

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2024-517884  
(P2024-517884A)

(43)公表日 令和6年4月23日(2024.4.23)

|                   |                                                                                                                                                                              |         |       |             |                               |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-------|-------------|-------------------------------|
| (51)国際特許分類        |                                                                                                                                                                              | F I     |       | テーマコード (参考) |                               |
| C 1 2 N           | 15/12 (2006.01)                                                                                                                                                              | C 1 2 N | 15/12 |             | 4 B 0 6 3                     |
| C 1 2 N           | 15/63 (2006.01)                                                                                                                                                              | C 1 2 N | 15/63 | Z Z N A     | 4 B 0 6 5                     |
| C 1 2 N           | 15/86 (2006.01)                                                                                                                                                              | C 1 2 N | 15/86 | Z           | 4 C 0 8 4                     |
| C 1 2 N           | 5/10 (2006.01)                                                                                                                                                               | C 1 2 N | 5/10  |             | 4 C 0 8 5                     |
| C 1 2 N           | 1/21 (2006.01)                                                                                                                                                               | C 1 2 N | 1/21  |             | 4 C 0 8 6                     |
|                   |                                                                                                                                                                              | 審査請求    | 未請求   | 予備審査請求      | 未請求 (全64頁) 最終頁に続く             |
| (21)出願番号          | 特願2023-568469(P2023-568469)                                                                                                                                                  |         |       | (71)出願人     | 510002280                     |
| (86)(22)出願日       | 令和4年5月6日(2022.5.6)                                                                                                                                                           |         |       |             | アメリカ合衆国                       |
| (85)翻訳文提出日        | 令和5年12月29日(2023.12.29)                                                                                                                                                       |         |       |             | アメリカ合衆国、2 0 8 9 2 - 7 7 8 8   |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2022/028066                                                                                                                                                            |         |       |             | メリーランド州、ベセスダ、エムエス             |
| (87)国際公開番号        | WO2022/236050                                                                                                                                                                |         |       |             | シー 7 7 8 8、ロックレッジ ドライヴ        |
| (87)国際公開日         | 令和4年11月10日(2022.11.10)                                                                                                                                                       |         |       |             | 6 7 0 1、スイート 7 0 0、ナショナル      |
| (31)優先権主張番号       | 63/185,805                                                                                                                                                                   |         |       |             | インスティテュート オブ ヘルス、オ            |
| (32)優先日           | 令和3年5月7日(2021.5.7)                                                                                                                                                           |         |       |             | フィス オブ テクノロジー トランスフ           |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                                                                                                                                                                       |         |       |             | アー                            |
| (81)指定国・地域        | AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA( AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く |         |       | (74)代理人     | 100136629<br>弁理士 鎌田 光宣        |
|                   |                                                                                                                                                                              |         |       | (74)代理人     | 100080791<br>弁理士 高島 一         |
|                   |                                                                                                                                                                              |         |       | (74)代理人     | 100125070<br>弁理士 土井 京子 最終頁に続く |

(54)【発明の名称】 p 5 3 における C 1 3 5 Y、R 1 7 5 H又はM 2 3 7 I 変異を認識するT細胞受容体

(57)【要約】  
ヒト p 5 3 C 1 3 5 Y、ヒト p 5 3 R 1 7 5 H、又はヒト p 5 3 M 2 3 7 I に対して抗原特異性を有する単離又は精製されたT細胞受容体 ( T C R ) が開示される。関連するポリペプチド及びタンパク質、並びに関連する核酸、組換え発現ベクター、宿主細胞、細胞集団、及び医薬組成物も提供される。哺乳動物におけるがんの存在を検出する方法、及び哺乳動物におけるがんを治療又は予防する方法も開示される。  
【選択図】 図 1 C

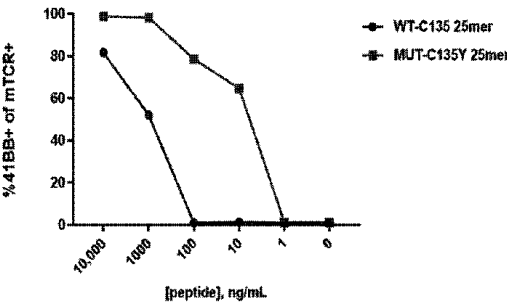


Fig. 1C

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ヒト p 5 3 C 1 3 5 Y、ヒト p 5 3 R 1 7 5 H、又はヒト p 5 3 M 2 3 7 I のアミノ酸配列に対して抗原特異性を有する単離又は精製された T 細胞受容体 (T C R) であって、前記 T C R が、

- (1) 配列番号 2 ～ 4 の全て；
- (2) 配列番号 5 ～ 7 の全て；
- (3) 配列番号 2 ～ 7 の全て；
- (4) 配列番号 1 7 ～ 1 9 の全て；
- (5) 配列番号 2 0 ～ 2 2 の全て；
- (6) 配列番号 1 7 ～ 2 2 の全て；
- (7) 配列番号 3 2 ～ 3 4 の全て；
- (8) 配列番号 3 5 ～ 3 7 の全て；
- (9) 配列番号 3 2 ～ 3 7 の全て；
- (10) 配列番号 4 7 ～ 4 9 の全て；
- (11) 配列番号 5 0 ～ 5 2 の全て；
- (12) 配列番号 4 7 ～ 5 2 の全て；
- (13) 配列番号 6 2 ～ 6 4 の全て；
- (14) 配列番号 6 5 ～ 6 7 の全て；又は
- (15) 配列番号 6 2 ～ 6 7 の全て

10

20

のアミノ酸配列を含む T C R。

## 【請求項 2】

- (1) 配列番号 8 ；
- (2) 配列番号 9 ；
- (3) 配列番号 8 及び 9 の両方 ；
- (4) 配列番号 1 0 ；
- (5) 配列番号 1 1 ；
- (6) 配列番号 1 0 及び 1 1 の両方 ；
- (7) 配列番号 2 3 ；
- (8) 配列番号 2 4 ；
- (9) 配列番号 2 3 及び 2 4 の両方 ；
- (10) 配列番号 2 5 ；
- (11) 配列番号 2 6 ；
- (12) 配列番号 2 5 及び 2 6 の両方 ；
- (13) 配列番号 3 8 ；
- (14) 配列番号 3 9 ；
- (15) 配列番号 3 8 及び 3 9 の両方 ；
- (16) 配列番号 4 0 ；
- (17) 配列番号 4 1 ；
- (18) 配列番号 4 0 及び 4 1 の両方 ；
- (19) 配列番号 5 3 ；
- (20) 配列番号 5 4 ；
- (21) 配列番号 5 3 及び 5 4 の両方 ；
- (22) 配列番号 5 5 ；
- (23) 配列番号 5 6 ；
- (24) 配列番号 5 5 及び 5 6 の両方 ；
- (25) 配列番号 6 8 ；
- (26) 配列番号 6 9 ；
- (27) 配列番号 6 8 及び 6 9 の両方 ；
- (28) 配列番号 7 0 ；

30

40

50

(29) 配列番号 71 ; 又は  
(30) 配列番号 70 及び 71 の両方  
のアミノ酸配列を含む、請求項 1 の T C R。

【請求項 3】

(1) 配列番号 12 ;  
(2) 配列番号 13 ;  
(3) 配列番号 12 及び 13 の両方 ;  
(4) 配列番号 14 ;  
(5) 配列番号 15 ;  
(6) 配列番号 14 及び 15 の両方 ;  
(7) 配列番号 27 ;  
(8) 配列番号 28 ;  
(9) 配列番号 27 及び 28 の両方 ;  
(10) 配列番号 29 ;  
(11) 配列番号 30 ;  
(12) 配列番号 29 及び 30 の両方 ;  
(13) 配列番号 42 ;  
(14) 配列番号 43 ;  
(15) 配列番号 42 及び 43 の両方 ;  
(16) 配列番号 44 ;  
(17) 配列番号 45 ;  
(18) 配列番号 44 及び 45 の両方 ;  
(19) 配列番号 57 ;  
(20) 配列番号 58 ;  
(21) 配列番号 57 及び 58 の両方 ;  
(22) 配列番号 59 ;  
(23) 配列番号 60 ;  
(24) 配列番号 59 及び 60 の両方 ;  
(25) 配列番号 72 ;  
(26) 配列番号 73 ;  
(27) 配列番号 72 及び 73 の両方 ;  
(28) 配列番号 74 ;  
(29) 配列番号 75 ; 又は  
(30) 配列番号 74 及び 75 の両方  
のアミノ酸配列を含む、請求項 1 又は 2 の T C R。

10

20

30

【請求項 4】

前記ヒト p 53 <sup>C135Y</sup> アミノ酸配列が、T C T Y S P A L N K M F Y Q L A K T C P V Q L W V (配列番号 90) である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項の T C R。

【請求項 5】

T C T Y S P A L N K M F C Q L A K T C P V Q L W V (配列番号 89) の野生型ヒト p 53 アミノ酸配列に対して抗原特異性を有しない、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項の T C R。

40

【請求項 6】

前記ヒト p 53 <sup>R175H</sup> アミノ酸配列が、H M T E V V R H C (配列番号 92) である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項の T C R。

【請求項 7】

H M T E V V R R C (配列番号 91) の野生型ヒト p 53 アミノ酸配列に対して抗原特異性を有しない、請求項 1 ~ 3 及び 6 のいずれか 1 項の T C R。

【請求項 8】

前記ヒト p 53 <sup>M237I</sup> アミノ酸配列が、V G S D C T T I H Y N Y I C N S S C M

50

G G M N R R（配列番号 9 4）である、請求項 1～3 のいずれか 1 項の T C R。

【請求項 9】

V G S D C T T I H Y N Y M C N S S C M G G M N R R（配列番号 9 3）の野生型ヒト p 5 3 アミノ酸配列に対して抗原特異性を有しない、請求項 1～3 及び 8 のいずれか 1 項の T C R。

【請求項 1 0】

請求項 1～9 のいずれか 1 項の T C R 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、

- (1) 配列番号 2～4 の全て；
- (2) 配列番号 5～7 の全て；
- (3) 配列番号 2～7 の全て；
- (4) 配列番号 1 7～1 9 の全て；
- (5) 配列番号 2 0～2 2 の全て；
- (6) 配列番号 1 7～2 2 の全て；
- (7) 配列番号 3 2～3 4 の全て；
- (8) 配列番号 3 5～3 7 の全て；
- (9) 配列番号 3 2～3 7 の全て；
- (1 0) 配列番号 4 7～4 9 の全て；
- (1 1) 配列番号 5 0～5 2 の全て；
- (1 2) 配列番号 4 7～5 2 の全て；
- (1 3) 配列番号 6 2～6 4 の全て；
- (1 4) 配列番号 6 5～6 7 の全て；又は
- (1 5) 配列番号 6 2～6 7 の全て

のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【請求項 1 1】

- (1) 配列番号 8；
- (2) 配列番号 9；
- (3) 配列番号 8 及び 9 の両方；
- (4) 配列番号 1 0；
- (5) 配列番号 1 1；
- (6) 配列番号 1 0 及び 1 1 の両方；
- (7) 配列番号 2 3；
- (8) 配列番号 2 4；
- (9) 配列番号 2 3 及び 2 4 の両方；
- (1 0) 配列番号 2 5；
- (1 1) 配列番号 2 6；
- (1 2) 配列番号 2 5 及び 2 6 の両方；
- (1 3) 配列番号 3 8；
- (1 4) 配列番号 3 9；
- (1 5) 配列番号 3 8 及び 3 9 の両方；
- (1 6) 配列番号 4 0；
- (1 7) 配列番号 4 1；
- (1 8) 配列番号 4 0 及び 4 1 の両方；
- (1 9) 配列番号 5 3；
- (2 0) 配列番号 5 4；
- (2 1) 配列番号 5 3 及び 5 4 の両方；
- (2 2) 配列番号 5 5；
- (2 3) 配列番号 5 6；
- (2 4) 配列番号 5 5 及び 5 6 の両方；
- (2 5) 配列番号 6 8；

10

20

30

40

50

- (26) 配列番号69；
- (27) 配列番号68及び69の両方；
- (28) 配列番号70；
- (29) 配列番号71；又は
- (30) 配列番号70及び71の両方。

