F 5 の組み合わせから単離された。T I L は、l i v e / C D 3 + / C D 8 + でゲーティングされた。反応性は、F A C S によって O X 4 0 及び 4 - 1 B B のアップレギュレーションを検出することによって測定された。

【**図 1 B**】図 1 B は、変異型 (M u t) R A S をコードする m R N A T M G をトランスフェクトした自己 D C 標的細胞の反応性を示している。T I L は、患者 4 3 9 1 の腫瘍片 F 1、F 1 3、又は腫瘍片 F 2、F 3、F 5 の組み合わせから単離された。T I L は、l i v e / C D 3 + / C D 8 + でゲーティングされた。反応性は、F A C S によって O X 4 0 及び 4 - 1 B B のアップレギュレーションを検出することによって測定された。

【**図 1 C**】図 1 C は、W T R A S ロングペプチド (L P) パルスをかけた腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) の反応性を示している。T I L は、患者 4 3 9 1 の腫瘍片 F 1、F 1 3、又は腫瘍片 F 2、F 3、F 5 の組み合わせから単離された。T I L は、l i v e / C D 3 + / C D 8 + でゲーティングされた。反応性は、F A C S によって O X 4 0 及び 4 - 1 B B のアップレギュレーションを検出することによって測定された。

【**図 1 D**】図 1 D は、R A S G 1 2 V L P をパルスをかけた腫瘍浸潤リンパ球 (T I L) の反応性を示している。T I L は、患者 4 3 9 1 の腫瘍片 F 1、F 1 3、又は腫瘍片 F 2、F 3、F 5 の組み合わせから単離された。T I L は、l i v e / C D 3 + / C D 8 + でゲーティングされた。反応性は、F A C S によって O X 4 0 及び 4 - 1 B B のアップレギュレーションを検出することによって測定された。

【図 2 A】図 2 A は、RAS G12V 最小エピトープ ME 4 ~ 7 のうちの 1 つでパルスした標的細胞に対する患者 4391 の腫瘍片 F1 からの TIL の反応性を示している。標的細胞は、4391 自家 DC、COS-A03 (COS7 細胞が HLA-A\*03:01 を安定発現)、又は COS-A02 (COS7 細胞が HLA-A\*02:01 を安定発現) 細胞株であった。TIL は、live / CD3+ / CD8+ でゲーティングされた。反応性は、FACS による OX40 及び 4-1BB のアップレギュレーションを検出することにより測定した。

【図 2 B】図 2 B は、WT LP、又は RAS G12V LP のいずれかでパルスした標的細胞に対する患者 4391 の腫瘍片 F1 からの TIL の反応性を示している。DMSO でパルスした標的細胞はコントロールとして機能した。標的細胞は、4391 自家 DC、COS-A03 (COS7 細胞が HLA-A\*03:01 を安定発現)、又は COS-A02 (COS7 細胞が HLA-A\*02:01 を安定発現) 細胞株であった。TIL は、live / CD3+ / CD8+ でゲーティングされた。反応性は、FACS による OX40 及び 4-1BB のアップレギュレーションを検出することにより測定した。

【図 3】図 3 は、WT LP、G12V LP、又は G12V ME でパルスした自己 DC との共培養に対する、患者 4391 の腫瘍断片 F1 からの TIL による IFN- $\gamma$  分泌 (スポット /  $3 \times 10^4$  細胞) の ELISPOT 測定値を示すグラフである。単独で培養した TIL はネガティブコントロールとした。抗 CD3 / 抗 CD28 Dynabeads 材料との共培養により非特異的に刺激された TIL をポジティブコントロールとした。

【図 4 A】図 4 A は、DNA トランスフェクトされていない標的 COS7 細胞 (COS7) 又は患者 4391 によって発現された 4 つの異なる HLA 対立遺伝子 (HLA-A\*03:01、HLA-C\*11:01、HLA-B\*55:01 又は HLA-C\*01:02) のいずれかで DNA トランスフェクトされた標的 COS7 細胞と共同培養することに対して患者 4391 の腫瘍断片 F1 から TIL によって分泌された IFN- $\gamma$  (スポット /  $3 \times 10^4$  細胞) の ELISPOT 測定結果を示すグラフである。標的細胞に、指示された濃度の G12V ME8 をパルス照射した。

【図 4 B】図 4 B は、DNA トランスフェクトされていない標的 COS7 細胞 (COS7) 又は患者 4391 によって発現された 4 つの異なる HLA 対立遺伝子 (HLA-A\*03:01、HLA-C\*11:01、HLA-B\*55:01 又は HLA-C\*01:02) のいずれかで DNA トランスフェクトされた標的 COS7 細胞と共同培養することに対して患者 4391 の腫瘍断片 F1 から TIL によって分泌された IFN- $\gamma$  (スポット /  $3 \times 10^4$  細胞) の ELISPOT 測定結果を示すグラフである。標的細胞に、指示された濃度の G12V LP をパルス照射した。

【図 4 C】図 4 C は、DNA トランスフェクトされていない標的 COS7 細胞 (COS7) 又は患者 4391 によって発現された 4 つの異なる HLA 対立遺伝子 (HLA-A\*03:01、HLA-C\*11:01、HLA-B\*55:01 又は HLA-C\*01:02) のいずれかで DNA トランスフェクトされた標的 COS7 細胞と共同培養することに対して患者 4391 の腫瘍断片 F1 から TIL によって分泌された IFN- $\gamma$  (スポット /  $3 \times 10^4$  細胞) の ELISPOT 測定結果を示すグラフである。標的細胞に、指示された濃度の WT LP をパルス照射した。

【図 4 D】図 4 D は、DNA トランスフェクトされていない標的 COS7 細胞 (COS7) 又は患者 4391 によって発現された 4 つの異なる HLA 対立遺伝子 (HLA-A\*03:01、HLA-C\*11:01、HLA-B\*55:01 又は HLA-C\*01:02) のいずれかで DNA トランスフェクトされた標的 COS7 細胞と共同培養することに対して患者 4391 の腫瘍断片 F1 から TIL によって分泌された IFN- $\gamma$  (スポット /  $3 \times 10^4$  細胞) の ELISPOT 測定結果を示すグラフである。HLA-C\*01:02 で DNA トランスフェクトした COS7 細胞を、指示された濃度の G12V ME8、G12V LP、又は WT LP でパルスした (図 4 D)。

【図 5 A】図 5 A は、TCR で形質転換された PBL と、指示された濃度の G12V M

10

20

30

40

50

E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列 ) でパルスした標的細胞との共培養に  
 応答して、分泌した I F N - ( スポット / 3 e 4 ( 3 × 1 0 <sup>4</sup> ) 細胞 ) の E L I S P O  
 T 測定値を示すグラフである。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料と共培養  
 した形質転換細胞はポジティブコントロールとして用いた。

【図 5 B】図 5 B は、 T C R で形質転換された P B L と、指示された濃度の G 1 2 V M  
 E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列 ) でパルスした標的細胞との共培養に  
 応答して、 4 - 1 B B / O X 4 0 + 細胞の割合の E L I S P O T 測定値を示すグラフであ  
 る。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料と共培養した形質転換細胞はポジ  
 ティブコントロールとして用いた。 C D 8 + ゲートされた細胞は、図 5 B に示されてい  
 る。

【図 5 C】図 5 C は、 T C R で形質転換された P B L と、指示された濃度の G 1 2 V M  
 E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列 ) でパルスした標的細胞との共培養に  
 応答して、 4 - 1 B B / O X 4 0 + 細胞の割合の E L I S P O T 測定値を示すグラフであ  
 る。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料と共培養した形質転換細胞はポジ  
 ティブコントロールとして用いた。 C D 4 + ゲートされた細胞は、図 5 C に示されてい  
 る。

【図 6】図 6 は、異なるペプチドプール ( P P ) 又は異なる T M G に対する新規抗原反応  
 性についてスクリーニングした 4 3 8 5 T I L フラグメント 1 1 によって分泌された I  
 F N - の E L I S P O T 測定結果を示す ( P M A / I o 材料はポジティブコントロール  
 として機能した ) 。

【図 7 A】図 7 A は、 T C R 4 で形質転換した 4 3 8 5 P B L 若しくは T I L 片 1 1  
 ( F 1 1 ) と、 R A S 最小エピトープ ( M E ) 4 ~ 8 のうちの 1 つ、 R A S W T L P  
 、 R A S G 1 2 V L P でパルスした 4 3 8 5 自己 D C 標的細胞又は R A S W T F  
 L 、 G 1 2 V F L 、 若しくは T M G 2 ( 図 6 の T M G 、 R A S G 1 2 V を含む ) で m  
 R N A トランスフェクトした D C との共培養に対しての、 C D 8 + ゲート細胞中の 4 - 1  
 B B / O X 4 0 + 細胞のパーセントを示すグラフである。 D M S O でパルスした標的細胞  
 、 又は T 細胞のみをネガティブコントロールとした。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b  
 e a d s 材料を用いた T 細胞の共培養は、ポジティブコントロールとして機能した。ラベ  
 ルは、必要に応じてマーカーを区別するために使用されている。

【図 7 B】図 7 B は、 T C R 4 で形質転換した 4 3 8 5 P B L 若しくは T I L 片 1 1  
 ( F 1 1 ) と、 R A S 最小エピトープ ( M E ) 4 ~ 8 のうちの 1 つ、 R A S W T L P  
 、 R A S G 1 2 V L P でパルスした 4 3 8 5 自己 D C 標的細胞又は R A S W T F  
 L 、 G 1 2 V F L 、 若しくは T M G 2 ( 図 6 の T M G 、 R A S G 1 2 V を含む ) で m  
 R N A トランスフェクトした D C との共培養に対しての、 C D 4 + ゲート細胞中の 4 - 1  
 B B / O X 4 0 + 細胞のパーセントを示すグラフである。 D M S O でパルスした標的細胞  
 、 又は T 細胞のみをネガティブコントロールとした。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b  
 e a d s 材料を用いた T 細胞の共培養は、ポジティブコントロールとして機能した。ラベ  
 ルは、必要に応じてマーカーを区別するために使用されている。

【図 7 C】図 7 C は、 T C R 4 で形質転換した 4 3 8 5 P B L 若しくは T I L 片 1 1  
 ( F 1 1 ) と、 R A S 最小エピトープ ( M E ) 4 ~ 8 のうちの 1 つ、 R A S W T L P  
 、 R A S G 1 2 V L P でパルスした 4 3 8 5 自己 D C 標的細胞又は R A S W T F  
 L 、 G 1 2 V F L 、 若しくは T M G 2 ( 図 6 の T M G 、 R A S G 1 2 V を含む ) で m  
 R N A トランスフェクトした D C との共培養に対しての、分泌 I F N - の E L I S P O  
 T 測定 ( スポット / 3 e 4 ( 3 × 1 0 <sup>4</sup> ) 細胞 ) を示すグラフである。 D M S O でパルス  
 した標的細胞、 又は T 細胞のみをネガティブコントロールとした。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8  
 D y n a b e a d s 材料を用いた T 細胞の共培養は、ポジティブコントロールとして機能  
 した。ラベルは、必要に応じてマーカーを区別するために使用されている。

【図 8 A】図 8 A は、 4 3 8 5 の P B L への T C R 導入効力、及びこの実験に使用した細  
 胞の C D 8 / C D 4 集団分布を示すドットプロットである。