のアミノ酸配列を含む、請求項10のポリペプチド。

【請求項12】

- (1) 配列番号12；
- (2) 配列番号13；
- (3) 配列番号12及び13の両方；
- (4) 配列番号14；
- (5) 配列番号15；
- (6) 配列番号14及び15の両方；
- (7) 配列番号27；
- (8) 配列番号28；
- (9) 配列番号27及び28の両方；
- (10) 配列番号29；
- (11) 配列番号30；
- (12) 配列番号29及び30の両方；
- (13) 配列番号42；
- (14) 配列番号43；
- (15) 配列番号42及び43の両方；
- (16) 配列番号44；
- (17) 配列番号45；
- (18) 配列番号44及び45の両方；
- (19) 配列番号57；
- (20) 配列番号58；
- (21) 配列番号57及び58の両方；
- (22) 配列番号59；
- (23) 配列番号60；
- (24) 配列番号59及び60の両方；
- (25) 配列番号72；
- (26) 配列番号73；
- (27) 配列番号72及び73の両方；
- (28) 配列番号74；
- (29) 配列番号75；又は
- (30) 配列番号74及び75の両方。

のアミノ酸配列を含む、請求項10又は11のポリペプチド。

【請求項13】

- (1) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号2～4の全てのアミノ酸配列を含む、
- (2) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号5～7の全てのアミノ酸配列を含む、
- (3) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号2～4の全てのアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号5～7の全てのアミノ酸配列を含む、
- (4) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号17～19の全てのアミノ酸配列を含む、
- (5) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号20～22の全てのアミノ酸配列を含む、
- (6) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号17～19の全てのアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号20～22の全てのアミノ酸配列を含む、
- (7) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号32～34の全てのアミノ酸配列を含む、
- (8) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号35～37の全てのアミノ酸配列を含む、
- (9) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号32～34の全てのアミノ酸配列を含み、第

10

20

30

40

50

2 のポリペプチド鎖が、配列番号 35 ～ 37 の全てのアミノ酸配列を含む、

(10) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 47 ～ 49 の全てのアミノ酸配列を含む、

(11) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 50 ～ 52 の全てのアミノ酸配列を含む、

(12) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 47 ～ 49 の全てのアミノ酸配列を含み、  
第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 50 ～ 52 の全てのアミノ酸配列を含む、

(13) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 62 ～ 64 の全てのアミノ酸配列を含む、

(14) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 65 ～ 67 の全てのアミノ酸配列を含む、

又は

(15) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 62 ～ 64 の全てのアミノ酸配列を含み、  
第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 65 ～ 67 の全てのアミノ酸配列を含む、  
第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖を含む、単離又は精製されたタンパク質。

10

【請求項 14】

(1) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む、

(2) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、

(3) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、

(4) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む、

(5) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む、

(6) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 10 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む、

20

(7) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む、

(8) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む、

(9) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 23 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 24 のアミノ酸配列を含む、

(10) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 25 のアミノ酸配列を含む、

(11) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む、

(12) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 25 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 26 のアミノ酸配列を含む、

(13) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 38 のアミノ酸配列を含む、

(14) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 39 のアミノ酸配列を含む、

(15) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 38 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 39 のアミノ酸配列を含む、

30

(16) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む、

(17) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む、

(18) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 40 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 41 のアミノ酸配列を含む、

(19) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 53 のアミノ酸配列を含む、

(20) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 54 のアミノ酸配列を含む、

(21) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 53 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 54 のアミノ酸配列を含む、

40

(22) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む、

(23) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 56 のアミノ酸配列を含む、

(24) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 55 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 56 のアミノ酸配列を含む、

(25) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 68 のアミノ酸配列を含む、

(26) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 69 のアミノ酸配列を含む、

(27) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 68 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 69 のアミノ酸配列を含む、

(28) 第 1 のポリペプチド鎖が、配列番号 70 のアミノ酸配列を含む、

(29) 第 2 のポリペプチド鎖が、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む、又は

50

(30) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号70のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号71のアミノ酸配列を含む、  
請求項13のタンパク質。

【請求項15】

(1) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号12のアミノ酸配列を含む、  
 (2) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号13のアミノ酸配列を含む、  
 (3) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号12のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号13のアミノ酸配列を含む、  
 (4) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号14のアミノ酸配列を含む、  
 (5) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号15のアミノ酸配列を含む、  
 (6) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号14のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号15のアミノ酸配列を含む、  
 (7) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号27のアミノ酸配列を含む、  
 (8) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号28のアミノ酸配列を含む、  
 (9) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号27のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号28のアミノ酸配列を含む、  
 (10) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号29のアミノ酸配列を含む、  
 (11) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号30のアミノ酸配列を含む、  
 (12) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号29のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号30のアミノ酸配列を含む、  
 (13) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号42のアミノ酸配列を含む、  
 (14) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号43のアミノ酸配列を含む、  
 (15) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号42のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号43のアミノ酸配列を含む、  
 (16) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号44のアミノ酸配列を含む、  
 (17) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号45のアミノ酸配列を含む、  
 (18) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号44のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号45のアミノ酸配列を含む、  
 (19) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号57のアミノ酸配列を含む、  
 (20) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号58のアミノ酸配列を含む、  
 (21) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号57のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号58のアミノ酸配列を含む、  
 (22) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号59のアミノ酸配列を含む、  
 (23) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号60のアミノ酸配列を含む、  
 (24) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号59のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号60のアミノ酸配列を含む、  
 (25) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号72のアミノ酸配列を含む、  
 (26) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号73のアミノ酸配列を含む、  
 (27) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号72のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号73のアミノ酸配列を含む、  
 (28) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号74のアミノ酸配列を含む、  
 (29) 第2のポリペプチド鎖が、配列番号75のアミノ酸配列を含む、又は  
 (30) 第1のポリペプチド鎖が、配列番号74のアミノ酸配列を含み、第2のポリペプチド鎖が、配列番号75のアミノ酸配列を含む、  
 請求項13又は14のタンパク質。

【請求項16】

請求項1～9のいずれか1項のTCR、請求項10～12のいずれか1項のポリペプチド、又は請求項13～15のいずれか1項のタンパク質をコードするヌクレオチド配列を含む、単離又は精製された核酸。

【請求項17】

10

20

30

40

50

5'から3'に向かって第1の核酸配列及び第2の核酸配列を含む単離又は精製された核酸であって、前記第1及び第2の核酸配列が、それぞれ、配列番号8及び9；9及び8；10及び11；11及び10；12及び13；13及び12；14及び15；15及び14；23及び24；24及び23；25及び26；26及び25；27及び28；28及び27；29及び30；30及び29；38及び39；39及び38；40及び41；41及び40；42及び43；43及び42；44及び45；45及び44；53及び54；54及び53；55及び56；56及び55；57及び58；58及び57；59及び60；60及び59；68及び69；69及び68；70及び71；71及び70；72及び73；73及び72；74及び75；又は75及び74のアミノ酸配列をコードする核酸。

10

【請求項18】

第1のヌクレオチド配列と第2のヌクレオチド配列との間に挿入された第3のヌクレオチド配列を更に含み、前記第3のヌクレオチド配列が切断可能なリンカーペプチドをコードする、請求項17の単離又は精製された核酸。

【請求項19】

切断可能なリンカーペプチドが、アミノ酸配列RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP（配列番号80）を含む、請求項18の単離又は精製された核酸。

【請求項20】

配列番号16、31、46、61、及び76からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする、請求項19の単離又は精製された核酸。

20

【請求項21】

請求項16～20のいずれか1項の核酸を含む、組み換え発現ベクター。

【請求項22】

トランスポゾンベクター又はレンチウイルスベクターである、請求項21の組換え発現ベクター。

【請求項23】

請求項16～20のいずれか1項の核酸又は請求項21若しくは22のベクターによってコードされる、単離又は精製されたTCR、ポリペプチド、又はタンパク質。

【請求項24】

細胞における請求項16～20のいずれか1項の核酸又は請求項21若しくは22のベクターの発現から生じる、単離又は精製されたTCR、ポリペプチド、又はタンパク質。

30

【請求項25】

ヒトp53<sup>C135Y</sup>、ヒトp53<sup>R175H</sup>、又はヒトp53<sup>M237I</sup>のアミノ酸配列に対して抗原特異性を有するTCRを発現する宿主細胞を生成する方法であって、請求項21又は22のベクターの細胞への導入を可能にする条件下で、インビトロにおいて前記細胞を前記ベクターと接触させることを含む方法。

【請求項26】

請求項16～20のいずれか1項の核酸、又は請求項21若しくは22の組み換え発現ベクターを含む、単離又は精製された宿主細胞。

【請求項27】

細胞がヒトリンパ球である、請求項26の宿主細胞。

40

【請求項28】

細胞が、T細胞、ナチュラルキラーT（NK）細胞、不変ナチュラルキラーT（iNKT）細胞、及びナチュラルキラー（NK）細胞からなる群から選択される、請求項26の宿主細胞。

【請求項29】

請求項26～28のいずれか1項の宿主細胞を含む、単離又は精製された細胞集団。

【請求項30】

請求項1～9、23、若しくは24のいずれか1項のTCR、請求項10～12、23、若しくは24のいずれか1項のポリペプチド、又は請求項13～15、23、若しくは

50

24のいずれか1項のタンパク質を製造する方法であって、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質が製造されるように、請求項26～28のいずれか1項の宿主細胞、又は請求項29の、宿主の細胞集団を培養することを含む、方法。

【請求項31】

(a) 請求項1～9、23、若しくは24のいずれか1項のTCR、請求項10～12、23、若しくは24のいずれか1項のポリペプチド、請求項13～15、23、若しくは24のいずれか1項のタンパク質、請求項16～20のいずれか1項の核酸、請求項21又は22の組み換え発現ベクター、請求項26～28のいずれか1項の宿主細胞、又は請求項29の宿主細胞集団と、(b) 薬学的に許容し得る担体とを含む、医薬組成物。

【請求項32】

哺乳動物におけるがんの存在を検出する方法であって：

(a) がんの細胞を含む試料と、請求項1～9、23、若しくは24のいずれか1項のTCR、請求項10～12、23若しくは24のいずれか1項のポリペプチド、請求項13～15、23若しくは24のいずれか1項のタンパク質、請求項16～20のいずれか1項の核酸、請求項21又は22の組み換え発現ベクター、請求項26～28のいずれか1項の宿主細胞、請求項29の宿主細胞集団、又は請求項31の医薬組成物とを接触させ、それによって、複合体を形成させること；及び

(b) 前記複合体を検出すること、  
を含み、

複合体の検出が、哺乳動物におけるがんの存在を示す、方法。

【請求項33】

哺乳動物におけるがんに対する免疫応答の誘導における使用のための、請求項1～9、23、若しくは24のいずれか1項のTCR、請求項10～12、23、若しくは24のいずれか1項のポリペプチド、請求項13～15、23、若しくは24のいずれか1項のタンパク質、請求項16～20のいずれか1項の核酸、請求項21若しくは22の組み換え発現ベクター、請求項26～28のいずれか1項の宿主細胞、請求項29の宿主細胞の集団、又は請求項31の医薬組成物。

【請求項34】

哺乳動物におけるがんの治療又は予防における使用のための、請求項1～9、23、若しくは24のいずれか1項のTCR、請求項10～12、23、若しくは24のいずれか1項のポリペプチド、請求項13～15、23、若しくは24のいずれか1項のタンパク質、請求項16～20のいずれか1項の核酸、請求項21若しくは22の組み換え発現ベクター、請求項26～28のいずれか1項の宿主細胞、請求項29の宿主細胞の集団、又は請求項31の医薬組成物。

【請求項35】

前記哺乳動物に対して自己である、請求項33又は34に記載の使用のための細胞の集団。

【請求項36】

前記哺乳動物に対して同種である、請求項33又は34に記載の使用のための細胞の集団。

【請求項37】

がんが上皮がんである、請求項32の方法、又は請求項33～36のいずれか1項に記載の使用のための、TCR、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、細胞集団、若しくは医薬組成物。

【請求項38】

がんが胆管がん、黒色腫、結腸がん、直腸がん、卵巣がん、子宮内膜がん、非小細胞肺癌( NSCLC)、神経膠芽細胞腫、子宮頸がん、頭頸部がん、乳がん、膵臓がん、又は膀胱がんである、請求項32の方法、又は請求項33～36のいずれか1項に記載の使用のための、TCR、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、細胞集団、若しくは医薬組成物。

10

20

30

40

50

## 【請求項 39】

前記がんが、ヒト p53 において C135Y、R175H、又は M237I の変異を含むことが知られている、請求項 32 に記載の方法、又は請求項 33～38 のいずれか 1 項に記載の使用のための TCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、若しくは医薬組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本特許出願は、2021 年 5 月 7 日に提出された米国仮特許出願番号第 63 / 185, 805 号（参照によりその全体が本明細書に組込まれる）の利益を主張する。 10

## 【0002】

## 連邦政府支援の研究又は開発に関する陳述

本発明は、連邦政府の支援を受け、プロジェクト番号 BC010985 の下、米国国立衛生研究所、米国国立がん研究所によりなされた。本発明において、連邦政府は一定の権利を有する。

## 【0003】

## 電子的に提出された物件の参照による組込み

本明細書と同時に提出され、以下の通り識別される、コンピュータで読み取り可能なヌクレオチド／アミノ酸の配列表は、参照により、その全体が本明細書に組込まれる：2022 年 4 月 21 日付けの「759875\_\_ST25.txt」という名前の 133, 457 バイトの ASCII（テキスト）ファイル 1 件。 20

## 【背景技術】

## 【0004】

幾つかのがんは、特に該がんが転移性且つ切除不能になったとき、非常に限られた治療法の選択肢しか有しない場合がある。例えば、外科手術、化学療法、及び放射線療法等の治療法の進歩にもかかわらず、多くのがん、例えば、膵臓、結腸直腸、肺、子宮内膜、卵巣、及び前立腺のがんの予後は不良である場合がある。従って、がんの更なる治療法に対するアンメットニーズが存在する。

## 【発明の概要】

## 【0005】

## 発明の簡単な要旨

本発明の一態様は、ヒト p53 C135Y、ヒト p53 R175H、又はヒト p53 M237I のアミノ酸配列に対して抗原特異性を有する単離は精製された T 細胞受容体（TCR）であって：（1）配列番号 2～4 の全て；（2）配列番号 5～7 の全て；（3）配列番号 2～7 の全て；（4）配列番号 17～19 の全て；（5）配列番号 20～22 の全て；（6）配列番号 17～22 の全て；（7）配列番号 32～34 の全て；（8）配列番号 35～37 の全て；（9）配列番号 32～37 の全て；（10）配列番号 47～49 の全て；（11）配列番号 50～52 の全て；（12）配列番号 47～52 の全て；（13）配列番号 62～64 の全て；（14）配列番号 65～67 の全て；又は（15）配列番号 62～67 の全てのアミノ酸配列を含む、TCR を提供する。 40

## 【0006】

本発明の更なる態様は、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、細胞集団、及び本発明の TCR に関連する医薬組成物を提供する。

## 【0007】

本発明のなお更なる態様は、哺乳動物におけるがんの存在を検出する方法、哺乳動物におけるがんに対する免疫応答を誘導する方法、及び哺乳動物におけるがんを治療又は予防する方法を提供する。

## 【0008】

本発明の追加の態様は、TCR を発現する宿主細胞を生成する方法、及び TCR、ポリ 50

ペプチド、又はタンパク質を生成する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

図面の幾つかの観点の簡単な説明

【0010】

【図1A】図1Aは、標的細胞を有する腫瘍断片番号F1～F24からの患者4316のTILを共培養した後に測定したIFN- $\gamma$ スポットの数（2e4細胞あたり）を示すグラフである。標的細胞は、(i) p53 C135Yを含むペプチドプール（PP）をパルスした；(ii) p53 C135Yをコードしているタンデムミニ遺伝子（TMG）RNA若しくは関係性のないTMGでトランスフェクションした；又は(iii) DMSO（コントロール）で処理した自己樹状細胞（DC）であった。PMS／イオノマイシンで処理したTILをポジティブコントロールとした。変異体p53反応性を有する断片22を枠で囲む。

10

【図1B】図1Bは、フローサイトメトリーによって測定したときの、患者4316からのTILを、DMSO（ビヒクル）、関係性のないペプチドKIAA1328 K386R、又は指定の変異体p53-C135Yペプチドをパルスした自己DCと共培養した後の4-1BB及びCD4を発現しているTILのパーセンテージを示す。PMA／イオノマイシンで処理したTILをポジティブコントロールとした。

【図1C】図1Cは、4316-D TCRで形質導入したPBLを、連続希釈した25merペプチドp53-C135Y又はWT p53-C135をパルスした自己未成熟DCと共培養した後の、4-1BBを発現しているマウスTCR定常領域発現T細胞（mTCR<sup>+</sup>）のパーセンテージを示すグラフである。

20

【図2】図2は、フローサイトメトリーによって測定したときの、p53 R175Hに対する体外感作（IVS）後（右列）又はIVSなし（左列）の、患者4141からのTILを標的細胞と共培養した後のOX40及び4-1BBを発現しているT細胞のパーセンテージを示す。標的細胞は、DMSO、変異体p53 R175Hペプチド、又は対応するWT p53 R175ペプチドをパルスした自己DCであった。T細胞活性化マーカー4-1BB及びOX40を上方制御した活性化T細胞を太字で示す。ME、最小エピトープ。

【図3A】図3Aは、腫瘍断片番号F1～F24からの患者4304のTILを標的細胞と共培養した後に測定したIFN- $\gamma$ スポットの数（2e4細胞あたり）を示すグラフである。標的細胞は、(i) p53 M237Iを含むPPをパルスした；(ii) p53 M237IをコードしているTMG RNA若しくは関係性のないTMGでトランスフェクションした；又は(iii) DMSO（コントロール）で処理した自己DCであった。PMS／イオノマイシンで処理したTILをポジティブコントロールとした。

30

【図3B】図3Bは、フローサイトメトリーによって測定したときの、患者4304の腫瘍消化物から選別されたCD39及びCD103を発現しているCD4<sup>+</sup>T細胞のパーセンテージを示す。

【図3C】図3Cは、標的細胞をエフェクター細胞と共培養した後に測定したIFN- $\gamma$ スポットの数（2e4細胞あたり）を示すグラフである。エフェクター細胞は、患者4304の腫瘍から選別されたCD4<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>（四角）、CD4<sup>+</sup>CD103<sup>-</sup>CD39<sup>+</sup>（三角）、又はCD4<sup>+</sup>CD103<sup>-</sup>CD39<sup>-</sup>（円）細胞であった。標的細胞は、(i) p53 M237Iを含むPPをパルスした；(ii) p53 M237IをコードしているTMG RNA若しくはコントロールTMGでトランスフェクションした；又は(iii) DMSO（コントロール）で処理した自己DCであった。単独で（TILのみ）培養したTILをコントロールとした。

40

【図3D～3F】図3D～3Fは、エフェクター細胞を、連続希釈した25merペプチドp53-M237I又はWT p53-M237をパルスした自己未成熟DCと共培養した後の、4-1BBを発現しているマウスTCR定常領域発現CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞（mTCR<sup>+</sup>）のパーセンテージを示すグラフである。エフェクター細胞は、4304

50

TCR-2 (図3D)、4304 TCR-4 (図3E)、又は4304 TCR-K (図3F)をコードしている組み換え発現ベクターで独立して形質導入したPBLであった。

【図4A-4B】図4A~4Bは、4141 IVS TCR形質導入細胞を腫瘍細胞株SK-MEL-5 (4A)、SAOS2 (4A)、SAOS2 R175H (4A)、CEM/C1 (4B)、TYK-nu (4B)、又はKLE (4B)と共培養した後の、4-1BB及びOX40を発現している4141 IVS TCR形質導入細胞のパーセンテージを示す。細胞株は、p53 R175H及びHLA-A\*02:01の発現について陽性(+)又は陰性(-)であることが示されている。

【図5A-5B】図5A-5Bは、9のp53スプライスバリエーションのアミノ酸配列のアラインメントを示す。SP | P04637 | P53\_\_HUMAN (配列番号1) ; SP | P04637-2 | P53\_\_HUMAN (配列番号81) ; SP | P04637-3 | P53\_\_HUMAN (配列番号82) ; SP | P04637-4 | P53\_\_HUMAN (配列番号83) ; SP | P04637-5 | P53\_\_HUMAN (配列番号84) ; SP | P04637-6 | P53\_\_HUMAN (配列番号85) ; SP | P04637-7 | P53\_\_HUMAN (配列番号86) ; SP | P04637-8 | P53\_\_HUMAN (配列番号87) ; 及びSP | P04637-9 | P53\_\_HUMAN (配列番号88)。アラインメントは図5Aに示すN末端から始まり、図5Bに示すC末端まで続く。

【図6】図6は、フローサイトメトリーによって測定したときの、4316-D TCR形質導入細胞を標的細胞と共培養した後の4-1BB及びOX40を発現している4316-D TCR形質導入細胞のパーセンテージを示す。標的細胞は、IFN-γの非存在下(上段)又はIFN-γの存在下(下段)においてDMSO(左列)、WT p53(中列)、又は変異体p53ペプチド(右列)をパルスした4316自己患者由来異種移植片(PDX)腫瘍細胞であった。

【図7A】図7Aは、前臨床異種移植マウスの作製及び処理プロトコルを示す概略図である。免疫不全雌性NSG(NOD scid gamma)マウスに、p53 R175H変異及びHLA-A\*02:01を天然に発現する200万のTYK-nu卵巣細胞を注射した。2週間後、これらマウスをビヒクル又は1000万のT細胞で処理した。その後、次の30日間にわたり腫瘍の成長を評価した。

【図7B-7C】図7B~7Cは、形質導入細胞の養子細胞移入(ACI)後30日間にわたって測定した担がんマウスの平均腫瘍サイズ(mm<sup>2</sup>)を示すグラフである。2頭の健常ドナー(健常ドナー1(7B)及び健常ドナー2(7C))からのPBLを、指定のTCRで独立して形質導入した。マウスは3つの処理群:PBSビヒクル(丸)、p53 Y220Cを標的とする関係性のないTCRで形質導入したT細胞(三角)、4141 IVS TCRで形質導入したT細胞(四角)に分けられ、nは5であった。これらを、4141-TCR1a2で形質導入したT細胞(星)で処理したマウスと比較した。得られた結果は、両健常ドナーから得られた細胞と一致していた。

【発明を実施するための形態】

【0011】

腫瘍タンパク質p53(「TP53」又は「p53」とも称される)は、例えば、細胞分裂を制御することによって腫瘍抑制因子として作用する。p53タンパク質は、細胞の核内に位置し、そこでDNAに直接結合する。DNAが損傷を受けると、p53タンパク質は、DNAを修復するか又は損傷を受けた細胞をアポトーシスさせるかの決定に関与する。DNAを修復することができる場合、p53は他の遺伝子を活性化させて損傷を修復する。DNAを修復することができない場合、p53タンパク質は、細胞が分裂するのを阻止し、該細胞にシグナルを伝達してアポトーシスさせる。変異したか又は損傷を受けたDNAを有する細胞の分裂を停止させることによって、p53は腫瘍の発達を阻止するのに役立つ。WT(正常)全長p53は、配列番号1のアミノ酸配列を含む。

【0012】

p53タンパク質における変異によって、p53タンパク質の腫瘍抑制因子機能が低下

するか又は失われることがある。或いは又は更に、p 5 3 変異は、ドミナントネガティブ方式でWT p 5 3 に干渉することによる機能獲得型変異であり得る。変異 p 5 3 タンパク質は、様々なヒトがん、例えば、胆管がん、黒色腫、結腸がん、直腸がん、卵巣がん、子宮内膜がん、非小細胞肺癌（NSCLC）、神経膠芽腫、子宮頸がん、頭頸部がん、乳がん、膵臓がん、又は膀胱がんのいずれかで発現し得る。