【図 8 B】図 8 B は、 I F N - E L I S P O T 画像を示す。

【図 9 A】図 9 A は、 R A S W T L P 、 R A S G 1 2 V L P 又は、 R A S G 1  
 2 V M E 8 の示された濃度でパルスした自己 D C 標的細胞との 4 3 8 5 T I L F 1

10

20

30

40

50

1の共培養に対する応答として、分泌されたIFN- $\gamma$ のELISPOT測定(スポット/3e4(3×10<sup>4</sup>)細胞)中の4-1BB/OX40+細胞のパーセンテージを示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養したTILF11細胞をポジティブコントロールとして使用。T細胞のみ(標的細胞なし)をネガティブコントロールとした。

【図9B】図9Bは、RAS WT LP、RAS G12V LP又は、RAS G12V ME8の示された濃度でパルスした自己DC標的細胞との4385 TILF11の共培養に対する応答として、CD8+ゲート細胞中の4-1BB/OX40+細胞のパーセンテージを示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養したTILF11細胞をポジティブコントロールとして使用。T細胞のみ(標的細胞なし)をネガティブコントロールとした。

10

【図9C】図9Cは、RAS WT LP、RAS G12V LP又は、RAS G12V ME8の示された濃度でパルスした自己DC標的細胞との4385 TILF11の共培養に対する応答として、CD4+ゲート細胞中の4-1BB/OX40+細胞のパーセンテージを示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養したTILF11細胞をポジティブコントロールとして使用。T細胞のみ(標的細胞なし)をネガティブコントロールとした。

【図10A】図10Aは、4385抗RAS TCRで形質転換したPBLと、RAS WT LP、RAS G12V LP、又はRAS G12V ME8の指示濃度でパルスした自己DC標的細胞との共培養に対する応答として、分泌されたIFN- $\gamma$ のELISPOT測定(スポット/3e4(3×10<sup>4</sup>)細胞)中の4-1BB/OX40+細胞のパーセンテージを示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養した形質転換細胞をポジティブコントロールとして使用。T細胞のみ(標的細胞なし)をネガティブコントロールとした。

20

【図10B】図10Bは、4385抗RAS TCRで形質転換したPBLと、RAS WT LP、RAS G12V LP、又はRAS G12V ME8の指示濃度でパルスした自己DC標的細胞との共培養に対する応答として、CD8+ゲート細胞中の4-1BB/OX40+細胞のパーセンテージを示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養した形質転換細胞をポジティブコントロールとして使用。T細胞のみ(標的細胞なし)をネガティブコントロールとした。

30

【図10C】図10Cは、4385抗RAS TCRで形質転換したPBLと、RAS WT LP、RAS G12V LP、又はRAS G12V ME8の指示濃度でパルスした自己DC標的細胞との共培養に対する応答として、CD4+ゲート細胞中の4-1BB/OX40+細胞のパーセンテージを示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養した形質転換細胞をポジティブコントロールとして使用。T細胞のみ(標的細胞なし)をネガティブコントロールとした。

【図11A】図11Aは、4385抗RAS G12V TCR4で形質転換したPBLと、表示した濃度のRAS G12V ME8又はRAS G12V ME WT4(ME8のWT配列)でパルスした自己DC標的細胞との共培養に対する応答として分泌されたIFN- $\gamma$ のELISPOT測定(スポット/3e4(3×10<sup>4</sup>)細胞)を示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養した形質転換細胞をポジティブコントロールとして使用した。

40

【図11B】図11Bは、4385抗RAS G12V TCR4で形質転換したPBLと、表示した濃度のRAS G12V ME8又はRAS G12V ME WT4(ME8のWT配列)でパルスした自己DC標的細胞との共培養に対する応答としての、CD8+ゲート細胞中の4-1BB/OX40+細胞の割合を示すグラフである。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料と共培養した形質転換細胞をポジティブコントロールとして使用した。

【図11C】図11Cは、4385抗RAS G12V TCR4で形質転換したPBLと、表示した濃度のRAS G12V ME8又はRAS G12V ME WT4(M

50

E 8 の W T 配列) でパルスした自己 D C 標的細胞との共培養に対する応答としての、C D 4 + ゲート細胞中の 4 - 1 B B / O X 4 0 + 細胞の割合を示すグラフである。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料と共培養した形質転換細胞をポジティブコントロールとして使用した。

【図 1 2 A】図 1 2 A は、I F N E L I S P O T により試験した、R A S G 1 2 V F L、R A S W T F L でトランスフェクトし、R A S W T L P、R A S G 1 2 V L P、R A S G 1 2 V M E ( M E 8 なし) 又は M E 8 を負荷した自己 D C との T I L 片共培養の反応性を示すグラフである。D M S O 又は抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s で処理した D C は、それぞれ、ネガティブ又はポジティブコントロールとした。

10

【図 1 2 B】図 1 2 B は、C D 8 にゲートした 4 1 B B / O X 4 0 フローサイトメトリアッセイを用いて、R A S G 1 2 V F L、R A S W T F L でトランスフェクトし、R A S W T L P、R A S G 1 2 V L P、R A S G 1 2 V M E ( M E 8 なし) 又は M E 8 を負荷した自己 D C との T I L 片共培養の反応性を示すグラフである。D M S O 又は抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s で処理した D C は、それぞれ、ネガティブ又はポジティブコントロールとした。

【図 1 2 C】図 1 2 C は、C D 4 ( 図 1 2 C ) にゲートした 4 1 B B / O X 4 0 フローサイトメトリアッセイを用いて、R A S G 1 2 V F L、R A S W T F L でトランスフェクトし、R A S W T L P、R A S G 1 2 V L P、R A S G 1 2 V M E ( M E 8 なし) 又は M E 8 を負荷した自己 D C との T I L 片共培養の反応性を示すグラフである。D M S O 又は抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s で処理した D C は、それぞれ、ネガティブ又はポジティブコントロールとした。

20

【図 1 3 A】図 1 3 A は、I F N E L I S P O T を用いて試験した反応性を示すグラフであり、ソート濃縮後に C D 8 + にゲーティングされたものである。患者 4 3 9 4 の腫瘍断片 F 1 2 からの T I L を、R A S 反応性 T I L 集団の濃縮後、異なる濃度の R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列) を負荷した自己 D C と共培養した。

【図 1 3 B】図 1 3 B は、I 4 1 B B / O X 4 0 フローサイトメトリアッセイを用いて試験した反応性を示すグラフであり、ソート濃縮後に C D 8 + にゲーティングされたものである。患者 4 3 9 4 の腫瘍断片 F 1 2 からの T I L を、R A S 反応性 T I L 集団の濃縮後、異なる濃度の R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列) を負荷した自己 D C と共培養した。

30

【図 1 4 A】図 1 4 A は、R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S W T 4 M E ( M E 8 の W T 配列)、R A S W T L P、R A S G 1 2 V L P を負荷した自己 D C、又は R A S G 1 2 V F L 又は R A S W T F L 遺伝子の m R N A でトランスフェクトした自己 D C と共培養した、4 3 9 4 T C R A 及び 4 3 9 4 T C R B でトランスフェクトした P B L について、I F N E L I S P O T によって試験した反応性を示すグラフである。D M S O で処理した D C との共培養はネガティブコントロールとして扱った。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料との共培養による非特異的刺激をポジティブコントロールとした。

40

【図 1 4 B】図 1 4 B は、R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S W T 4 M E ( M E 8 の W T 配列)、R A S W T L P、R A S G 1 2 V L P を負荷した自己 D C、又は R A S G 1 2 V F L 又は R A S W T F L 遺伝子の m R N A でトランスフェクトした自己 D C と共培養した、4 3 9 4 T C R A 及び 4 3 9 4 T C R B でトランスフェクトした P B L について、C D 4 へのゲートによる 4 1 B B / O X 4 0 フローサイトメトリーによって試験した反応性を示すグラフである。D M S O で処理した D C との共培養はネガティブコントロールとして扱った。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料との共培養による非特異的刺激をポジティブコントロールとした。

【図 1 4 C】図 1 4 C は、R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S W T 4 M E ( M E 8 の W T 配列)、R A S W T L P、R A S G 1 2 V L P、又は R A S G 1 2 V

50

F L 又は R A S W T F L 遺伝子の m R N A でトランスフェクトした自己 D C と共培養した、4 3 9 4 T C R A 及び 4 3 9 4 T C R B でトランスフェクトした P B L について、C D 8 へのゲートによる 4 1 B B / O X 4 0 フローサイトメトリーによって試験した反応性を示すグラフである。D M S O で処理した D C との共培養はネガティブコントロールとして扱った。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料との共培養による非特異的的刺激をポジティブコントロールとした。

【図 1 5 A】図 1 5 A は、異なる濃度の R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列) を負荷した 4 3 9 4 D C と共培養した 4 3 9 4 T C R A 導入 P B L について I F N E L I S P O T による反応性の試験を示すグラフである。単独で培養した T C R 導入 P B L をネガティブコントロールとした。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料との共培養により非特異的に刺激された T C R 導入 P B L をポジティブコントロールとした。

【図 1 5 B】図 1 5 B は、異なる濃度の R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列) を負荷した 4 3 9 4 D C と共培養した 4 3 9 4 T C R A 導入 P B L について C D 4 へのゲーティングによる反応性の試験を示すグラフである。単独で培養した T C R 導入 P B L をネガティブコントロールとした。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料との共培養により非特異的に刺激された T C R 導入 P B L をポジティブコントロールとした。

【図 1 5 C】図 1 5 C は、異なる濃度の R A S G 1 2 V M E 8 又は R A S M E W T 4 ( M E 8 の W T 配列) を負荷した 4 3 9 4 D C と共培養した 4 3 9 4 T C R A 導入 P B L について C D 8 へのゲーティングによる反応性の試験を示すグラフである。単独で培養した T C R 導入 P B L をネガティブコントロールとした。抗 C D 3 / 抗 C D 2 8 D y n a b e a d s 材料との共培養により非特異的に刺激された T C R 導入 P B L をポジティブコントロールとした。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 3】

( 配列番号 2 8 ) ( 配列番号 9 の連続するアミノ酸残基 2 ~ 2 4 に対応する例示的な W T R A S ペプチド) である場合、「G 1 2 V」は、たとえ配列番号 2 8 の下線付きグリシンの実際の位置が 1 1 であるとしても、配列番号 2 8 の下線付きグリシンの バリン への置換を指す。

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 8】

本発明の一実施形態においては、H L A クラス I 分子は、H L A - C 分子である。H L A - C 分子は、鎖と 2 マイクログロブリンのヘテロ二量体である。H L A - C 鎖は、H L A - A 遺伝子によってコードされ得る。2 マイクログロブリンは、アルファ鎖のアルファ 1、アルファ 2、アルファ 3 ドメインに非共有結合的に結合して、H L A - A 複合体を構築する。H L A - C 分子は、任意の H L A - C 分子であってもよい。本発明の一実施形態においては、H L A クラス I 分子は、H L A - C 0 1 分子である。H L A - C 0 1 分子は、任意の H L A - C 0 1 分子であってもよい。H L A - C 0 1 分子の例としては、H L A - C \* 0 1 : 0 2 を含み得る。

【手続補正 7】

【補正対象書類名】明細書

10

20

30

40

50

【補正対象項目名】 0 0 3 6

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 3 6 】

本発明の別の実施形態では、TCRは、配列番号31のアミノ酸配列を含むCDR1（鎖のCDR1）、配列番号32のアミノ酸配列を含むCDR2（鎖のCDR2）、及び配列番号33のアミノ酸配列を含むCDR3（鎖のCDR3）を含む第1のポリペプチド鎖、並びに配列番号34のアミノ酸配列を含むCDR1（鎖のCDR1）、配列番号35のアミノ酸配列を含むCDR2（鎖のCDR2）、及び配列番号36のアミノ酸配列を含むCDR3（鎖のCDR3）を含む第2のポリペプチド鎖を含む。