#### 【0013】

本発明の一態様は、ヒト p 5 3 C 1 3 5 Y、ヒト p 5 3 R 1 7 5 H、又はヒト p 5 3 M 2 3 7 I のアミノ酸配列に対して抗原特異性を有する単離又は精製された T 細胞受容体（TCR）を提供する。以後、「TCR」に対する言及は、特に規定のない限り、TCR の機能的部分及び機能的バリエーションも指す。p 5 3 の変異は、本明細書では、全長 WT p 5 3（配列番号 1）のアミノ酸配列を参照することによって定義される。p 5 3 の変異は、本明細書では、特定の位置に存在するアミノ酸残基、続いて、位置番号、続いて、検討中の特定の位置の変異において該残基に置き換わったアミノ酸を参照することによって記載される。p 5 3 のアミノ酸配列（例、p 5 3 ペプチド）は、全長の WT p 5 3 タンパク質の全てのアミノ酸残基よりも少ない場合がある。従って、位置番号は、本明細書においては、p 5 3 アミノ酸配列の特定の例における対応する残基の実際の位置は異なる場合があることを理解した上で、WT 全長 p 5 3 タンパク質（即ち、配列番号 1）を参照することにより定義される。位置が配列番号 1 によって定義されるので、用語「C 1 3 5 Y」は、配列番号 1 の 1 3 5 位に存在するシステインがチロシンによって置換されていることを示し、「R 1 7 5 H」は、配列番号 1 の 1 7 5 位に存在するアルギニンがヒスチジンで置換されていることを示し、「M 2 3 7 I」は、配列番号 1 の 2 3 7 位に存在するメチオニンがイソロイシンによって置換されていることを示す。例えば、p 5 3 アミノ酸配列の具体例が、例えば T C T Y S P A L N K M F C Q L A K T C P V Q L W V（配列番号 8 9）（配列番号 1 の連続アミノ酸残基 1 2 3 ~ 1 4 7 に対応する例示的な WT p 5 3 ペプチド）である場合、「C 1 3 5 Y」とは、たとえ配列番号 8 9 における下線付きアルギニンの実際の位置が 1 3 であろうと、配列番号 8 9 における下線付きシステインのチロシンによる置換を指す。以下、C 1 3 5 Y 変異を有するヒト p 5 3 アミノ酸配列を「C 1 3 5 Y」又は「p 5 3 C 1 3 5 Y」と称する。以下、R 1 7 5 H 変異を有するヒト p 5 3 アミノ酸配列を「R 1 7 5 H」又は「p 5 3 R 1 7 5 H」と称する。以下、M 2 3 7 I 変異を有するヒト p 5 3 アミノ酸配列を「M 2 3 7 I」又は「p 5 3 M 2 3 7 I」と称する。本明細書で使用する時、「変異型 p 5 3」は、ヒト p 5 3 C 1 3 5 Y、ヒト p 5 3 R 1 7 5 H、又はヒト p 5 3 M 2 3 7 I を指す。

#### 【0014】

P 5 3 には、9 の既知のスプライスバリエーションがある。本明細書に記載の p 5 3 変異は、9 の p 5 3 スプライスバリエーション全てに亘って保存されている。9 の p 5 3 スプライスバリエーションのアラインメントを図 5 に示す。従って、本発明の TCR は、9 の p 5 3 スプライスバリエーションのいずれかによってコードされる、本明細書に記載の任意の変異 p 5 3 アミノ酸配列に対して抗原特異性を有し得る。位置は配列番号 1 によって定義される通りであるため、p 5 3 の特定のスプライスバリエーションのアミノ酸配列の実際の位置は、配列番号 1 の対応する位置に相対的に定義され、及び配列番号 1 によって定義される位置は、特定のスプライスバリエーション中における実際の位置とは異なり得る。従って、例えば、変異は、配列番号 1 の、3 9 3 アミノ酸の配列の表示された位置に対応する、p 5 3 の特定のスプライスバリエーションのアミノ酸配列中におけるアミノ酸残基の置換を指し、スプライスバリエーション中における実際の位置は異なり得るとの理解である。

#### 【0015】

本発明の一態様においては、TCR は、配列番号 1 によって定義される通り、1 3 5 位に変異を有するヒト p 5 3 に対して抗原特異性を有する。1 3 5 位での p 5 3 変異は、ミスセンス変異であり得る。従って、1 3 5 位での変異は、1 3 5 位に存在する天然（WT）アルギニン残基の、アルギニン以外の任意のアミノ酸残基との置換であり得る。本発明の一態様においては、TCR は、ヒト p 5 3 C 1 3 5 Y アミノ酸配列に対して抗原特異性

を有する。例えば、TCRは、TCTYSPALNKMFYQLAKTCPVQLWV（配列番号90）のヒトp53<sup>C135Y</sup>アミノ酸配列に対して抗原特異性を有し得る。本発明の一態様においては、TCRは、TCTYSPALNKMFCQLAKTCPVQLWV（配列番号89）の野生型ヒトp53アミノ酸配列に対して抗原特異性を有しない。  
【0016】

本発明の一態様においては、TCRは、配列番号1によって定義される通り、175位に変異を有するヒトp53に対して抗原特異性を有する。175位でのp53変異は、ミスセンス変異であり得る。従って、175位での変異は、175位に存在する天然（WT）アルギニン残基の、アルギニン以外の任意のアミノ酸残基との置換であり得る。本発明の一態様においては、TCRは、ヒトp53<sup>R175H</sup>アミノ酸配列に対して抗原特異性を有する。例えば、TCRは、HMTEVVRHC（配列番号92）のヒトp53<sup>R175H</sup>アミノ酸配列に対して抗原特異性を有し得る。本発明の一態様においては、TCRは、HMTEVVRRC（配列番号91）の野生型ヒトp53アミノ酸配列に対して抗原特異性を有しない。

10

【0017】

本発明の一態様においては、TCRは、配列番号1によって定義される通り、237位に変異を有するヒトp53に対して抗原特異性を有する。237位でのp53変異は、ミスセンス変異であり得る。従って、237位での変異は、237位に存在する天然（WT）メチオニン残基の、メチオニン以外の任意のアミノ酸残基との置換であり得る。本発明の一態様においては、TCRは、ヒトp53<sup>M237I</sup>アミノ酸配列に対する抗原特異性を有する。例えば、TCRは、VGSDCTTIHYNYICNSSSCMGGMNRR（配列番号94）のヒトp53<sup>M237I</sup>アミノ酸配列に対して抗原特異性を有し得る。本発明の一態様においては、TCRは、VGSDCTTIHYNYMCNSSSCMGGMNRR（配列番号93）の野生型ヒトp53アミノ酸配列に対して抗原特異性を有しない。

20

【0018】

本発明の一態様においては、本発明のTCRは、HLA（ヒト白血球抗原）分子依存的に変異p53を認識することができ得る。「HLA分子依存的に」とは、本明細書で用いるとき、TCRが、該TCRを単離した患者で発現するHLA分子の枠の中で、変異p53に結合したときに免疫応答を惹起することを意味する。本発明のTCRは、適用可能なHLA分子によって提示された変異p53を認識することができ得、変異p53に加えてHLA分子にも結合し得る。

30

【0019】

本発明の一態様においては、本発明のTCRは、HLAクラスII分子によって提示されるC135Yを認識することができる。これに関して、TCRは、HLAクラスII分子の関係でのC135Yへの結合に際して、免疫応答を誘発し得る。本発明のTCRは、HLAクラスII分子により提示されるC135Yを認識することができ、C135Yに加えてHLAクラスII分子に結合し得る。

【0020】

本発明の一態様においては、本発明のTCRは、HLAクラスII分子によって提示されるM237Iを認識することができる。これに関して、TCRは、HLAクラスII分子の関係でのM237Iへの結合に際して、免疫応答を誘発し得る。本発明のTCRは、HLAクラスII分子により提示されるM237Iを認識することができ、M237Iに加えてHLAクラスII分子に結合し得る。

40

【0021】

本発明の一態様においては、HLAクラスII分子は、HLA-DRヘテロ二量体である。HLA-DRヘテロ二量体は、α鎖及びβ鎖を含む細胞表面受容体である。HLA-DRα鎖はHLA-DRA遺伝子によりコードされる。HLA-DRβ鎖は、HLA-DRB1遺伝子、HLA-DRB3遺伝子、HLA-DRB4遺伝子、又はHLA-DRB5遺伝子によってコードされる。HLA-DRB1遺伝子によってコードされる分子の例としては、HLA-DR1、HLA-DR2、HLA-DR3、HLA-DR4、HLA

50

—DR5、HLA—DR6、HLA—DR7、HLA—DR8、HLA—DR9、HLA—DR10、HLA—DR11、HLA—DR12、HLA—DR13、HLA—DR14、HLA—DR15、HLA—DR16、及びHLA—DR17が挙げられ得るが、これらに限定されない。HLA—DRB3遺伝子はHLA—DR52をコードする。HLA—DRB4遺伝子はHLA—DR53をコードする。HLA—DRB5遺伝子はHLA—DR51をコードする。

#### 【0022】

一態様においては、HLAクラスII分子の $\alpha$ 鎖は、HLA—DRA1\*01:01:00対立遺伝子により発現する。一態様においては、HLAクラスII分子の $\beta$ 鎖は、HLA—DRB1\*07:01:00対立遺伝子により発現する。本発明の一態様においては、HLAクラスII分子は、HLA—DRB7:HLA—DRAヘテロ二量体である。好ましい態様においては、HLAクラスII分子は、HLA—DRA1\*01:01:00鎖及びHLA—DRB1\*07:01:00鎖のヘテロ二量体である。特に好ましい態様においては、変異型p53は、C135Yであり、HLAクラスII分子は、HLA—DRA1\*01:01鎖及びHLA—DRB1\*07:01鎖のヘテロ二量体である。

#### 【0023】

一態様においては、HLAクラスII分子の $\alpha$ 鎖は、HLA—DRA1\*01:01:00対立遺伝子により発現する。一態様においては、HLAクラスII分子の $\beta$ 鎖は、HLA—DRB1\*01:01:00対立遺伝子により発現する。本発明の一態様においては、HLAクラスII分子は、HLA—DRB1:HLA—DRAヘテロ二量体である。好ましい態様においては、HLAクラスII分子は、HLA—DRA1\*01:01:00鎖及びHLA—DRB1\*01:01:00鎖のヘテロ二量体である。特に好ましい態様においては、変異型p53は、M237Iであり、HLAクラスII分子は、HLA—DRA1\*01:01鎖及びHLA—DRB1\*01:01鎖のヘテロ二量体である。

#### 【0024】

本発明の一態様においては、本発明のTCRは、HLAクラスI分子によって提示されるR175Hを認識することができる。これに関して、TCRは、HLAクラスI分子の関係でのR175Hへの結合に際して、免疫応答を誘発し得る。本発明のTCRは、HLAクラスI分子により提示されるR175Hを認識することができ、R175Hに加えてHLAクラスI分子に結合し得る。

#### 【0025】

本発明の一実施形態においては、HLAクラスI分子はHLA—A分子である。HLA—A分子は、 $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 2ミクログロブリンのヘテロ二量体である。HLA—A $\alpha$ 鎖はHLA—A遺伝子によってコードされ得る。 $\beta$ 2ミクログロブリンは、アルファ鎖のアルファ1、アルファ2及びアルファ3ドメインに非共有結合して、HLA—A複合体を構築する。HLA—A分子は任意のHLA—A分子であり得る。本発明の一実施形態においては、HLAクラスI分子はHLA—A2分子である。HLA—A2分子は、任意のHLA—A2分子であり得る。HLA—A2分子の例としては、HLA—A\*02:01、HLA—A\*02:02、HLA—A\*02:03対立遺伝子、HLA—A\*02:05、HLA—A\*02:06、HLA—A\*02:07対立遺伝子、又はHLA—A\*02:11対立遺伝子によってコードされるものが挙げられ得るが、これらに限定されない。好ましくは、HLAクラスI分子は、HLA—A\*02:01対立遺伝子によってコードされる。

#### 【0026】

養子細胞移入に使用される細胞で発現した場合を含む、本発明のTCRは、多くの利点のいずれか1以上を提供し得る。変異p53は、がん細胞で発現し、正常非がん細胞では発現しない。特定の理論又は機序に縛られるものではないが、本発明のTCRは、有利には、例えば毒性を最小化又は排除することによって、正常非がん細胞の破壊を最小化又は排除すると同時に、がん細胞の破壊を目的とし、それによって、低減すると考えられる。更に、本発明のTCRは、有利には、例えば化学療法、外科手術、又は放射線照射等の他

10

20

30

40

50

の種類の治療には応答しない変異 p 5 3 陽性がんを成功裏に治療又は予防することができる。更に、本発明の T C R は、変異 p 5 3 を高い結合活性で (h i g h l y a v i d) 認識することができ、これによって、操作されていない腫瘍細胞 (例えば、インターフェロン (I F N) -  $\gamma$  で処理されていない、変異 p 5 3 及び適用可能な H L A 分子の一方又は両方をコードしているベクターをトランスフェクションしていない、p 5 3 変異を有する p 5 3 ペプチドをパルスしていない、又はこれらの組み合わせの腫瘍細胞) を認識する能力が付与され得る。p 5 3 における変異は様々な腫瘍型に共通している。全ての腫瘍のおよそ半分は p 5 3 に変異を有し、そのうちの約半分はミスセンス変異である。R 1 7 5 H 変異は一般的であり、全固形がん患者の約 5 % が有している。C 1 3 5 Y 変異及び M 2 3 7 I 変異も再発率が高く、それぞれ全がん患者の約 0 . 4 % が有している。従って、本発明の T C R は、免疫療法による治療の適格性を有する可能性のある患者の数を増加させることができる。

10

【 0 0 2 7 】

語句「抗原特異性」とは、本明細書で用いるとき、T C R が、高い結合活性で変異 p 5 3 に特異的に結合し、免疫学的に認識できることを意味する。例えば、( a ) 変異 p 5 3 ペプチド (例えば、約 0 . 1 n g / m L ~ 約 1 0 , 0 0 0 n g / m L 、 0 . 1 n g / m L 、 0 . 5 n g / m L 、 1 n g / m L 、 5 n g / m L 、 1 0 n g / m L 、 1 0 0 n g / m L 、 5 0 0 n g / m L 、 1 , 0 0 0 n g / m L 、 5 , 0 0 0 n g / m L 、 1 0 , 0 0 0 n g / m L 、又は上記値のうちのいずれか 2 つによって規定される範囲) をパルスした抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞又は ( b ) 標的細胞が変異 p 5 3 を発現するように変異 p 5 3 をコードしているヌクレオチド配列を導入した抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞と共培養した際に、T C R を発現している約  $1 \times 1 0^4$  ~ 約  $1 \times 1 0^5$  個の T 細胞が少なくとも約 2 0 0 p g / m L 以上 (例えば、2 0 0 p g / m L 以上、3 0 0 p g / m L 以上、4 0 0 p g / m L 以上、5 0 0 p g / m L 以上、6 0 0 p g / m L 以上、7 0 0 p g / m L 以上、1 0 0 0 p g / m L 以上、5 , 0 0 0 p g / m L 以上、7 , 0 0 0 p g / m L 以上、1 0 , 0 0 0 p g / m L 以上、2 0 , 0 0 0 p g / m L 以上、又は上記値のうちのいずれか 2 つによって規定される範囲) の I F N -  $\gamma$  を分泌した場合、該 T C R が変異 p 5 3 に対して「抗原特異性」を有するとみなしてよい。本発明の T C R を発現している細胞は、より高濃度の変異 p 5 3 ペプチドをパルスした抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞と共培養した際にも I F N -  $\gamma$  を分泌することができる。

20

30

【 0 0 2 8 】

或いは又は更に、ネガティブコントロールで発現する I F N -  $\gamma$  の量と比較して、( a ) 変異 p 5 3 ペプチドをパルスした抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞又は ( b ) 標的細胞が変異 p 5 3 を発現するように変異 p 5 3 をコードしているヌクレオチド配列を導入した抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞と共培養した際に、T C R を発現している T 細胞が少なくとも 2 倍の I F N -  $\gamma$  を分泌した場合、該 T C R が変異 p 5 3 に対して「抗原特異性」を有するとみなしてよい。ネガティブコントロールは、例えば、( i ) ( a ) 同濃度の関係性の無いペプチド (例えば、変異 p 5 3 ペプチドとは異なる配列を有する幾つかの他のペプチド) をパルスした抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞若しくは ( b ) 標的細胞が関係性の無いペプチドを発現するように該関係性の無いペプチドをコードしているヌクレオチド配列を導入した抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞と共培養した、該 T C R を発現している T 細胞、又は ( i i ) ( a ) 同濃度の変異 p 5 3 ペプチドをパルスした抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞若しくは ( b ) 標的細胞が変異 p 5 3 を発現するように変異 p 5 3 をコードしているヌクレオチド配列を導入した抗原陰性適用可能な H L A 分子陽性の標的細胞と共培養した、形質導入されていない T 細胞 (例えば、該 T C R を発現しない P B M C 由来) であってよい。I F N -  $\gamma$  分泌は、当技術分野において公知の方法、例えば、酵素結合免疫吸着測定法 (E L I S A) によって測定することができる。パルスされたペプチドの濃度は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載の通りであってよい。

40

【 0 0 2 9 】

50

或いは又は更に、IFN- $\gamma$ を分泌するネガティブコントロールT細胞の数と比較して、(a)変異p53ペプチドをパルスした抗原陰性適用可能なHLA分子陽性の標的細胞又は(b)標的細胞が変異p53を発現するように変異p53をコードしているヌクレオチド配列を導入した抗原陰性適用可能なHLA分子陽性の標的細胞と共培養した際に、IFN- $\gamma$ を分泌するTCRを発現しているT細胞の数が少なくとも2倍であった場合、該TCRが変異p53に対して「抗原特異性」を有するとみなしてよい。ペプチドの濃度及びネガティブコントロールは、本発明の他の態様に関して本明細書に記載の通りであってよい。IFN- $\gamma$ を分泌する細胞の数は、当技術分野において公知の方法、例えば、酵素免疫スポット(ELISPOT)アッセイによって測定することができる。

【0030】

10

或いは又は更に、同じ標的細胞と共培養したネガティブコントロールT細胞についてELISPOTによって検出されたスポット数と比較して、(a)変異p53ペプチドをパルスした抗原陰性適用可能なHLA分子陽性の標的細胞又は(b)標的細胞が変異p53を発現するように変異p53をコードしているヌクレオチド配列を導入した抗原陰性適用可能なHLA分子陽性の標的細胞と共培養した際に、TCRを発現しているT細胞についてのELISPOTによって少なくとも2倍のスポットが検出された場合、該TCRが変異p53に対して「抗原特異性」を有するとみなしてよい。ペプチドの濃度及びネガティブコントロールは、本発明の他の態様に関して本明細書に記載の通りであってよい。

【0031】

或いは又は更に、変異p53を発現している標的細胞で刺激した後に例えばフローサイトメトリーによって測定したとき、TCRを発現しているT細胞が4-1BB及びOX40の一方又は両方の発現を上方制御した場合、該TCRが変異p53に対して「抗原特異性」を有するとみなしてよい。

20

【0032】

本発明の一態様は、例えば、TCRのアルファ( $\alpha$ )鎖、TCRのベータ( $\beta$ )鎖、TCRのガンマ( $\gamma$ )鎖、TCRのデルタ( $\delta$ )鎖、又はこれらの組み合わせ等の2本のポリペプチド(即ち、ポリペプチド鎖)を含むTCRを提供する。本発明のTCRのポリペプチドは、TCRが変異p53に対して抗原特異性を有する限り、任意のアミノ酸配列を含んでいてよい。

【0033】

30

本発明の一態様においては、TCRは、TCRの相補性決定領域(CDR)1、CDR2、及びCDR3を含む可変領域をそれぞれ含む、2本のポリペプチド鎖を含む。本発明の一態様においては、TCRは、 $\alpha$ 鎖のCDR1(CDR1 $\alpha$ )、 $\alpha$ 鎖のCDR2(CDR2 $\alpha$ )、及び $\alpha$ 鎖のCDR3(CDR3 $\alpha$ )を含む第1のポリペプチド鎖と、 $\beta$ 鎖のCDR1(CDR1 $\beta$ )、 $\beta$ 鎖のCDR2(CDR2 $\beta$ )、及び $\beta$ 鎖のCDR3(CDR3 $\beta$ )を含む第2のポリペプチド鎖とを含む。本発明の一態様においては、TCRは、(1)配列番号2~7の全て(4316-D TCR)；(2)配列番号17~22の全て(4141 IVS TCR)；(3)配列番号32~37の全て(4304 TCR-2)；(4)配列番号47~52の全て(4304 TCR-4)；又は(5)配列番号62~67の全て(4304 TCR-K)のアミノ酸配列を含む。この段落における上述の9のアミノ酸配列のコレクションのそれぞれ1つは、変異ヒトp53に対して抗原特異性を有する5の異なるTCRのそれぞれの6のCDR領域を示す。各コレクションにおける6のアミノ酸配列は、それぞれ、CDR1 $\alpha$ 、CDR2 $\alpha$ 、CDR3 $\alpha$ 、CDR1 $\beta$ 、CDR2 $\beta$ 、及びCDR3 $\beta$ に対応する。

40

【0034】

TCRは、配列番号2~7、17~22、32~37、47~52、及び62~67のうちのいずれか1以上のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、TCRは、ヒトp53<sup>C135Y</sup>、ヒトp53<sup>R175H</sup>、又はヒトp53<sup>M237I</sup>のアミノ酸配列に対して抗原特異性を有する単離又は精製されたTCRを含み、該TCRは以下のアミノ酸配列を含む：(1)配列番号2~4の全て；(2)配列番号5~7の全て；(3)配

50

列番号 2～7 の全て；（４）配列番号 17～19 の全て；（５）配列番号 20～22 の全て；（６）配列番号 17～22 の全て；（７）配列番号 32～34 の全て；（８）配列番号 35～37 の全て；（９）配列番号 32～37 の全て；（１０）配列番号 47～49 の全て；（１１）配列番号 50～52 の全て；（１２）配列番号 47～52 の全て；（１３）配列番号 62～64 の全て；（１４）配列番号 65～67 の全て；又は（１５）配列番号 62～67 の全て。

【００３５】

本発明の一態様においては、TCRは、合わせて上記CDRのコレクションのうちの１つを含む、 $\alpha$ 鎖可変領域のアミノ酸配列及び $\beta$ 鎖可変領域のアミノ酸配列を含む。これに関して、該TCRは以下のアミノ酸配列を含む：（１）配列番号 8 及び 9 の両方；（２）配列番号 10 及び 11 の両方；（３）配列番号 23 及び 24 の両方；（４）配列番号 25 及び 26 の両方；（５）配列番号 38 及び 39 の両方；（６）配列番号 40 及び 41 の両方；（７）配列番号 53 及び 54 の両方；（８）配列番号 55 及び 56 の両方；（９）配列番号 68 及び 69 の両方；又は（１０）配列番号 70 及び 71 の両方。この段落における上述のアミノ酸配列のコレクションのそれぞれ１つは、変異ヒト p53 に対して抗原特異性を有する 5 の異なる TCR のそれぞれの 2 の可変領域を示す。各コレクションにおける 2 のアミノ酸配列は、それぞれ、TCR の  $\alpha$  鎖の可変領域及び  $\beta$  鎖の可変領域に対応する。