10

【手続補正8】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 3 7

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 3 7 】

本発明の別の実施形態では、TCRは、配列番号64のアミノ酸配列を含むCDR1（鎖のCDR1）、配列番号65のアミノ酸配列を含むCDR2（鎖のCDR2）、及び配列番号66のアミノ酸配列を含むCDR3（鎖のCDR3）を含む第1のポリペプチド鎖、並びに配列番号67のアミノ酸配列を含むCDR1（鎖のCDR1）、配列番号68のアミノ酸配列を含むCDR2（鎖のCDR2）及び配列番号69のアミノ酸配列を含むCDR3（鎖のCDR3）を含む第2のポリペプチド鎖を含む。

20

【手続補正9】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 3 8

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 3 8 】

これに関して、本発明のTCRは、配列番号1～6、31～36及び64～69のいずれかから選択されるアミノ酸配列のいずれか1以上を含み得る。本発明の一実施形態においては、TCRは、(a)配列番号1～3の全て、(b)配列番号4～6の全て、(c)配列番号31～33の全て、(d)配列番号34～36の全て、(e)配列番号64～66の全て、(f)配列番号67～69の全て、(g)配列番号1～6の全て、(h)配列番号31～36の全て、又は(i)配列番号64～69の全てのアミノ酸配列を含む。特に好ましい実施形態では、TCRは、(i)配列番号1～6の全て、(ii)配列番号31～36の全て、又は(iii)配列番号64～69の全てのアミノ酸配列を含む。

30

【手続補正10】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 4 0

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 4 0 】

本発明の実施形態において、TCRは、上記で規定されたCDRを含むTCRの可変領域のアミノ酸配列を含む。TCRは、ヒト可変領域、例えば、ヒト鎖可変領域及びヒト鎖可変領域を含むことができる。この点に関して、TCRは、例えば、以下のアミノ酸配列を含むことができる。配列番号7（野生型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域）；配列番号90（変異型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域）；配列番号8（変異型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域）；配列番号91（野生型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域）；配列番号37（野生型N末端シグナルペ

40

50

チドを有する4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号92 (変異型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号38 (変異型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号93 (野生型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号70 (野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号132 (変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号71 (変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号133 (野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号47 (IMGTで予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号94 (SignalPで予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号48 (IMGTで予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号95 (SignalPで予測されたN末端シグナル配列を有しない4391 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号49 (IMGTで予測されたN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号96 (SignalPで予測されたN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号50 (IMGTで予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号97 (SignalPで予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号72 (IMGTで予測されたN末端シグナルペプチドを有しない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号88 (SignalPで予測されたN末端シグナルペプチドを有しない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号73 (IMGTで予測されたN末端シグナルペプチドを有さない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号89 (SignalPで予測されたN末端シグナル配列を有さない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号7及び8の両方 ; 配列番号7及び91の両方 ; 配列番号90及び8の両方 ; 配列番号90及び91の両方 ; 配列番号37及び38 ; 配列番号37及び93の両方 ; 配列番号92及び38の両方 ; 配列番号92及び93の両方 ; 配列番号70及び71の両方 ; 配列番号70及び133の両方 ; 配列番号132及び71の両方 ; 配列番号132及び133の両方 ; 配列番号47及び48の両方 ; 配列番号94及び95の両方 ; 配列番号49及び50の両方 ; 配列番号96及び97の両方 ; 配列番号72及び73の両方 ; 又は配列番号88及び89の両方である。好ましくは、TCRは、(i) 配列番号7及び8の両方 ; (ii) 配列番号90及び91の両方 ; (iii) 配列番号37及び38の両方 ; (iv) 配列番号92及び93の両方 ; (v) 配列番号70及び71の両方 ; (vi) 配列番号132及び133の両方 ; (vii) 配列番号47及び48の両方 ; (viii) 配列番号94及び95の両方 ; (ix) 配列番号49及び50の両方 ; (x) 配列番号96及び97の両方 ; (xi) 配列番号72及び73の両方 ; あるいは (xii) 配列番号88及び89の両方を含む。

10

20

30

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0042

40

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0042】

本発明の実施形態は、ヒト可変領域とマウス定常領域とを含むキメラTCRを提供し、ここで、TCRは、HLAクラスI分子によって提示される変異ヒトRASアミノ酸配列に対して抗原特異性を有する。マウス定常領域は、任意の1つ又は複数の利点を提供し得る。例えば、マウス定常領域は、本発明TCRが導入された宿主細胞の内在性TCRとのミスペアを減少させることができる。代替的又は追加的に、マウス定常領域は、ヒト定常領域を有する同じTCRと比較して、本発明TCRの発現を増加させることができる。キメラTCRは、配列番号19 (野生型(WT)マウス鎖定常領域)、配列番号20 (W

50

Tマウス 鎖定常領域)、又は配列番号19及び20の両方のアミノ酸配列から構成されてもよい。好ましくは、本発明TCRは、配列番号19及び20の両方のアミノ酸配列を含む。キメラTCRは、本発明の他の側面に関して本明細書に記載されるようなCDR領域のいずれかと組み合わせて、本明細書に記載されるマウス定常領域のいずれかを含んでいてもよい。この点に関して、TCRは、例えば、以下のアミノ酸配列から構成されてもよい。(a)配列番号1~3及び19の全て;(b)配列番号4~6及び20の全て;(c)配列番号31~33及び19の全て;(d)配列番号34~36及び20の全て;(e)配列番号64~66及び19の全て;(f)配列番号67~69及び20の全て;(g)配列番号1~6の全て及び19~20の全て;(h)配列番号31~36及び19~20の全て;又は配列番号64~69の全てのものである。本発明の別の実施形態では、キメラTCRは、例えば、本発明の他の態様に関して本明細書に記載された可変領域のいずれかと組み合わせて、本明細書に記載されたマウス定常領域のいずれかを含んでいてもよい。この点に関して、TCRは、以下のアミノ酸配列から構成されてもよい。(i)配列番号7及び19の両方;(ii)配列番号90及び19の両方;(iii)配列番号8及び20の両方;(iv)配列番号91及び20の両方;(v)配列番号37及び19の両方;(vi)配列番号92及び19の両方;(vii)配列番号38及び20の両方;(viii)配列番号93及び20の両方;(ix)配列番号70及び19の両方;(x)配列番号132及び19の両方;(xi)配列番号71及び20の両方;(xii)配列番号133及び20の両方;(xiii)配列番号7~8及び19~20の全て;(xiv)配列番号90~91及び19~20の全て;(xv)配列番号37~38及び19~20の全て;(xvi)配列番号92~93及び19~20の全て;又は(xvii)配列番号70~71及び19~20の全て;(xviii)配列番号132~133及び19~20の全て;を含み得る。

10

20

【**手続補正12**】【**補正対象書類名**】明細書【**補正対象項目名**】0043【**補正方法**】変更【**補正の内容**】【**0043**】

本発明の別の実施形態では、TCRは、以下のアミノ酸配列を含む。配列番号23(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)、配列番号102(WTマウス定常領域及び変異体N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)、配列番号24(WTマウス定常領域及び変異体N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)、配列番号103(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)、配列番号39(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、配列番号108(WTマウス定常領域及び変異体N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、配列番号40(WTマウス定常領域及び変異体N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、配列番号109(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、配列番号78(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、配列番号138(WTマウス定常領域及び変異体N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、配列番号79(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、配列番号79(WTマウス定常領域及び変異体N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、配列番号139(WTマウス定常領域及びWT N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、配列番号51(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4391 TCRの鎖)、配列番号114(WTマウス定常領域を有し、SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドのない4391 TCRの鎖)、配列番号52(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナ

30

40

50

ルペプチドのない4391 TCRの鎖)、配列番号115(WTマウス定常領域を有し、SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4391 TCRの鎖)、配列番号53(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖)、配列番号120(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、配列番号20(WTマウス定常領域を有し、SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖)、配列番号54(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖)、配列番号121(WTマウス定常領域を有し、SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの鎖)、配列番号80(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖)、配列番号146(WTマウス定常領域を有し、SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖)、配列番号81(WTマウス定常領域を有し、IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖)、配列番号147(WTマウス定常領域を有し、SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖)、配列番号23及び24の両方、配列番号23及び103の両方、配列番号102及び24の両方、配列番号102及び103の両方、配列番号39及び40の両方、配列番号39及び109の両方、配列番号108及び40の両方、配列番号108及び109の両方、配列番号78及び79の両方、配列番号78及び139の両方、配列番号138及び79の両方、配列番号138及び139の両方、配列番号51及び52の両方、配列番号114及び115の両方、配列番号53~54の両方、配列番号120及び121の両方、配列番号80及び81の両方、又は配列番号146及び147の両方を含む。

【**手続補正13**】

【**補正対象書類名**】明細書

【**補正対象項目名**】0044

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

【0044】

本発明の実施形態では、TCRは、可変領域及び定常領域を含む鎖と、可変領域及び定常領域を含む鎖を含む。この点に関して、TCRは例えば、(a)配列番号21(野生型N末端シグナルペプチドを有する4391TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖を含み、ここで、(i)配列番号21の180位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号21の244位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号21の246位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号21の247位のXは、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(b)配列番号100(変異体N末端シグナルペプチドを有する4391TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖を含み、ここで(i)配列番号100の180位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号100の244位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号100の246位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号100の247位のXは、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(c)配列番号22(変異体N末端シグナルペプチドを有する4391TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖、ここで配列番号22の190位のXはSer又はCysである；(d)配列番号101(野生型N末端シグナルペプチドを有する4391TCRの鎖)であり、ここで配列番号101の190位のXはSer又はCysである；(e)配列番号41のアミノ酸配列(野生型N末端シグナルペプチドを有する4385TCRの鎖)を含む