【００３６】

TCRは、例えば、配列番号 8、9、10、11、23、24、25、26、38、39、40、41、53、54、55、56、68、69、70、及び 71 のうちのいずれか 1 以上のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、該TCRは以下のアミノ酸配列を含む：（１）配列番号 8；（２）配列番号 9；（３）配列番号 8 及び 9 の両方；（４）配列番号 10；（５）配列番号 11；（６）配列番号 10 及び 11 の両方；（７）配列番号 23；（８）配列番号 24；（９）配列番号 23 及び 24 の両方；（１０）配列番号 25；（１１）配列番号 26；（１２）配列番号 25 及び 26 の両方；（１３）配列番号 38；（１４）配列番号 39；（１５）配列番号 38 及び 39 の両方；（１６）配列番号 40；（１７）配列番号 41；（１８）配列番号 40 及び 41 の両方；（１９）配列番号 53；（２０）配列番号 54；（２１）配列番号 53 及び 54 の両方；（２２）配列番号 55；（２３）配列番号 56；（２４）配列番号 55 及び 56 の両方；（２５）配列番号 68；（２６）配列番号 69；（２７）配列番号 68 及び 69 の両方；（２８）配列番号 70；（２９）配列番号 71；又は（３０）配列番号 70 及び 71 の両方。

【００３７】

本発明のTCRは、定常領域を更に含み得る。定常領域は、例えばヒト又はマウス等の任意の好適な種に由来してよい。本発明の一態様においては、TCRは、マウスの定常領域を更に含む。本明細書で用いるとき、用語「マウス」又は「ヒト」は、本明細書に記載のTCR又はTCRの任意の構成要素（例えば、相補性決定領域（CDR）、可変領域、定常領域、アルファ鎖、及び／又はベータ鎖）に言及するとき、それぞれマウス又はヒト由来のTCR（又はその構成要素）、即ち、それぞれマウスT細胞又はヒトT細胞を起源とするか又は該細胞によってかつて発現されたTCR（又はその構成要素）を意味する。本発明の一態様においては、TCRは、マウス $\alpha$ 鎖定常領域及びマウス $\beta$ 鎖定常領域を含み得る。マウス $\alpha$ 鎖定常領域は、改変されていてもよく、改変されていなくてもよい。改変マウス $\alpha$ 鎖定常領域は、例えば米国特許第 10, 174, 098 号に記載の通り、例えば、システイン置換されていてもよく、LVL改変されていてもよく、又はシステイン置換及びLVL改変の両方が行われていてもよい。マウス $\beta$ 鎖定常領域は、改変されていてもよく、改変されていなくてもよい。改変マウス $\beta$ 鎖定常領域は、例えば米国特許第 10, 174, 098 号に記載の通り、例えば、システイン置換されていてもよい。本発明の一態様においては、TCRは、配列番号 77 又は 78 のアミノ酸配列を含むシステイン置換LVL改変マウス $\alpha$ 鎖定常領域を含む。本発明の一態様においては、TCRは、配列番号 79 のアミノ酸配列を含むシステイン置換マウス $\beta$ 鎖定常領域を含む。

## 【0038】

本発明の一態様においては、本発明のTCRは、TCRのα鎖及びTCRのβ鎖を含み得る。TCRのα鎖は、α鎖の可変領域及びα鎖の定常領域を含み得る。この種のα鎖は、TCRの任意のβ鎖と対合し得る。β鎖は、β鎖の可変領域及びβ鎖の定常領域を含み得る。

## 【0039】

幾つかの態様においては、本明細書に開示されるα鎖及び／又はβ鎖のいずれかのアミノ酸配列は、C末端にアミノ酸配列RAKR（配列番号95）を更に含む。

## 【0040】

本発明の一態様においては、TCRは以下のアミノ酸配列を含み得る：（1）配列番号12及び13の両方；（2）配列番号14及び15の両方；（3）配列番号27及び28の両方；（4）配列番号29及び30の両方；（5）配列番号42及び43の両方；（6）配列番号44及び45の両方；（7）配列番号57及び58の両方；（8）配列番号59及び60の両方；（9）配列番号72及び73の両方；又は（10）配列番号74及び75の両方。この段落における上述のアミノ酸配列のコレクションのそれぞれ1つは、変異ヒトp53に対して抗原特異性を有する、5の異なるTCRのそれぞれのα鎖及びβ鎖を示す。各コレクションにおける2のアミノ酸配列は、それぞれ、TCRのα鎖及びβ鎖に対応する。

## 【0041】

TCRは、配列番号12、13、14、15、27、28、29、30、42、43、44、45、57、58、59、60、72、73、74、及び75のうちのいずれか1以上のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、該TCRは以下のアミノ酸配列を含む：（1）配列番号12；（2）配列番号13；（3）配列番号12及び13の両方；（4）配列番号14；（5）配列番号15；（6）配列番号14及び15の両方；（7）配列番号27；（8）配列番号28；（9）配列番号27及び28の両方；（10）配列番号29；（11）配列番号30；（12）配列番号29及び30の両方；（13）配列番号42；（14）配列番号43；（15）配列番号42及び43の両方；（16）配列番号44；（17）配列番号45；（18）配列番号44及び45の両方；（19）配列番号57；（20）配列番号58；（21）配列番号57及び58の両方；（22）配列番号59；（23）配列番号60；（24）配列番号59及び60の両方；（25）配列番号72；（26）配列番号73；（27）配列番号72及び73の両方；（28）配列番号74；（29）配列番号75；又は（30）配列番号74及び75の両方。

## 【0042】

本明細書に記載の本発明のTCRの機能的バリエーションは、本発明の範囲に含まれる。用語「機能的バリエーション」とは、本明細書で用いるとき、親のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質に対して実質的な又は著しい配列の同一性又は類似性を有するTCR、ポリペプチド、又はタンパク質を指し、該機能的バリエーションは、該バリエーションがそのバリエーションであるTCR、ポリペプチド、又はタンパク質の生物活性を保持している。機能的バリエーションは、例えば、親のTCR、ポリペプチド、若しくはタンパク質と同様の程度、同一程度、又はより高程度、親TCRが抗原特異性を有するか又は親のポリペプチド若しくはタンパク質が特異的に結合する変異p53に特異的に結合する能力を保持している、本明細書に記載のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質（親のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質）のバリエーションを包含する。親のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質に関連して、機能的バリエーションは、例えば、それぞれ親のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質に対してアミノ酸配列が少なくとも約30%、少なくとも約50%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又はそれ以上同一であってよい。

## 【0043】

機能的バリエーションは、例えば、少なくとも1の保存的アミノ酸置換を有する親のTCR

、ポリペプチド、又はタンパク質のアミノ酸配列を含み得る。保存的アミノ酸置換は、当技術分野において公知であり、特定の物理的及び／又は化学的特性を有するあるアミノ酸が、同じ化学的又は物理的特性を有する別のアミノ酸に交換されるアミノ酸置換を含む。例えば、保存的アミノ酸置換は、酸性アミノ酸の別の酸性アミノ酸（例えば、Asp又はGlu）による置換、非極性側鎖を有するアミノ酸の、別の非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、Ala、Gly、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Pro、Trp、Val等）による置換、塩基性アミノ酸の別の塩基性アミノ酸（Lys、Arg等）による置換、極性側鎖を有するアミノ酸の、別の極性側鎖を有するアミノ酸（Asn、Cys、Gln、Ser、Thr、Tyr等）による置換等であってよい。

【0044】

10

或いは又は更に、機能的バリエーションは、少なくとも1の非保存的アミノ酸置換を有する親のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質のアミノ酸配列を含み得る。この場合、非保存的アミノ酸置換が、機能的バリエーションの生物活性に干渉もせず、阻害もしないことが好ましい。好ましくは、非保存的アミノ酸置換は機能的バリエーションの生物活性を増強し、その結果、機能的バリエーションの生物活性が、親のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質と比べて増大する。

【0045】

TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、本明細書に記載の指定のアミノ酸配列（複数可）から本質的になっていてよく、その結果、該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、該TCR、ポリペプチド、又はタンパク質の生物活性を実質的に変化させることはない。

20

【0046】

また、本明細書に記載のTCRのいずれかの機能的部分を含むポリペプチドが本発明によって提供される。用語「ポリペプチド」は、本明細書で用いるとき、オリゴペプチドを含み、そして、1以上のペプチド結合によって連結された一本鎖のアミノ酸を指す。

【0047】

本発明のポリペプチドに関して、機能的部分は、変異p53に特異的に結合する限り、該機能的部分がその一部であるTCRの連続アミノ酸を含む任意の部分であってよい。用語「機能的部分」は、TCRに関連して使用されるとき、本発明のTCRの任意の部分又は断片であって、該部分又は断片がその一部であるTCR（親TCR）の生物活性を保持している部分又は断片を指す。機能的部分は、例えば、親TCRと同様の程度、同一程度、又はより高程度、（例えば、適用可能なHLA分子依存的に）変異p53に特異的に結合するか又はがんを検出、治療、若しくは予防する能力を保持しているTCRの部分を含む。親TCRに関連して、機能的部分は、例えば、親TCRの約10%、約25%、約30%、約50%、約70%、約80%、約90%、約95%、又はそれ以上を構成し得る。

30

【0048】

機能的部分は、該部分のアミノ若しくはカルボキシ末端又は両末端に、親TCRのアミノ酸配列にはみられない追加のアミノ酸を含んでいてもよい。望ましくは、追加のアミノ酸は、例えば、変異p53に特異的に結合する、及び／又はがんを検出する、がんを治療若しくは予防する能力を有する等の機能的部分の生物学的機能に干渉しない。より望ましくは、追加のアミノ酸は、親TCRの生物活性と比較して生物活性を増強する。

40

【0049】

ポリペプチドは、本発明のTCRのα鎖及びβ鎖のいずれか又は両方の機能的部分、例えば、本発明のTCRのα鎖及び／又はβ鎖の可変領域（複数可）のCDR1、CDR2、及びCDR3のうちの1以上を含む機能的部分を含み得る。本発明の一態様においては、該ポリペプチドは以下のアミノ酸配列を含み得る：（1）配列番号2～7の全て；（2）配列番号17～22の全て；（3）配列番号32～37の全て；（4）配列番号47～52の全て；又は（5）配列番号62～67の全て。ポリペプチドは、配列番号2～7、17～22、32～37、47～52、及び62～67のうちのいずれか1以上のアミノ

50

酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、該ポリペプチドは以下のアミノ酸配列を含む：（１）配列番号２～４の全て；（２）配列番号５～７の全て；（３）配列番号２～７の全て；（４）配列番号１７～１９の全て；（５）配列番号２０～２２の全て；（６）配列番号１７～２２の全て；（７）配列番号３２～３４の全て；（８）配列番号３５～３７の全て；（９）配列番号３２～３７の全て；（１０）配列番号４７～４９の全て；（１１）配列番号５０～５２の全て；（１２）配列番号４７～５２の全て；（１３）配列番号６２～６４の全て；（１４）配列番号６５～６７の全て；又は（１５）配列番号６２～６７の全て。

【００５０】

本発明の一態様においては、本発明のポリペプチドは、例えば、上記ＣＤＲ領域の組み合わせを含む本発明のＴＣＲの可変領域を含み得る。これに関して、該ポリペプチドは、例えば、以下のアミノ酸配列を含み得る：（１）配列番号８及び９の両方；（２）配列番号１０及び１１の両方；（３）配列番号２３及び２４の両方；（４）配列番号２５及び２６の両方；（５）配列番号３８及び３９の両方；（６）配列番号４０及び４１の両方；（７）配列番号５３及び５４の両方；（８）配列番号５５及び５６の両方；（９）配列番号６８及び６９の両方；又は（１０）配列番号７０及び７１の両方。ポリペプチドは、例えば、配列番号８、９、１０、１１、２３、２４、２５、２６、３８、３９、４０、４１、５３、５４、５５、５６、６８、６９、７０、及び７１のうちのいずれか１以上のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、該ポリペプチドは以下のアミノ酸配列を含む：（１）配列番号８；（２）配列番号９；（３）配列番号８及び９の両方；（４）配列番号１０；（５）配列番号１１；（６）配列番号１０及び１１の両方；（７）配列番号２３；（８）配列番号２４；（９）配列番号２３及び２４の両方；（１０）配列番号２５；（１１）配列番号２６；（１２）配列番号２５及び２６の両方；（１３）配列番号３８；（１４）配列番号３９；（１５）配列番号３８及び３９の両方；（１６）配列番号４０；（１７）配列番号４１；（１８）配列番号４０及び４１の両方；（１９）配列番号５３；（２０）配列番号５４；（２１）配列番号５３及び５４の両方；（２２）配列番号５５；（２３）配列番号５６；（２４）配列番号５５及び５６の両方；（２５）配列番号６８；（２６）配列番号６９；（２７）配列番号６８及び６９の両方；（２８）配列番号７０；（２９）配列番号７１；又は（３０）配列番号７０及び７１の両方。

【００５１】

本発明の一態様においては、本発明のポリペプチドは、上記本発明のＴＣＲの定常領域を更に含み得る。これに関して、該ポリペプチドは、例えば、（ｉ）配列番号７７～７９のうちの１又は（ｉｉ）配列番号７９及び配列番号７７及び７８のうちの１のアミノ酸配列を含み得る。

【００５２】

本発明の一態様においては、本発明のポリペプチドは、本発明のＴＣＲの $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 鎖を含み得る。これに関して、該ポリペプチドは、例えば、以下のアミノ酸配列を含む：（１）配列番号１２及び１３の両方；（２）配列番号１４及び１５の両方；（３）配列番号２７及び２８の両方；（４）配列番号２９及び３０の両方；（５）配列番号４２及び４３の両方；（６）配列番号４４及び４５の両方；（７）配列番号５７及び５８の両方；（８）配列番号５９及び６０の両方；（９）配列番号７２及び７３の両方；又は（１０）配列番号７４及び７５の両方。ポリペプチドは、配列番号１２、１３、１４、１５、２７、２８、２９、３０、４２、４３、４４、４５、５７、５８、５９、６０、７２、７３、７４、及び７５のうちのいずれか１以上のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、該ポリペプチドは以下のアミノ酸配列を含む：（１）配列番号１２；（２）配列番号１３；（３）配列番号１２及び１３の両方；（４）配列番号１４；（５）配列番号１５；（６）配列番号１４及び１５の両方；（７）配列番号２７；（８）配列番号２８；（９）配列番号２７及び２８の両方；（１０）配列番号２９；（１１）配列番号３０；（１２）配列番号２９及び３０の両方；（１３）配列番号４２；（１４）配列番号４３；（１５）配列番号４２及び４３の両方；（１６）配列番号４４；（１７）配列番号４５；（１８）

配列番号 4 4 及び 4 5 の両方；（19）配列番号 5 7；（20）配列番号 5 8；（21）配列番号 5 7 及び 5 8 の両方；（22）配列番号 5 9；（23）配列番号 6 0；（24）配列番号 5 9 及び 6 0 の両方；（25）配列番号 7 2；（26）配列番号 7 3；（27）配列番号 7 2 及び 7 3 の両方；（28）配列番号 7 4；（29）配列番号 7 5；又は（30）配列番号 7 4 及び 7 5 の両方。

【0053】

本発明の一態様は、更に、本明細書に記載のポリペプチドのうちの少なくとも 1 つを含むタンパク質を提供する。「タンパク質」とは、1 本以上のポリペプチド鎖を含む分子を意味する。一態様においては、本発明のタンパク質は以下の第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖を含み得る：（1）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 ～ 4 の全てのアミノ酸配列を含む、（2）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 5 ～ 7 の全てのアミノ酸配列を含む、（3）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 ～ 4 の全てのアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 5 ～ 7 の全てのアミノ酸配列を含む、（4）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 1 7 ～ 1 9 の全てのアミノ酸配列を含む、（5）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 0 ～ 2 2 の全てのアミノ酸配列を含む、（6）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 1 7 ～ 1 9 の全てのアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 0 ～ 2 2 の全てのアミノ酸配列を含む、（7）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 2 ～ 3 4 の全てのアミノ酸配列を含む、（8）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 5 ～ 3 7 の全てのアミノ酸配列を含む、（9）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 2 ～ 3 4 の全てのアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 5 ～ 3 7 の全てのアミノ酸配列を含む、（10）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 4 7 ～ 4 9 の全てのアミノ酸配列を含み、（11）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 5 0 ～ 5 2 の全てのアミノ酸配列を含む、（12）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 4 7 ～ 4 9 の全てのアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 5 0 ～ 5 2 の全てのアミノ酸配列を含む、（13）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 6 2 ～ 6 4 の全てのアミノ酸配列を含み、（14）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 6 5 ～ 6 7 の全てのアミノ酸配列を含む、又は（15）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 6 2 ～ 6 4 の全てのアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 6 5 ～ 6 7 の全てのアミノ酸配列を含む。

【0054】

本発明の一態様においては、タンパク質は以下の第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖を含む：（1）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む、（2）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、（3）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 8 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む、（4）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含み、（5）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む、（6）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む、（7）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含む、（8）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む、（9）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 3 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含む、（10）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含む、（11）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む、（12）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含む、（13）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含む、（14）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む、（15）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 3 9 のアミノ酸配列を含む、（16）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み、（17）第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む、（18）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 4 1 のアミノ酸配列を含む、（19）第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含み、（20）第 2 のポリペ

チド鎖は、配列番号 54 のアミノ酸配列を含む、(21) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 53 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 54 のアミノ酸配列を含む、(22) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む、(23) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 56 のアミノ酸配列を含む、(24) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 56 のアミノ酸配列を含む、(25) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 68 のアミノ酸配列を含む、(26) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 69 のアミノ酸配列を含む、(27) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 68 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 69 のアミノ酸配列を含む、(28) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 70 のアミノ酸配列を含む、(29) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む、又は (30) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 70 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含む。

10

#### 【0055】

本発明の一態様においては、タンパク質は、以下の第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖を含む：(1) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 12 のアミノ酸配列を含む、(2) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む、(3) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 12 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 13 のアミノ酸配列を含む、(4) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 14 のアミノ酸配列を含む、(5) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む、(6) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 14 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含む、(7) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 27 のアミノ酸配列を含む、(8) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む、(9) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 27 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 28 のアミノ酸配列を含む、(10) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含む、(11) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む、(12) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含む、(13) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 42 のアミノ酸配列を含む、(14) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 43 のアミノ酸配列を含む、(15) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 42 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 43 のアミノ酸配列を含む、(16) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 44 のアミノ酸配列を含む、(17) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む、(18) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 44 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 45 のアミノ酸配列を含む、(19) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 57 のアミノ酸配列を含む、(20) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 58 のアミノ酸配列を含む、(21) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 57 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 58 のアミノ酸配列を含む、(22) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含む、(23) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 60 のアミノ酸配列を含む、(24) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 60 のアミノ酸配列を含む、(25) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含む、(26) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 73 のアミノ酸配列を含む、(27) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 72 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 73 のアミノ酸配列を含む、(28) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 74 のアミノ酸配列を含む、(29) 第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 75 のアミノ酸配列を含む、又は (30) 第 1 のポリペプチド鎖は、配列番号 74 のアミノ酸配列を含み、第 2 のポリペプチド鎖は、配列番号 75 のアミノ酸配列を含む。

20

30

40

#### 【0056】

本発明のタンパク質は、TCR であってよい。或いは、該タンパク質の第 1 の及び／又は第 2 のポリペプチド鎖（複数可）が、他のアミノ酸配列、例えば免疫グロブリン又はその一部分をコードしているアミノ酸配列を更に含む場合、本発明のタンパク質は、融合タ

50

ンパク質であってもよい。これに関して、本発明の一態様は、また、少なくとも1の他のポリペプチドと共に、本明細書に記載の本発明のポリペプチドのうちの少なくとも1つを含む融合タンパク質を提供する。他のポリペプチドは、融合タンパク質の別々のタンパク質として存在してもよく、又は本明細書に記載の本発明のポリペプチドのうちの1つとインフレームで（タンデムに）発現するポリペプチドとして存在してもよい。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等が挙げられるがこれらに限定されない、任意のペプチド性若しくはタンパク質性の分子、又はこれらの一部分をコードしてよい。

【0057】

融合タンパク質は、1コピー以上の本発明のポリペプチド及び／又は1コピー以上の他のポリペプチドを含み得る。例えば、融合タンパク質は、1、2、3、4、5、又はそれ以上のコピーの本発明のポリペプチド及び／又は他のポリペプチドを含み得る。融合タンパク質を作製する好適な方法は、当技術分野において公知であり、例えば、組み換え法が挙げられる。

【0058】

本発明の幾つかの態様においては、本発明のTCR、ポリペプチド、及びタンパク質は、 $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 鎖を連結するリンカーペプチドを含む単一のタンパク質として発現し得る。これに関して、本発明のTCR、ポリペプチド、及びタンパク質は、リンカーペプチドを更に含み得る。リンカーペプチドは、有利には、宿主細胞における組み換え体のTCR、ポリペプチド、及び／又はタンパク質の発現を促進し得る。リンカーペプチドは、任意の好適なアミノ酸配列を含み得る。例えば、リンカーペプチドは、RAKRS GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP（配列番号80）のアミノ酸配列を含み得る。リンカーペプチドを含むコンストラクトが宿主細胞によって発現されたら、リンカーペプチドを切断してもよく、その結果、分離された $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 鎖が得られる。本発明の一態様においては、TCR、ポリペプチド、又はタンパク質は、全長 $\alpha$ 鎖、全長 $\beta$ 鎖、及び $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖との間に位置するリンカーペプチドを含むアミノ酸配列を含み得る。

【0059】

幾つかの態様においては、本明細書に開示されるTCR、ポリペプチド又はタンパク質は、シグナルペプチドを含む、本明細書に開示される通りの $\alpha$ 鎖及び／又は $\beta$ 鎖を含む。幾つかの態様においては、本明細書に開示される $\alpha$ 鎖及び／又は $\beta$ 鎖のいずれかのシグナルペプチドの配列は、2位の野生型残基と置換されたロイシン、リジン、アラニン又はヒスチジン残基を含む。

【0060】

幾つかの態様においては、本明細書に開示されるTCR、ポリペプチド又はタンパク質は、シグナルペプチドを欠く、本明細書に開示される通りの $\alpha$ 鎖及び／又は $\beta$ 鎖の成熟型を含む。

【0061】

本発明のタンパク質は、本明細書に記載の本発明のポリペプチドのうちの少なくとも1つを含む、組み換え抗体又はその抗原結合部分であってよい。本明細書で用いるとき、「組み換え抗体」とは、本発明のポリペプチドのうちの少なくとも1つ、及び抗体のポリペプチド鎖又はその抗原結合部分を含む組み換え（例えば、遺伝的に操作された）タンパク質を指す。抗体のポリペプチド又はその抗原結合部分は、抗体の重鎖、軽鎖、重鎖若しくは軽鎖の可変領域若しくは定常領域、単鎖可変領域（scFv）、又はFc、Fab、若しくはF(ab)<sub>2</sub>'の断片であってよい。抗体のポリペプチド鎖又はその抗原結合部分は、組み換え抗体の別々のポリペプチドとして存在してよい。或いは、抗体のポリペプチド鎖又はその抗原結合部分は、本発明のポリペプチドとインフレームで（タンデムに）発現するポリペプチドとして存在してもよい。抗体のポリペプチド又はその抗原結合部分は、本明細書に記載の抗体及び抗体断片のいずれかを含む、任意の抗体又は任意の抗体断片のポリペプチドであってよい。

【0062】

10

20

30

40

50

本発明のTCR、ポリペプチド、及びタンパク質は、その生物活性、例えば、変異p53に特異的に結合する能力、哺乳動物におけるがんを検出する能力、又は哺乳動物におけるがんを治療若しくは予防する能力等を保持している限り、任意の長さであってよい、即ち、任意の数のアミノ酸を含み得る。例えば、ポリペプチドは、約50～約5000アミノ酸長の範囲、例えば、50、70、75、100、125、150、175、200、300、400、500、600、700、800、900、1000又はそれ以上のアミノ酸長であってよい。これに関して、本発明のポリペプチドは、オリゴペプチドも含む。