鎖であり、ここで ( i ) 配列番号 4 1 の 1 8 1 位の X は Thr 又は Cys であり ; ( i i ) 配列番号 4 1 の 2 4 5 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり ; ( i i i ) 配列番号 4 1 の 2 4 7 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 又は Trp であり ; ( i v ) 配列番号 4 1 の 2 4 8 位の X は、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり ; ( f ) 配列番号 1 0 6 のアミノ酸配列を含む鎖 ( 変異体 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 8 5 TCR の鎖 ) であり、ここで ( i ) 配列番号 1 0 6 の 1 8 1 位の X は Thr 又は Cys であり ; ( i i ) 配列番号 1 0 6 の 2 4 5 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり ; ( i i i ) 配列番号 1 0 6 の 2 4 7 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又は Trp であり ; 及び ( i v ) 配列番号 1 0 6 の 2 4 8 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり ; ( g ) 配列番号 4 2 のアミノ酸配列を含む鎖 ( 変異型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 8 5 TCR の鎖 )、ここで配列番号 4 2 の 1 9 5 位の X は Ser 又は Cys ; ( h ) 配列番号 1 0 7 のアミノ酸配列を含む鎖、( 変異型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 8 5 TCR の鎖 )、ここで配列番号 4 2 の 1 9 5 位の X は Ser 又は Cys ; ( h ) 配列番号 1 0 7 ( 野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 8 5 TCR の鎖 )、ここで配列番号 1 0 7 の 1 9 5 位の X は Ser 又は Cys である ; ( I ) 配列番号 7 4 のアミノ酸配列を含む鎖 ( 野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 9 4 TCR の鎖 )、ここで ( i ) 配列番号 7 4 の 1 8 0 位の X は Thr 又は Cys であり ; ( i i ) 配列番号 7 4 の 2 4 4 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり ; ( i i i ) 配列番号 7 4 の 2 4 6 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 又は Trp であり ; ( i v ) 配列番号 7 4 の 2 4 7 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp である ; ( j ) 配列番号 1 3 6 のアミノ酸配列を含む鎖 ( 変異型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 9 4 TCR の鎖 ) であり、ここで ( i ) 配列番号 1 3 6 の 1 8 0 位の X は Thr 又は Cys であり ; ( i i ) 配列番号 1 3 6 の 2 4 4 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり ; ( i i i ) 配列番号 1 3 6 の 2 4 6 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 又は Trp であり ; ( i v ) 配列番号 1 3 6 の 2 4 7 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり ; ( k ) 配列番号 7 5 のアミノ酸配列を含む鎖 ( 変異型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 9 4 TCR の鎖 )、ここで配列番号 7 5 の 1 8 7 位における X は、Ser 又は Cys である ; ( l ) 配列番号 1 3 7 ( 野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 9 4 TCR の鎖 ) のアミノ酸配列を含む鎖であって、ここで、配列番号 1 3 7 の 1 8 7 位の X は Ser 又は Cys である ; ( m ) ( a ) 及び ( c ) の両方 ; ( n ) ( b ) 及び ( d ) の両方 ; ( o ) ( e ) 及び ( g ) の両方 ; ( p ) ( f ) 及び ( h ) の両方 ; ( q ) ( i ) 及び ( k ) の両方 ; ( r ) ( j ) 及び ( l ) の両方 ; ( s ) 配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含む鎖 ( I M G T により予測された N 末端シグナルペプチドなしの 4 3 9 1 TCR の鎖 ) ; ここで、( i ) 配列番号 5 5 の 1 6 0 位の X は Thr 又は Cys であり ; ( i i ) 配列番号 5 5 の 2 2 4 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり ; ( i i i ) 配列番号 5 5 の 2 2 6 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 又は Trp であり ; ( i v ) 配列番号 5 5 の 2 2 7 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり ; ( t ) 配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含む鎖 ( S i g n a l P により予測される N 末端シグナルペプチドを含まない 4 3 9 1 TCR の鎖 ) であり、ここで ( i ) 配列番号 1 1 2 の 1 5 9 位の X は Thr 又は Cys であり ; ( i i ) 配列番号 1 1 2 の 2 2 3 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり ; ( i i i ) 配列番号 1 1 2 の 2 2 5 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又は Trp であり ; 及び ( i v ) 配列番号 1 1 2 の 2 2 6 位

のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrp  
 であり；(u)配列番号56(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドを有し  
 ない4391 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含み、ここで配列番号56の168位の  
 XはSer又はCys；(v)配列番号113(Signal Pによって予測されるN末  
 端シグナルペプチドを有さない4391 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であ  
 り、ここで配列番号113の173位のXはSer又はCysである；(w)配列番号5  
 7(IMG Tによって予測されるN末端シグナルペプチドのない4385 TCRの鎖  
 )のアミノ酸配列を含む鎖であり、ここで(i)配列番号57の160位のXはThr  
 又はCysであり；(ii)配列番号57の224位のXはSer、Ala、Val、L  
 eu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号57の2  
 26位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであ  
 り；及び(iv)配列番号57の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、I  
 le、Pro、Phe、Met、又はTrpである；(x)配列番号118のアミノ酸配列  
 を含む鎖(Signal Pにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない438  
 5 TCRの鎖)であって、ここで(i)配列番号118の161位のXはThr又は  
 Cysであり；(ii)配列番号118の225位のXはSer、Ala、Val、L  
 eu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号118の  
 227位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrp  
 であり；及び(iv)配列番号118の228位のXはGly、Ala、Val、Leu  
 、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(y)配列番号58のアミノ酸  
 配列を含む鎖(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4385  
 TCRの鎖)であって、ここで配列番号58の173位のXはSer又はCys；(z  
 )配列番号119のアミノ酸配列を含む鎖(IMG Tにより予測されるN末端シグナル  
 ペプチドのない4385 TCRの鎖)、ここで、配列番号119の178位のXはS  
 er又はCysである；(aa)配列番号76(IMG Tによって予測されるN末端シグ  
 ナルペプチドを有さない4394 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であり、こ  
 こで、(i)配列番号76の159位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号  
 76の223位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Me  
 t又はTrpであり；(iii)配列番号76の225位のXはMet、Ala、Val  
 、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；及び(iv)配列番号76の22  
 6位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はT  
 rpであり；(bb)配列番号144のアミノ酸配列(Signal Pにより予測される  
 N末端シグナルペプチドを含まない4394 TCRの鎖)を含む鎖であり、ここで  
 、(i)配列番号144の160位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号1  
 44の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Me  
 t、又はTrpであり；(iii)配列番号144の226位のXはMet、Ala、V  
 al、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号14  
 4の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met  
 、又はTrpであり；(cc)配列番号77(IMG Tにより予測されるN末端シグナル  
 ペプチドを有しない4394 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であって、配列  
 番号77の168位におけるXがSer又はCysであるもの；(dd)配列番号145  
 (Signal Pによって予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4394 TC  
 Rの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であって、ここで配列番号145の166位のXは  
 Ser又はCysである；(ee)(s)及び(u)両方；(ff)(t)及び(v)両  
 方；(gg)(w)及び(y)両方；(hh)(x)及び(z)両方；(hh)(a  
 a)及び(cc)両方；又は(ii)(bb)及び(dd)両方を含む。本発明の実施形態  
 では、配列番号21を含むTCRは、配列番号23(4391 TCRの非置換鎖)を含  
 んでいない。本発明の実施形態において、配列番号100を含むTCRは、配列番号10  
 2(4391 TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態において、配列番号2  
 2を構成するTCRは、配列番号24(4391 TCRの非置換鎖)を含まない。本発

10

20

30

40

50

明の実施形態において、配列番号101を含むTCRは、配列番号103(4391TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態において、配列番号41を含むTCRは、配列番号39(4385TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態において、配列番号106を構成するTCRは、配列番号108(4385TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態において、配列番号42を含むTCRは、配列番号40(4385TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態において、配列番号107を含むTCRは、配列番号109(4385TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態において、配列番号74を含むTCRは、配列番号78(4394TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態では、配列番号136を含むTCRは、配列番号138(4394TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態では、配列番号75を含むTCRは、配列番号79(4394TCRの非置換鎖)を含まない。本発明の実施形態では、配列番号137を含むTCRは、配列番号139(4394TCRの非置換鎖)を含まない。

10

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0048

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0048】

本発明の実施形態においては、システイン置換キメラTCRは、全長鎖及び全長ペータ鎖を含む。システイン置換キメラTCRのアルファ鎖及びペータ鎖の配列の例を表2に示す。本発明の一実施形態においては、TCRは、(i)配列番号21、(ii)配列番号22、(iii)配列番号100；(iv)配列番号101；(v)配列番号41；(vi)配列番号42；(vii)配列番号106；(viii)配列番号107；(ix)配列番号74、(x)配列番号75、(xi)配列番号136、(xii)配列番号137；(xiii)配列番号21及び22の両方、(xiv)配列番号100及び101の両方、(xv)配列番号41及び42の両方；(xvi)配列番号106及び107の両方；(xvii)配列番号74及び75の両方；(xviii)配列番号136及び137の両方；(xix)配列番号55；(xx)配列番号56；(xxi)配列番号112；(xxii)配列番号113；(xxiii)配列番号57；(xxiv)配列番号58；(xxv)配列番号118；(xxvi)配列番号119；(xxvii)配列番号76；(xxviii)配列番号77；(xxix)配列番号144；(xxx)配列番号145；(xxxi)配列番号55及び56の両方；(xxxii)配列番号112及び113の両方；(xxxiii)配列番号57及び58の両方；(xxxiv)配列番号118及び119の両方；(xxxv)配列番号76及び77の両方；(xxxvi)配列番号144及び145の両方；ここで配列番号21、22、41、42、55~58、74~77、100、101、106、107、112、113、118、119、136、137、144及び145は全て表2において定義されるとおりである。

20

30

【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0062

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0062】

本発明の実施形態では、置換アミノ酸配列は、鎖及び鎖の一方又は両方の定常領域におけるシステイン置換と、鎖及び鎖の一方又は両方の定常領域の膜貫通(TM)ドメインにおける1、2又は3のアミノ酸の疎水性アミノ酸による置換(複数可)とを含む(以下、「システイン置換LVL-modifiedTCR」としても称される)。この点に関して、TCRは、配列番号19のネイティブなThr48がCysで置換され；配列番号19のネイティブなSer112、Met114、及びGly115の1、2、

40

50

又は3が、独立して、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpで置換され；好ましくはLeu、Ile、又はValで置換され；及び配列番号20のネイティブSer57はCysで置換される。好ましくは、配列番号19のネイティブSer112、Met114、及びGly115の3つ全てが、独立して、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpで置換されていてもよく；好ましくは、Leu、Ile、又はValで置換されていてもよい。本発明の実施形態では、システイン置換されたLVL修飾TCRは、(i)配列番号17、(ii)配列番号18、又は(iii)配列番号17及び18の両方を含み、ここで配列番号17及び18の両方は表4で定義されるとおりである。本発明のシステイン置換されたLVL修飾TCRは、本明細書に記載のCDR又は可変領域のいずれかに加えて、置換された定常領域を含んでもよい。

10

【手続補正16】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0071

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0071】

本発明の実施形態において、システイン置換、LVL修飾TCRは、(a)配列番号98(システイン置換、LVL修飾TCRの鎖定常領域)；(b)配列番号99(システイン置換、LVL修飾TCRの鎖定常領域)；(c)配列番号124(野生型N末端シグナル配列を有するシステイン置換、LVL修飾4391TCRの鎖)；(d)配列番号125(変異型N末端シグナル配列を有するシステイン置換、LVL修飾4391TCRの鎖)；(e)配列番号128(IMG Tによって予測されたN末端シグナル配列を有しないシステイン置換、LVL修飾4391TCRの鎖)；(f)配列番号129(IMG Tにより予測されるN末端シグナル配列のないシステイン置換されたLVL修飾4391TCRの鎖)；(g)配列番号116(Signal Pにより予測されるN末端シグナル配列のないシステイン置換されたLVL修飾4391TCRの鎖)；(h)配列番号117(システイン置換された、LVL修飾4391TCRの鎖、Signal Pにより予測されるN末端シグナル配列なし)；(i)配列番号104(システイン置換されたLVL修飾4391TCRの鎖、N末端シグナル配列の変異体)；(j)配列番号105(野生型N末端シグナル配列を有するシステイン置換LVL修飾4391TCRの鎖)；(k)(a)及び(b)の両方；(l)(c)及び(d)の両方；(m)(e)及び(f)の両方；(n)(g)及び(h)の両方；又は、(o)(i)及び(j)の両方。

20

30

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0072

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0072】

本発明の実施形態において、システイン置換、LVL修飾TCRは、(a)配列番号98(システイン置換、LVL修飾TCRの鎖定常領域)；(b)配列番号99(システイン置換、LVL修飾TCRの鎖定常領域)；(c)配列番号126(野生型N末端シグナル配列を有するシステイン置換、LVL修飾4385TCRの鎖)；(d)配列番号127(変異型N末端シグナル配列を有するシステイン置換、LVL修飾4385TCRの鎖)；(e)配列番号130(IMG Tによって予測されたN末端シグナル配列を有しないシステイン置換、LVL修飾4385TCRの鎖)；(f)配列番号131(IMG Tにより予測されるN末端シグナル配列のないシステイン置換されたLVL修飾4385TCRの鎖)；(g)配列番号122(Signal Pにより予測されるN末端シグナル配列のないシステイン置換されたLVL修飾4385TCRの鎖)

40

50

; (h) 配列番号 123 (SignalPで予測されるN末端シグナル配列を有さないシステイン置換、LVL修飾4385 TCRの鎖); (i) 配列番号 110 (変異体N末端シグナル配列を有するシステイン置換されたLVL修飾4385 TCRの鎖); (j) 配列番号 111 (野生型N末端シグナル配列を有するシステイン置換LVL修飾4385 TCRの鎖); (k) (a)及び(b)の両方; (l) (c)及び(d)の両方; (m) (e)及び(f)の両方; (n) (g)及び(h)の両方; 又は、(o) (i)及び(j)の両方。

【手続補正18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0078

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0078】

これに関して、本発明のポリペプチドは、配列番号1~6及び31~36から選択される任意の1つ以上のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一実施形態では、TCRは、以下のアミノ酸配列を含む。(a)配列番号1~3の全て、(b)配列番号4~6の全て、(c)配列番号31~33の全て、(d)配列番号34~36の全て、(e)配列番号64~66の全て、(f)配列番号67~69の全て、(g)配列番号1~6の全て、(h)配列番号31~36の全て、又は(i)配列番号64~69の全てである。特に好ましい実施形態では、TCRは、以下のアミノ酸配列を含む。(i)配列番号1~6の全て、(ii)配列番号31~36の全て、又は(iii)配列番号64~69の全てのアミノ酸配列を含む。配列番号3、6、33、36、66、及び69のいずれか1つ以上のCDR3、すなわち鎖もしくは鎖又はその両方のCDRは、CDRの最初のアミノ酸のすぐN末端のシステイン又は最終アミノ酸のすぐC末端のフェニルアラニン又はその両方をさらに含んでもよい。

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0079

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0079】

本発明の一実施形態においては、本発明のポリペプチドは、例えば、上記のCDR領域の組合せを含む本発明のTCRの可変領域を含み得る。この点に関して、ポリペプチドは、配列番号7(野生型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号90(変異型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号8(変異型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号91(野生型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号37(野生型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域); 配列番号92(変異型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域); 配列番号38(変異型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域); 配列番号93(野生型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖の可変領域); 配列番号70(野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域); 配列番号132(変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域); 配列番号71(変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域); 配列番号133(野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖の可変領域); 配列番号47(IMG Tで予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号94(SignalPで予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号48(IMG Tで予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖の可変領域); 配列番号95(S

10

20

30

40

50

i g n a l Pで予測されたN末端シグナル配列を有さない4391 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号49 ( I M G Tで予測されたN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号96 ( S i g n a l Pで予測されたN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号50 ( I M G Tで予測されたN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号97 ( S i g n a l Pで予測されたN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号72 ( I M G Tで予測されたN末端シグナルペプチドを有さない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号88 ( S i g n a l Pで予測されたN末端シグナルペプチドを有さない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号73 ( I M G Tで予測されたN末端シグナルペプチドを有さない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号89 ( S i g n a l Pで予測されたN末端シグナル配列を有さない4394 TCRの鎖の可変領域) ; 配列番号7及び8の両方 ; 配列番号7及び91の両方 ; 配列番号90及び8の両方 ; 配列番号90及び91の両方 ; 配列番号37及び38の両方 ; 配列番号37及び93の両方 ; 配列番号92及び38の両方 ; 配列番号92及び93の両方 ; 配列番号70及び71の両方 ; 配列番号70及び133の両方 ; 配列番号132及び71の両方 ; 配列番号132及び133の両方 ; 配列番号47及び48の両方 ; 配列番号94及び95の両方 ; 配列番号49及び50の両方 ; 配列番号96及び97の両方 ; 配列番号72及び73の両方 ; 又は配列番号88及び89の両方を含む場合がある。

10

【手続補正20】

20

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0081

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0081】

本発明の実施形態において、ポリペプチドは、( a ) 配列番号17のアミノ酸配列、ここで、( i ) 配列番号17の48位のXはThr又はCysである ; ( i i ) 配列番号17の112位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpである ; ( i i i ) 配列番号17の114位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり ; 及び( i v ) 配列番号17の115位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり ; ( b ) 配列番号18の57位のXはSer又はCysであり ; 又は( c ) ( a ) 及び( b ) 両方のアミノ酸配列を含む。本発明の実施形態では、ポリペプチドの配列番号17及び18の一方又は両方は、表2~4のいずれか1つに定義されているとおりである。本明細書で提供される鎖定常領域は、N末端アスパラギンで示される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される鎖定常領域のN末端アミノ酸は、アスパラギン酸である。

30

【手続補正21】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0082

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0082】

本発明の実施形態では、本発明ポリペプチドは、本明細書に記載のTCRの鎖又は鎖の全長を含むことができる。この点に関して、本発明ポリペプチドは、配列番号21、配列番号100、配列番号22、配列番号101、配列番号23、配列番号102、配列番号24、配列番号103、配列番号124、配列番号104、配列番号125、配列番号105、配列番号21及び22の両方、配列番号100及び101の両方、配列番号23及び24の両方、配列番号102及び103の両方、配列番号124及び125の両方、配列番号104及び105の両方、配列番号55、配列番号112、配列番号56、配

40

50

列番号 1 1 3、配列番号 5 1、配列番号 1 1 4、配列番号 5 2、配列番号 1 1 5、配列番号 1 2 8、配列番号 1 1 6、配列番号 1 2 9、配列番号 1 1 7、配列番号 5 5 及び 5 6 の両方、配列番号 1 1 2 及び 1 1 3 の両方、配列番号 5 1 及び 5 2 の両方、配列番号 1 1 4 及び 1 1 5 の両方、配列番号 1 2 8 及び 1 2 9 の両方、又は配列番号 1 1 6 及び 1 1 7 の両方を含む。この点に関して、本発明ポリペプチドはまた、配列番号 4 1、配列番号 1 0 6、配列番号 4 2、配列番号 1 0 7、配列番号 3 9、配列番号 1 0 8、配列番号 4 0、配列番号 1 0 9、配列番号 1 2 6、配列番号 1 1 0、配列番号 1 2 7、配列番号 1 1 1、配列番号 4 1 及び 4 2 の両方、配列番号 1 0 6 及び 1 0 7 の両方、配列番号 3 9 及び 4 0 の両方、配列番号 1 0 8 及び 1 0 9 の両方、配列番号 1 2 6 及び 1 2 7 の両方、配列番号 1 1 0 及び 1 1 1 の両方、配列番号 5 7、配列番号 1 1 8、配列番号 5 8、配列番号 1 1 9、配列番号 5 3、配列番号 1 2 0、配列番号 5 4、配列番号 1 2 1、配列番号 1 3 0、配列番号 1 2 2、配列番号 1 3 1、配列番号 1 2 3、配列番号 5 7 及び 5 8 の両方、配列番号 1 1 8 及び 1 1 9 の両方、配列番号 5 3 及び 5 4 の両方、配列番号 1 2 0 及び 1 2 1 の両方、配列番号 1 3 0 及び 1 3 1 の両方、又は配列番号 1 2 2 及び 1 2 3 の両方、であることが好ましい。この点に関して、本発明ポリペプチドはまた、配列番号 7 4、配列番号 1 3 6、配列番号 7 5、配列番号 1 3 7、配列番号 7 8、配列番号 1 3 8、配列番号 7 9、配列番号 1 3 9、配列番号 1 3 4、配列番号 1 4 0、配列番号 1 3 5、配列番号 1 4 1、配列番号 7 4 及び 7 5 の両方、配列番号 1 3 6 及び 1 3 7 の両方、配列番号 7 8 及び 7 9 の両方、配列番号 1 3 8 及び 1 3 9 の両方、配列番号 1 3 4 及び 1 3 5 の両方、配列番号 1 4 0 及び 1 4 1 の両方、配列番号 7 6、配列番号 1 4 4、配列番号 7 7、配列番号 1 4 5、配列番号 8 0、配列番号 1 4 6、配列番号 8 1、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 2、配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 3、配列番号 1 4 9、配列番号 7 6 及び 7 7 の両方、配列番号 1 4 4 及び 1 4 5 の両方、配列番号 8 0 及び 8 1 の両方、配列番号 1 4 6 及び 1 4 7 の両方、配列番号 1 4 2 及び 1 4 3 の両方、又は配列番号 1 4 8 及び 1 4 9 の両方である。あるいは、本発明のポリペプチドは、本明細書に記載される T C R の両鎖を含むことができる。

10

20

【手続補正 2 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 8 3

【補正方法】削除

30

【補正の内容】

【手続補正 2 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 8 4

【補正方法】削除

【補正の内容】

【手続補正 2 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 8 5

【補正方法】変更

40

【補正の内容】

【0 0 8 5】

本発明の実施形態において、ポリペプチドは：( a ) 配列番号 2 1 ( 野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4 3 9 1 T C R の鎖 ) のアミノ酸配列を含む鎖を含み、ここで、以下のとおりである。( i ) 配列番号 2 1 の 1 8 0 位の X は T h r 又は C y s であり；( i i ) 配列番号 2 1 の 2 4 4 位の X は S e r、A l a、V a l、L e u、I l e、P r o、P h e、M e t 又は T r p であり；( i i i ) 配列番号 2 1 の 2 4 6 位の X は M e t、A l a、V a l、L e u、I l e、P r o、P h e 又は T r p であり；( i v ) 配列番号 2 1 の 2 4 7 位の X は、G l y、A l a、V a l、L e u、I l e、P r o、P h e、M e t、又は T r p である；( b ) 配列番号 1 0 0 のアミノ酸配列を含む鎖 ( 変異体

50

N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)であり、ここで(i)配列番号100の180位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号100の244位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号100の246位のXは、Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号100の247位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(c)配列番号22(変異体N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)、ここで配列番号22の190位におけるXはSer又はCys；(d)配列番号101(野生型N末端シグナルペプチドを有する4391 TCRの鎖)であり、ここで配列番号101の190位のXはSer又はCysである；(e)配列番号41のアミノ酸配列(野生型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)を含む鎖であり、ここで(i)配列番号41の181位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号41の245位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号41の247位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号41の248位のXは、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(f)配列番号106のアミノ酸配列を含む鎖(変異体N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)を含む。(i)配列番号106の181位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号106の245位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号106の247位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号106の248位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(g)配列番号42(変異型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、ここで配列番号42の195位のXはSer又はCys；(h)配列番号107(野生型N末端シグナルペプチドを有する4385 TCRの鎖)、ここで配列番号107の195位のXはSer又はCysである；(i)配列番号74のアミノ酸配列を含む鎖(野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、ここで(i)配列番号74の180位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号74の244位のXは、Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号74の246位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号74の247位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpである；(j)配列番号136のアミノ酸配列を含む鎖(変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、ここで(i)配列番号136の180位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号136の244位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号136の246位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号136の247位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(k)配列番号75のアミノ酸配列を含む鎖(変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)、ここで配列番号75の187位におけるXは、Ser又はCysである；(l)配列番号137のアミノ酸配列を含む鎖(野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖)であって、配列番号137の187位のXはSer又はCysである；(m)(a)及び(c)の両方；(n)(b)及び(d)の両方；(o)(e)及び(g)の両方；(p)(f)及び(h)の両方；(q)(i)及び(k)の両方；(r)(j)及び(l)の両方；(s)配列番号55のアミノ酸配列を含む鎖(IMG Tにより予測されたN末端シグナルペプチドなしの4391 TCRの鎖)；ここで、(i)配列番号55の160位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号55の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号55の2

10

20

30

40

50

26位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号55の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(t)配列番号112のアミノ酸配列を含む鎖(SignalPにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4391 TCRの鎖)であり、ここで(i)配列番号112の159位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号112の223位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号112の225位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号112の226位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(u)配列番号56のアミノ酸配列を含む鎖(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含み、ここで配列番号56の168位のXはSer又はCys；(v)配列番号113のアミノ酸配列を含む鎖(SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4391 TCRの鎖)であり、ここで配列番号113の173位のXはSer又はCysである；(w)配列番号57(IMG Tによって予測されるN末端シグナルペプチドのない4385 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であり、ここで(i)配列番号57の160位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号57の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号57の226位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；及び(iv)配列番号57の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(x)配列番号118のアミノ酸配列を含む鎖(SignalPにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4385 TCRの鎖)であり、ここで(i)配列番号118の161位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号118の225位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号118の227位のXはMet、Ala、Val、Ile、Met、又はTrpであり；及び(iv)配列番号118の228位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(y)配列番号58(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの鎖)、ここで配列番号58の173位のXはSer又はCys；(z)配列番号119(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドのない4385 TCRの鎖)、ここで、配列番号119の178位のXは、Ser又はCys；(aa)配列番号76(IMG Tによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4394 TCRの鎖)であって(i)配列番号76の159位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号76の223位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号76の225位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；及び(iv)配列番号76の226位のXは、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(bb)配列番号144のアミノ酸配列(SignalPにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4394 TCRの鎖)を含む鎖であり、ここで(i)配列番号144の160位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号144の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号144の226位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号144の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(cc)配列番号77のアミノ酸配列を含む鎖(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4394 TCRの鎖)のアミノ酸配列を含み、ここで配列番号77の168位におけるXはSer又はCys；(dd)配列番号145のアミノ酸配列を含む鎖(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドのない4394 TCRの鎖)(Signal

Pによって予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4394 TCRの鎖)、ここで配列番号145の166位のXはSer又はCysである；(ee)(s)及び(u)の両方；(ff)(t)及び(v)の両方；(gg)(w)及び(y)の両方；(hh)(x)及び(z)の両方；(hh)(aa)の両方及び(cc)；又は(ii)(bb)の両方及び(dd)を含む。本発明の実施形態では、ポリペプチドの配列番号21、22、41、42、55~58、74~77、100、101、106、107、112、113、118、119、136、137、144及び145のいずれか1以上が、表2~4のいずれか1つに定義されるとおりである。

【手続補正25】

【補正対象書類名】明細書

10

【補正対象項目名】0087

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0087】

実施形態において、本発明のタンパク質は、(a)配列番号1~3のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号4~6のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；又は(b)配列番号31~33のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号34~36のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；又は(c)配列番号64~66のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号67~69のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を挙げることができる。配列番号3、6、33、36、66、及び69のCDR3、すなわち鎖もしくは鎖又はその両方のCDR3は、CDRの最初のアミノ酸のすぐN末端のシステイン又は最終アミノ酸のすぐC末端のフェニルアラニン又はその両方をさらに含んでいてもよい。

20

【手続補正26】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0088

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0088】

本発明の別の実施形態では、タンパク質は、(i)配列番号7のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号8のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(ii)配列番号90のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号9のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(iii)配列番号7のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号91のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(iv)配列番号90のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号8のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(v)配列番号37のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号38のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(vi)配列番号92のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号93のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(vii)配列番号37のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号93のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(viii)配列番号92のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号38のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(ix)配列番号70のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号71のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(x)配列番号132のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号133のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(xi)配列番号70のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号133のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(xii)配列番号132のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号71のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(xiii)配列番号47のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号48のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖；(xiv)配列番号94のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号95のアミノ酸配列を含む第2のポリ

30

40

50

リペプチド鎖；(x i) 配列番号 49 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 50 のアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；(x i i) 配列番号 96 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 97 のアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；(i x) 配列番号 72 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 73 のアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；又は(x) 配列番号 88 のアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 89 のアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖を含む。

【手続補正 27】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0091

10

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0091】

代替的に又は追加的に、本発明の実施形態のタンパク質は、(a) 配列番号 21 (野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4391 TCR の鎖) のアミノ酸配列を含む鎖を含み得、ここで、以下のとおりである。(i) 配列番号 21 の 180 位の X は Thr 又は Cys であり；(i i) 配列番号 21 の 244 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり；(i i i) 配列番号 21 の 246 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 又は Trp であり；(i v) 配列番号 21 の 247 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp である；(b) 配列番号 100 のアミノ酸配列を含む鎖 (変異体 N 末端シグナルペプチドを有する 4391 TCR の鎖) であり、(i) 配列番号 100 の 180 位の X は Thr 又は Cys であり；(i i) 配列番号 100 の 244 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり；(i i i) 配列番号 100 の 246 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又は Trp であり；及び (i v) 配列番号 100 の 247 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり；(c) 配列番号 22 (変異型 N 末端シグナルペプチドを有する 4391 TCR の鎖)、ここで配列番号 22 の 190 位における X は Ser 又は Cys；(d) 配列番号 101 (野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4391 TCR の鎖)、ここで配列番号 101 の 190 位の X は Ser 又は Cys；(e) 配列番号 41 のアミノ酸配列 (野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4385 TCR の鎖) を含む鎖であり、ここで。(i) 配列番号 41 の 181 位の X は Thr 又は Cys であり；(i i) 配列番号 41 の 245 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり；(i i i) 配列番号 41 の 247 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe 又は Trp であり；(i v) 配列番号 41 の 248 位の X は、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり；(f) 配列番号 106 のアミノ酸配列を含む鎖 (変異体 N 末端シグナルペプチドを有する 4385 TCR の鎖)、であり、(i) 配列番号 106 の 181 位の X は Thr 又は Cys であり；(i i) 配列番号 106 の 245 位の X は Ser、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met 又は Trp であり；(i i i) 配列番号 106 の 247 位の X は Met、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又は Trp であり；及び (i v) 配列番号 106 の 248 位の X は Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又は Trp であり；(g) 配列番号 42 (変異型 N 末端シグナルペプチドを有する 4385 TCR の鎖)、ここで配列番号 42 の 195 位の X は Ser 又は Cys；(h) 配列番号 107 (野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4385 TCR の鎖)、ここで配列番号 107 の 195 位の X は Ser 又は Cys である；(i) 配列番号 74 のアミノ酸配列を含む鎖 (野生型 N 末端シグナルペプチドを有する 4394 TCR の鎖)、ここで (i) 配列番号 74 の 180 位の X は Thr 又は Cys であり；(i i) 配列番号 74 の 244 位の X は Ser、Al

20

30

40

50

a、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号74の246位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号74の247位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpである；(j)配列番号136のアミノ酸配列を含む鎖（変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖）、であり(i)配列番号136の180位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号136の244位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号136の246位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号136の247位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(k)配列番号75のアミノ酸配列を含む鎖（変異型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖）、ここで配列番号75の187位におけるXは、Ser又はCysである。(l)配列番号137のアミノ酸配列を含む鎖（野生型N末端シグナルペプチドを有する4394 TCRの鎖）であって、配列番号137の187位のXはSer又はCysである；(m)(a)及び(c)の両方；(n)(b)及び(d)の両方；(o)(e)及び(g)の両方；(p)(f)及び(h)の両方；(q)(i)及び(k)の両方；(r)(j)及び(l)の両方；(s)配列番号55のアミノ酸配列を含む鎖（IMGTにより予測されたN末端シグナルペプチドなしの4391 TCRの鎖）；ここで、(i)配列番号55の160位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号55の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号55の226位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；(iv)配列番号55の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(t)配列番号112のアミノ酸配列を含む鎖（SignalPにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4391 TCRの鎖）であって、ここで(i)配列番号112の159位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号112の223位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号112の225位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号112の226位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(u)配列番号56（IMGTにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4391 TCRの鎖）のアミノ酸配列を含み、ここで配列番号56の168位のXはSer又はCys；(v)配列番号113（SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4391 TCRの鎖）であり、ここで、配列番号113の173位のXはSer又はCysである；(w)配列番号57（IMGTによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385 TCRの鎖）のアミノ酸配列を含む鎖であり、ここで(i)配列番号57の160位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号57の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり；(iii)配列番号57の226位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり；及び(iv)配列番号57の227位のXは、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(x)配列番号118のアミノ酸配列を含む鎖（SignalPにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4385 TCRの鎖）、であり、ここで(i)配列番号118の161位のXはThr又はCysであり；(ii)配列番号118の225位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(iii)配列番号118の227位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり；及び(iv)配列番号118の228位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり；(y)配列番号58（IMGTにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4385 TCRの

10

20

30

40

50

鎖)、ここで配列番号58の173位のXはSer又はCys;(z)配列番号119(SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4385TCRの鎖)であり、ここで配列番号119の178位のXはSer又はCysである;(aa)配列番号76(IMG Tによって予測されるN末端シグナルペプチドを有さない4394TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であり、ここで(i)配列番号76の159位のXはThr又はCysであり;(ii)配列番号76の223位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met又はTrpであり;(iii)配列番号76の225位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe又はTrpであり;及び(iv)配列番号76の226位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり;(bb)配列番号144のアミノ酸配列(SignalPにより予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4394TCRの鎖)を含む鎖であり、ここで、以下のとおりである。(i)配列番号144の160位のXはThr又はCysであり;(ii)配列番号144の224位のXはSer、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり;(iii)配列番号144の226位のXはMet、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、又はTrpであり;及び(iv)配列番号144の227位のXはGly、Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Phe、Met、又はTrpであり;(cc)配列番号77(IMG Tにより予測されるN末端シグナルペプチドを有しない4394TCRの鎖)のアミノ酸配列を含む鎖であって、配列番号77の168位におけるXがSer又はCysであるもの;(dd)配列番号145(SignalPによって予測されるN末端シグナルペプチドを含まない4394TCRの鎖)、ここで配列番号145の166位のXはSer又はCysである;(ee)(s)及び(u)の両方;(ff)(t)及び(v)の両方;(gg)(w)及び(y)の両方;(hh)(x)及び(z)の両方;(hh)(aa)及び(cc)の両方;又は(ii)(bb)及び(dd)の両方である。本発明の実施形態では、配列番号21、22、41、42、55~58、100、101、106、107、112、113、118、及び119の1つ以上は、表2~4のいずれか1つに定義されるとおりである。

【手続補正28】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0092

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0092】

本発明のタンパク質は、TCRであってもよい。あるいは、例えば、タンパク質が、配列番号21及び22の両方、配列番号23及び24の両方、配列番号124及び125の両方、配列番号100及び101の両方、配列番号102及び103の両方、配列番号104及び105の両方、配列番号41及び42の両方、配列番号39及び40の両方、配列番号126及び127の両方、配列番号106及び107の両方、配列番号108及び109の両方、配列番号110及び85の両方、配列番号74及び75、配列番号78及び79の両方、配列番号134及び135の両方、配列番号136及び137の両方、配列番号138及び139の両方、配列番号140及び141の両方、又はタンパク質の第1及び/又は第2のポリペプチド鎖がさらに他のアミノ酸配列を含む場合、例えば、免疫グロブリン又はその一部をコードするアミノ酸配列である場合、本発明タンパク質は融合タンパク質であってもよい。この点に関して、本発明の実施形態は、本明細書に記載の本発明ポリペプチドの少なくとも1つを、少なくとも1つの他のポリペプチドとともに含む融合タンパク質も提供する。他のポリペプチドは、融合タンパク質の別個のポリペプチドとして存在することができ、又は本明細書に記載の本発明ポリペプチドの1つとフレーム内で(タンデムに)発現される、ポリペプチドとして存在することができる。他のポリペプチドは、免疫グロブリン、CD3、CD4、CD8、MHC分子、CD1分子、例えばCD1a、CD1b、CD1c、CD1dなどを含むがこれらに限定されない、任意のペ

10

20

30

40

50

プチド性もしくはタンパク質性分子、又はその一部をコードすることができる。

【手続補正 29】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0096

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0096】

本発明の別の実施形態では、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、N末端からC末端まで、鎖、リンカー（配列番号25）、及び鎖を含む配列番号162に記載のアミノ酸配列を含んでもよい。変異体は、配列番号90に記載の鎖可変領域（変異体シグナルペプチドを有する）及び配列番号98に記載の改変定常ドメインを含む。変異体の全長鎖は、配列番号104に記載される。変異体はまた、配列番号91に規定される鎖可変領域（野生型シグナルペプチドを有する）及び配列番号99に規定される改変型定常ドメインを含む。変異体の全長鎖は、配列番号105に記載される。

10

【手続補正 30】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0097

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0097】

本発明の実施形態において、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、N末端からC末端まで、鎖、リンカー（配列番号25）、及び鎖を含む配列番号163に記載のアミノ酸配列から構成されてもよい。変異体は、配列番号38に規定される鎖可変領域（変異体シグナルペプチドを有する）及び配列番号99に規定される修飾定常ドメインを含む。変異体の完全長鎖は、配列番号127に規定される。変異体はまた、配列番号37に規定されるような鎖可変領域（野生型シグナルペプチドを有する）及び配列番号98に規定されるような修飾定常ドメインを含む。変異体の全長鎖は、配列番号126に記載されている。

20

【手続補正 31】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0098

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0098】

本発明の別の実施形態では、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、N末端からC末端まで、鎖、リンカー（配列番号25）、及び鎖を含む配列番号164に記載のアミノ酸配列から構成されてもよい。変異体は、配列番号92に記載の鎖可変領域（変異体シグナルペプチドを有する）及び配列番号98に記載の改変定常ドメインから構成される。変異体の全長鎖は、配列番号110に記載されている。変異体はまた、配列番号93に記載の鎖可変領域（野生型シグナルペプチドを有する）及び配列番号99に記載の修飾定常ドメインを含む。変異体の全長鎖は、配列番号111に記載されている。

30

40

【手続補正 32】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0099

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0099】

本発明の実施形態において、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、N末端からC末端まで、鎖、リンカー（配列番号25）、及び鎖を含む配列番号165に記載のアミノ酸配列から構成されてもよい。変異体は、配列番号71に記載の鎖可変領域（変異

50

体シグナルペプチドを有する)及び配列番号99に記載の改変 定常ドメインを含む。変異体の完全長 鎖は、配列番号135に記載されている。変異体はまた、配列番号70に規定されるような 鎖可変領域(野生型シグナルペプチドを有する)及び配列番号98に規定されるような修飾 定常ドメインを含む。変異体の全長 鎖は、配列番号134に記載されている。

【手続補正33】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0100

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0100】

本発明の別の実施形態では、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、N末端からC末端まで、鎖、リンカー(配列番号25)、及び鎖を含む配列番号166に記載のアミノ酸配列から構成されてもよい。変異体は、配列番号132に記載の鎖可変領域(変異体シグナルペプチドを有する)及び配列番号98に記載の改変 定常ドメインから構成される。変異体の全長 鎖は、配列番号140に記載されている。変異体はまた、配列番号133に記載の鎖可変領域(野生型シグナルペプチドを有する)及び配列番号99に記載の修飾 定常ドメインを含む。変異体の全長 鎖は、配列番号141に記載されている。

【手続補正34】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0108

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0108】

TCR、ポリペプチド又はタンパク質の他の構成要素、例えば、他のアミノ酸が、TCR、ポリペプチド又はタンパク質の生物学的活性を実質的に変化させないよう、TCR、ポリペプチド又はタンパク質は、本明細書に記載の特定のアミノ酸配列の一つ又は複数(sequence or sequences)から実質的になり得る。この点に関して、本発明TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、例えば、本質的に配列番号21、配列番号100、配列番号22、配列番号101、配列番号23、配列番号102、配列番号24、配列番号103、配列番号124、配列番号104、配列番号125、配列番号105、配列番号21及び22の両方、配列番号100及び101の両方、配列番号23及び24の両方、配列番号102及び103の両方、配列番号124及び125の両方、配列番号104及び105の両方、配列番号55、配列番号112、配列番号56、配列番号113、配列番号51、配列番号114、配列番号52、配列番号115、配列番号128、配列番号116、配列番号129、配列番号117、配列番号55及び56の両方、配列番号112及び113の両方、配列番号51及び52の両方、配列番号114及び115の両方、配列番号128及び129の両方又は配列番号116及び117の両方、配列番号41、配列番号106、配列番号42、配列番号107、配列番号39、配列番号108、配列番号40、配列番号109、配列番号126、配列番号110、配列番号127、配列番号111、配列番号41及び42の両方、配列番号106及び107の両方、配列番号39及び40の両方、配列番号108及び109の両方、配列番号126及び127の両方、配列番号110及び111の両方、配列番号57、配列番号118、配列番号58、配列番号119、配列番号53、配列番号120、配列番号54、配列番号121、配列番号130、配列番号122、配列番号131、配列番号123、配列番号57及び58の両方、配列番号118及び119の両方、配列番号53及び54の両方、配列番号120及び121の両方、配列番号130及び131の両方、又は配列番号122及び123の両方、配列番号74、配列番号136、配列番号75、配列番号137、配列番号78、配列番号138、配列番号79、配列番号139、配列番号134、配

10

20

30

40

50

列番号 140、配列番号 135、配列番号 141、配列番号 74 及び 75 の両方、配列番号 136 及び 137 の両方、配列番号 78 及び 79 の両方、配列番号 138 及び 139、配列番号 134 及び 135、配列番号 140 及び 141 の両方、配列番号 76、配列番号 144、配列番号 77、配列番号 145、配列番号 80、配列番号 146、配列番号 81、配列番号 147、配列番号 142、配列番号 148、配列番号 143、配列番号 149、配列番号 76 及び 77 の両方、配列番号 144 及び 145 の両方、配列番号 80 及び 81 の両方、配列番号 146 及び 147 の両方、配列番号 142 及び 143 の両方、又は配列番号 148 及び 149 の両方から本質的になる。また、例えば、本発明の TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、本質的に、(i) 配列番号 7、(ii) 配列番号 90、(iii) 配列番号 8、(iv) 配列番号 91、(v) 配列番号 37、(vi) 配列番号 92、(vii) 配列番号 38、(viii) 配列番号 105N3、(ix) 配列番号 70、(x) 配列番号 132、(xi) 配列番号 71、(xii) 配列番号 133、(xiii) 配列番号 7 及び 8 の両方、(xiv) 配列番号 7 及び 91 の両方、(xv) 配列番号 90 及び 8 の両方、(xvi) 配列番号 90 及び 91 の両方、(xvii) 配列番号 37 及び 38 の両方、(xviii) 配列番号 92 及び 38 の両方、(xix) 配列番号 37 及び 93 の両方、(xx) 配列番号 92 及び 93 の両方、(xxi) 配列番号 70 及び 71 の両方、(xxii) 配列番号 70 及び 133 の両方、(xxiii) 配列番号 132 及び 71 の両方、又は (xxiv) 配列番号 132 及び 133 の両方である。さらに、本発明の TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、本質的に、(a) 配列番号 1 ~ 6、31 ~ 36 及び 64 ~ 69 のいずれか 1 つ以上；(b) 配列番号 1 ~ 3 の全て；(c) 配列番号 4 ~ 6 の全て；(d) 配列番号 31 ~ 33 の全て；(e) 配列番号 34 ~ 36 の全て；(f) 配列番号 64 ~ 66 の全て、(g) 配列番号 67 ~ 69 の全て、(h) 配列番号 1 ~ 6 の全て、(i) 配列番号 31 ~ 36 の全て、又は (j) 配列番号 64 ~ 69 の全ての配列から本質的に成り得る。

10

20

【手続補正 35】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0123

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0123】

30

本発明の実施形態は、5' から 3' まで、第 1 の核酸配列及び第 2 の核酸配列を含む単離又は精製核酸を提供し、ここで、第 1 及び第 2 の核酸配列は、それぞれ、配列番号 7 及び 8；7 及び 91；90 及び 8；90 及び 91；8 及び 7；91 及び 7；8 及び 90；91 及び 90；37 及び 38；37 及び 93；92 及び 38；92 及び 93；38 及び 37；93 及び 37；38 及び 92；93 及び 92；70 及び 71；70 及び 133；132 及び 71；132 及び 133；71 及び 70；133 及び 70；71 及び 132；133 及び 132；23 及び 24；23 及び 103；102 及び 24；102 及び 103；24 及び 23；103 及び 23；24 及び 102；103 及び 102；39 及び 40；39 及び 109；108 及び 40；108 及び 109；40 及び 39；109 及び 39；40 及び 108；109 及び 108；78 及び 79；78 及び 139；138 及び 79；138 及び 139；79 及び 78；139 及び 78；79 及び 138；139 及び 138；21 及び 22；21 及び 101；100 及び 22；100 及び 101；22 及び 21；101 及び 21；22 及び 100；41 及び 42；41 及び 107；106 及び 42；106 及び 107；42 及び 41；107 及び 41；42 及び 106；107 及び 106；74 及び 75；74 及び 101；100 及び 75；100 及び 101；75 及び 74；101 及び 74；75 及び 100；101 及び 100；124 及び 125；124 及び 105；104 及び 125；104 及び 105；125 及び 124；105 及び 124；125 及び 104；105 及び 104；126 及び 127；126 及び 111；110 及び 127；110 及び 111；127 及び 126；111 及び 126；127 及び 110；111 及び 110；134 及び 135；140 及び 135；134 及び 141；140 及び 141；

40

50

1 3 5 及び 1 3 4 ; 1 3 5 及び 1 4 0 ; 1 4 1 及び 1 3 4 ; 1 4 1 及び 1 4 0 ; 4 7 及び 4 8 ; 4 8 及び 4 7 ; 4 9 及び 5 0 ; 5 0 及び 4 9 ; 7 2 及び 7 3 ; 7 3 及び 7 2 ; 9 4 及び 9 5 ; 9 5 及び 9 4 ; 9 4 及び 8 5 ; 8 5 及び 9 4 ; 9 6 及び 9 7 ; 9 7 及び 9 6 ; 9 6 及び 8 7 ; 8 7 及び 9 6 ; 8 8 及び 8 9 ; 8 9 及び 8 8 ; 5 1 及び 5 2 ; 5 2 及び 5 1 ; 5 3 及び 5 4 ; 5 4 及び 5 3 ; 8 0 及び 8 1 ; 8 1 及び 8 0 ; 5 5 及び 5 6 ; 5 6 及び 5 5 ; 5 7 及び 5 8 ; 5 8 及び 5 7 ; 7 6 及び 7 7 ; 7 7 及び 7 6 ; 1 2 8 及び 1 2 9 ; 1 2 9 及び 1 2 8 ; 1 3 0 及び 1 3 1 ; 1 3 1 及び 1 3 0 ; 1 4 2 及び 1 4 3 ; 1 4 3 及び 1 4 2 ; 1 1 2 及び 1 1 3 ; 1 1 3 及び 1 1 2 ; 1 1 8 及び 1 1 9 ; 1 1 9 及び 1 1 8 ; 1 4 4 及び 1 4 5 ; 1 4 5 及び 1 4 4 ; 1 1 4 及び 1 1 5 ; 1 1 5 及び 1 1 4 ; 1 2 0 及び 1 2 1 ; 1 2 1 及び 1 2 0 ; 1 4 6 及び 1 4 7 ; 1 4 7 及び 1 4 6 ; 1 1 6 及び 1 1 7 ; 1 1 7 及び 1 1 6 ; 1 2 2 及び 1 2 3 ; 1 2 3 及び 1 2 2 ; 1 4 8 及び 1 4 9 ; 1 4 9 及び 1 4 8 ; 1 5 0 及び 1 5 1 ; 1 5 1 及び 1 5 0 ; 1 5 4 及び 1 5 5 ; 1 5 5 及び 1 5 4 ; 1 5 2 及び 1 5 3 ; 1 5 3 及び 1 5 2 ; 1 5 6 及び 1 5 7 ; 1 5 7 及び 1 5 6 ; 1 6 0 及び 1 6 1 ; 1 6 1 及び 1 6 0 ; 1 5 8 及び 1 5 9 ; 又は 1 5 9 及び 1 5 8 の アミノ配列をコードする、核酸を提供する。

10

【**手続補正 3 6**】

【**補正対象書類名**】明細書

【**補正対象項目名**】0 1 4 8

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

20

【**0 1 4 8**】

本発明の実施形態は、哺乳動物において癌に対する免疫応答を誘導する方法であって、本明細書に記載の医薬組成物、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質のいずれか、本明細書に記載のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質のいずれかをコードするヌクレオチド配列を含む核酸又は組み換え発現ベクターのいずれか、又は本明細書に記載のTCR、ポリペプチド、若しくはタンパク質のいずれかをコードする組換えベクターを含む任意の宿主細胞若しくは細胞集団を哺乳動物において癌に対する免疫応答を誘導するのに有効な量で哺乳動物に投与することを含む、方法を提供する。

【**手続補正 3 7**】

【**補正対象書類名**】明細書

【**補正対象項目名**】0 1 6 5

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

30

【**0 1 6 5**】

腫瘍片 F 1 からの T I L は、5  $\mu$ g / ml の R A S 最小エピトープ ( M E ) 又はネガティブコントロールとして R A S W T L P、ポジティブコントロールとして R A S G 1 2 V L P を負荷した自己 D C、C O S 7 細胞 ( H L A - A 0 2 : 0 1 安定発現 ) 又は C O S 7 細胞 ( H L A - A 0 3 : 0 1 安定発現 ) と共培養させた。ジメチルスルホキシド ( D M S O ) で培養した T I L もネガティブコントロールとした。ミニマムエピトープを表 6 に示す。

40

【**手続補正 3 8**】

【**補正対象書類名**】明細書

【**補正対象項目名**】0 1 7 6

【**補正方法**】変更

【**補正の内容**】

【**0 1 7 6**】

実施例 4 の ヒト G 1 2 V R A S 反応性 4 3 9 1 T C R をコードし、システイン置換された L V L 修飾マウス定常領域を含む核酸配列を、レトロウイルス発現ベクターにクローニングした。この鎖マウス定常領域は、4 8 位の X が C y s、1 1 2 位の X が L e u、1 1 4 位の X が I l e、1 1 5 位の X が V a l である配列番号 1 7 のアミノ酸配列で構

50

成されていた。得られた全長鎖は、配列番号23のアミノ酸配列で構成されていた。鎖定常領域は、配列番号18のアミノ酸配列を含み、57位のXはCysである。得られた全長鎖は、配列番号24のアミノ酸配列を含む。RAKRS G S G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (配列番号25)のアミノ酸配列を含むリンカーが、鎖定常領域と鎖可変領域との間に配置された。提供されたような配列は、コドン最適化されている。

【手続補正39】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0192

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0192】

ヒトRAS G12V - 反応性4385 TCRをコードし、システイン置換されたLV L修飾マウス定常領域を含む核酸配列が、レトロウイルス発現ベクターにクローニングされた。この鎖マウス定常領域は、配列番号17のアミノ酸配列を含み、48位のXはCys、112位のXはLeu、114位のXはIle、そして115位のXはValであることがわかった。得られた全長鎖は、配列番号39のアミノ酸配列で構成されていた。鎖定常領域は、配列番号18のアミノ酸配列を含み、57位のXはCysである。得られた全長鎖は、配列番号40のアミノ酸配列を含む。RAKRS G S G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (配列番号25)のアミノ酸配列を含むリンカーが、鎖定常領域と鎖可変領域との間に配置された。提供されたような配列は、コドン最適化されている。

【手続補正40】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0198

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0198】

4385 (TCR4) を4385 PBLにウイルス導入した。形質転換細胞及びTIL F11を、LP/MEとして示されたペプチドを負荷したDCと、又はTMG/全長(FL)として示された遺伝子をmRNAトランスフェクトしたDCと共培養した。反応性は、CD8+ (図7A) 及びCD4 (図7B) にゲートした41BB/OX40フローサイトメトリーアッセイ及びIFN ELISPOT (図7C) を用いて試験した。

【手続補正41】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0199

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0199】

TCR4を導入したPBL及びTIL F11は、ras G12V FL及びTMG2 (RAS G12V抗原を含む) 遺伝子、及びras G12V LPに対して反応性を示した。表6に示したMEペプチドの中で、ME8に対して最も大きな反応性が検出された。

【手続補正42】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0202

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0202】

図8Aは、4385のPBLへのTCR導入効果と、この実験に使用した細胞のCD8

10

20

30

40

50

／CD4 集団分布を示すドットプロットである。

【手続補正43】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0203

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0203】

結果は、IFN ELISPOT (図8B) アッセイ及び41BB/OX40フローサイトメトリー (表9) からのものである。表9は、CD8+ゲート細胞における4-1BB+/OX40+細胞の割合を、TCR4で形質導入した4385PBL又はTIL片11(F11)と、突然変異(Mut)RASミニ遺伝子(G12Vを含む)をコードするTMG、及び患者4385が発現する6種類のHLAアレル(HLA-A\*01:01、HLA-A\*02:07、HLA-B\*18:02、HLA-B\*46:01、HLA-C\*01:02若しくはHLA-C\*07:04)のうちの1つでDNAトランスフェクトしたCOS7細胞株との共培養物への反応として、提示する。

10

【手続補正44】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0217

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0217】

患者4394の腫瘍断片F12からのTILを、TILの濃縮後に、異なる濃度のRAS G12V ME8又はME WT4 (ME8のWT配列)を負荷した自己DCと共培養した。反応性は、ソート濃縮後、CD8にゲーティングされた41BB/OX40フローサイトメトリー・アッセイを用いて試験した(図13)。反応性は、CD8にゲーティングした41BB/OX40フローサイトメトリー (図13A)、及びソート濃縮後のIFN ELISPOT (図13B)により試験した。抗CD3/抗CD28 Dynabeads材料との共培養によって非特異的に刺激したTILがポジティブコントロールとして機能した。

20

【手続補正45】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0225

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0225】

実施例17のヒトRAS G12V反応性4394 TCRAをコードし、システイン置換され、LVL修飾されたマウス定常領域を含む核酸配列をレトロウイルス発現ベクターにクローニングした。鎖マウス定常領域は、48位のXがCys、112位のXがLeu、114位のXがIle、115位のXがValである配列番号17のアミノ酸配列から構成されるものであった。得られた全長鎖は、配列番号74のアミノ酸配列で構成されていた。鎖定常領域は、配列番号18のアミノ酸配列を含み、57位のXはCysである。得られた全長鎖は、配列番号75のアミノ酸配列を含む。RAKRS GSGA TNFSL LKQA GDVEENPGP (配列番号25)のアミノ酸配列を含むリンカーが、鎖定常領域と鎖可変領域との間に配置された。提供されたような配列は、コドン最適化されている。

30

40

【手続補正46】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0228

【補正方法】変更

【補正の内容】

50

【 0 2 2 8 】

【 表 1 1 - 1 】

TCR名	TCR鎖	アミノ酸配列
4394TCR (TCRA)	$\alpha$ (TRAV12-1*01 + TRAJ36*01) (野生型 N 末端シグ ナルペプチドあり)	MISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNC TYSNSASQSFFWYRQDCRKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNR ASQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVDQGTGANNLFFGTGTRLTVIP (配列番号 70)
	$\beta$ (TRBV6-5*01 + TRBJ2-3*01 + TRBD1*01) (変異体 N 末端シグ ナルペプチドあり)	MAIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCA QDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNV SRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASRNLGDTQYFGPGTRLT VL (配列番号 71)
	$\alpha$ (TRAV12-1*01 + TRAJ36*01) (IMGT 予測、N 末端 シグナルペプチドな し)	RKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDCRKE PKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRASQYISLLIRDSKLSDSATYL CVVDQGTGANNLFFGTGTRLTVIP (配列番号 72)
	$\beta$ (TRBV6-5*01 + TRBJ2-3*01 + TRBD1*01) (IMGT 予測、N 末端 シグナルペプチドな し)	NAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGM GLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQ TSVYFCASRNLGDTQYFGPGTRLTVL (配列番号 73)
	$\alpha$ (TRAV12-1*01 + TRAJ36*01) (変異体 N 末端シグ ナルペプチドあり)	MASLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFN CTYSNSASQSFFWYRQDCRKEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLN RASQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVDQGTGANNLFFGTGTRLTVI P (配列番号 132)

10

20

30

40

【 手続補正 4 7 】

【 補正対象書類名 】 明細書

【 補正対象項目名 】 0 2 2 9

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 0 2 2 9 】

50

【表 1 1 - 2】

TCR名	TCR鎖	アミノ酸配列
	$\beta$ (TRBV6-5*01 + TRBJ2-3*01 + TRBD1*01) (野生型 N 末端シグナルペプチドあり)	MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCA QDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNV SRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASRNLGDTQYFGPGTRLT VL (配列番号 133)
	$\alpha$ (TRAV12-1*01 + TRAJ36*01) (SignalP 予測、N 末端シグナルペプチドなし)	QRKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDCR KEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRRASQYISLLIRDSKLSDSATY LCVVDDQTGANNLFFGTGTRLTVIP (配列番号 88)
	$\beta$ (TRBV6-5*01 + TRBJ2-3*01 + TRBD1*01) (SignalP 予測、N 末端シグナルペプチドなし)	GVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGL RLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTS VYFCASRNLGDTQYFGPGTRLTVL (配列番号 89)

10

20

30

40

50