#### 【0063】

本発明の本発明のTCR、ポリペプチド、及びタンパク質は、1以上の天然に存在するアミノ酸の代わりに合成アミノ酸を含んでいてもよい。このような合成アミノ酸は、当技術分野において公知であり、例えば、アミノシクロヘキサンカルボン酸、ノルロイシン、 $\alpha$ -アミノn-デカン酸、ホモセリン、S-アセチルアミノメチル-システイン、トランス-3-及びトランス-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、 $\beta$ -フェニルセリン $\beta$ -ヒドロキシフェニルアラニン、フェニルグリシン、 $\alpha$ -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-リシン、N', N'-ジベンジル-リシン、6-ヒドロキシリシン、オルニチン、 $\alpha$ -アミノシクロペンタンカルボン酸、 $\alpha$ -アミノシクロヘキサンカルボン酸、 $\alpha$ -アミノシクロヘプタンカルボン酸、 $\alpha$ -(2-アミノ-2-ノルボルナン)-カルボン酸、 $\alpha$ ,  $\gamma$ -ジアミノ酪酸、 $\alpha$ ,  $\beta$ -ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニン、及び $\alpha$ -tert-ブチルグリシンが挙げられる。

#### 【0064】

本発明のTCR、ポリペプチド、及びタンパク質を、グリコシル化、アミド化、カルボキシル化、リン酸化、エステル化、N-アシル化、例えばジスルフィド架橋を介して環化、又は酸付加塩に変換、及び／又は任意で二量体化若しくは多量体化、又はコンジュゲートしてもよい。

#### 【0065】

本発明のTCR、ポリペプチド、及び／又はタンパク質は、当技術分野において公知の方法、例えば、デノボ合成によって得ることができる。また、ポリペプチド及びタンパク質は、標準的な組み換え法を使用し、本明細書に記載の核酸を用いて組み換え的に生成することができる。例えば、Green and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4<sup>th</sup> ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY (2012)を参照。或いは、さまざまな営利団体が、本明細書に記載のTCR、ポリペプチド、及び／又はタンパク質を商業的に合成することもできる。これに関して、本発明のTCR、ポリペプチド、及びタンパク質は、合成であってもよく、組み換え体であってもよく、単離されていてもよく、及び／又は精製されていてもよい。

#### 【0066】

本発明の一態様は、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しているヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。「核酸」は、本明細書で用いるとき、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、及び「核酸分子」を含み、一般的に、DNA又はRNAのポリマーを意味し、これらは、一本鎖であっても二本鎖であってもよく、天然の、非天然の、又は改変されたヌクレオチドを含有していてもよく、そして、改変されていない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の代わりに、天然の、非天然の、又は改変されたヌクレオチド間結合、例えば、ホスホロアミデート結合又はホスホロチオエート結合を含有していてもよい。一態様においては、核酸は、相補的DNA(cDNA)を含む。核酸は、任意の挿入、欠失、逆位、及び

／又は置換を含まないことが一般に好ましい。しかし、幾つかの例では、本明細書で論じた通り、核酸が1以上の挿入、欠失、逆位、及び／又は置換を含むことが好適である場合もある。

【0067】

本発明の態様は、5'から3'に向かって、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された核酸であって、該第1及び第2の核酸配列が、それぞれ、配列番号8及び9；9及び8；10及び11；11及び10；12及び13；13及び12；14及び15；15及び14；23及び24；24及び23；25及び26；26及び25；27及び28；28及び27；29及び30；30及び29；38及び39；39及び38；40及び41；41及び40；42及び43；43及び42；44及び45；45及び44；53及び54；54及び53；55及び56；56及び55；57及び58；58及び57；59及び60；60及び59；68及び69；69及び68；70及び71；71及び70；72及び73；73及び72；74及び75；又は75及び74のアミノ酸配列をコードする、核酸を提供する。

10

【0068】

本発明の一態様においては、核酸は、第1及び第2のヌクレオチド配列の間に介在する第3のヌクレオチド配列を更に含み、該第3のヌクレオチド配列は、切断可能なリンカーペプチドをコードする。例えば、切断可能なリンカーペプチドは、配列 R A K R S 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80）のアミノ酸配列を含み得る。本発明の一態様においては、核酸は、配列番号16、31、46、61、及び76からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードする。

20

【0069】

好ましくは、本発明の核酸は、組み換え体である。本明細書で用いるとき、用語「組み換え体」とは、(i)天然若しくは合成の核酸セグメントを生細胞で複製可能な核酸分子に連結させることによって生細胞の外部で構築される分子、又は(ii)上記(i)に記載されているものの複製によって得られる分子を指す。本明細書における目的のために、複製は、インビトロ複製であってもインビボ複製であってもよい。

【0070】

核酸は、当技術分野において公知の手順を用いて、化学合成及び／又は酵素ライゲーション反応に基づいて構築され得る。例えば、Green及びSambrookら、前記を参照。例えば、核酸は、天然に存在するヌクレオチド、又は分子の生物学的安定性を増大させるか若しくはハイブリダイゼーションの際に形成される二本鎖の物理的安定性を増大させるために設計された様々に修飾されたヌクレオチド（例えば、ホスホロチオエート誘導体及びアクリジン置換ヌクレオチド）を用いて、化学的に合成することができる。核酸を作製するために用いることができる修飾ヌクレオチドの例としては、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エオシン、イノシン、N<sup>6</sup>-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、N<sup>6</sup>-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-マンノシルキューエオシン、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-N<sup>6</sup>-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸(v)、ワイプトキソシン、プソイドウラシル、キューエオシン、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、及び2,6-ジアミノプリンが挙げられるが、これらに限定されない。或いは、本発明の核酸のうちの1以上は、さまざまな営利団体によって合成されうる。

30

40

50

## 【0071】

本発明の一態様においては、核酸は、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している、コドン最適化されたヌクレオチド配列を含む。特定の理論又は機序に縛られるものではないが、ヌクレオチド配列のコドン最適化は、mRNA転写物の翻訳効率を増大させると考えられる。ヌクレオチド配列のコドン最適化は、ネイティブなコドンを、同じアミノ酸をコードしているが細胞内でより容易に利用可能なtRNAによって翻訳され得る別のコドンで置換し、それによって、翻訳効率を増大させることを伴い得る。また、ヌクレオチド配列の最適化は、翻訳に干渉するmRNAの二次構造を低減し、それによって、翻訳効率を増大させることもできる。

## 【0072】

また、本発明の一態様は、本明細書に記載の核酸のいずれかのヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列、又は本明細書に記載の核酸のいずれかのヌクレオチド配列にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。

## 【0073】

ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列は、好ましくは、高ストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする。「高ストリンジェンシー条件」とは、ヌクレオチド配列が、非特異的ハイブリダイゼーションよりも検出可能に多い量で、標的配列（本明細書に記載の核酸のいずれかのヌクレオチド配列）に特異的にハイブリダイズすることを意味する。高ストリンジェンシー条件は、正確な相補的配列を有するポリヌクレオチド又は幾つかの散在している不一致しか含有していないものを、該ヌクレオチド配列に一致している幾つかの小さな領域（例えば、3～10塩基）を偶然有するランダム配列と識別する条件を含む。このような相補的な小さな領域は、14～17又はそれ以上の塩基の全長相補体よりも容易に融解するので、高ストリンジェンシーハイブリダイゼーションによって容易に識別可能になる。比較的高ストリンジェンシー条件は、例えば、約0.02～0.1M NaCl又は等価物、約50～70℃の温度によって提供されるもの等の低塩及び／又は高温条件を含む。このような高ストリンジェンシー条件は、ヌクレオチド配列とテンプレート又は標的鎖との間の（もし存在するとしても）わずかな不一致しか許容せず、本発明のTCRのいずれかの発現を検出するのに特に好適である。一般的に、漸増量のホルムアミドを添加することによって、条件をよりストリンジェントにすることができると理解される。

## 【0074】

また、本発明の一態様は、本明細書に記載の核酸のいずれかと少なくとも約70%以上、例えば、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、又は約99%同一であるヌクレオチド配列を含む核酸を提供する。これに関して、核酸は、本明細書に記載のヌクレオチド配列のいずれかから本質的になってよい。

## 【0075】

本発明の核酸は、組み換え発現ベクターに組み込むことができる。これに関して、本発明の一態様は、本発明の核酸のいずれかを含む組み換え発現ベクターを提供する。本発明の一態様においては、組み換え発現ベクターは、 $\alpha$ 鎖、 $\beta$ 鎖、及びリンカーペプチドをコードしているヌクレオチド配列を含む。

## 【0076】

本明細書における目的のために、用語「組み換え発現ベクター」は、コンストラクトがmRNA、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドをコードしているヌクレオチド配列を含み、宿主細胞内で該mRNA、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドを発現させるのに十分な条件下でベクターを該細胞と接触させたときに、該細胞に該mRNA、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドを発現させる、遺伝的に改変されたオリゴヌクレオチド又はポリヌクレオチドのコンストラクトを意味する。本発明のベクターは、全体としては天然に存在しない。しかし、ベクターの一部が天然に存在していてもよい。本発明の

10

20

30

40

50

組み換え発現ベクターは、DNA及びRNAが挙げられる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いてよく、該DNA及びRNAは、一本鎖であっても二本鎖であってもよく、合成されても天然源から部分的に入手されてもよく、天然の、非天然の、又は改変されたヌクレオチドを含有していてもよい。組み換え発現ベクターは、天然に存在するヌクレオチド間結合、天然には存在しないヌクレオチド間結合、又は両方の種類の結合を含んでいてよい。好ましくは、天然には存在しないか又は改変されたヌクレオチド又はヌクレオチド間結合は、ベクターの転写も複製も妨げない。

#### 【0077】

本発明の組み換え発現ベクターは、任意の好適な組み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又はトランスフェクションするために用いることができる。好適なベクターとしては、プラスミド及びウイルス等、伝播及び増殖用、若しくは発現用、又は両方のために設計されたものが挙げられる。ベクターは、トランスポゾン／トランスポゼースシリーズ、pUCシリーズ (Fermentas Life Sciences)、pBluescriptシリーズ (Stratagene, La Jolla, CA)、pETシリーズ (Novagen, Madison, WI)、pGEXシリーズ (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)、及びpEXシリーズ (Clontech, Palo Alto, CA) からなる群から選択され得る。λGT10、λGT11、λZapII (Stratagene)、λEMBL4、及びλNM1149等のバクテリオファージベクターを用いてもよい。植物発現ベクターの例としては、pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121、及びpBIN19 (Clontech) が挙げられる。動物発現ベクターの例としては、pEUK-Cl、pMAM、及びpMAMneo (Clontech) が挙げられる。好ましくは、組み換え発現ベクターは、トランスポゾンベクター又はウイルスベクター、例えば、レンチウイルスベクター又はレトロウイルスベクターである。

#### 【0078】

本発明の組み換え発現ベクターは、例えば、Green及びSambrookら、前記に記載されている標準的な組み換えDNA技術を用いて調製することができる。円形又は線形である発現ベクターのコンストラクトは、原核又は真核の宿主細胞において機能する複製系を含有するように調製することができる。複製系は、例えば、ColEI、2µプラスミド、λ、SV40、ウシパピローマウイルス等に由来してよい。

#### 【0079】

望ましくは、組み換え発現ベクターは、制御配列、例えば、必要に応じて、そして、ベクターがDNAベースであるかRNAベースであるかを考慮して、ベクターが導入される宿主細胞の種類 (例えば、細菌、真菌、植物、又は動物) に特異的な転写及び翻訳の開始及び終止のコドンを含む。

#### 【0080】

組み換え発現ベクターは、形質転換又はトランスフェクションされた宿主細胞の選別を可能にする1以上のマーカー遺伝子を含んでいてよい。マーカー遺伝子は、殺生物剤耐性、例えば、抗生物質、重金属等に対する耐性、原栄養性を与えるための栄養要求性宿主における補完等を含む。本発明の発現ベクターに好適なマーカー遺伝子は、例えば、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、及びアンピシリン耐性遺伝子を含む。

#### 【0081】

組み換え発現ベクターは、TCR、ポリペプチド、若しくはタンパク質をコードしているヌクレオチド配列に、又はTCR、ポリペプチド、若しくはタンパク質をコードしているヌクレオチド配列に相補的であるか若しくはハイブリダイズするヌクレオチド配列に作動可能に連結しているネイティブ又は非ネイティブのプロモータを含んでいてよい。例えば、強い、弱い、誘導性、組織特異的、及び発生段階特異的なプロモータの選択は、当業者の技能の範囲内である。同様に、ヌクレオチド配列とプロモータとの組み合わせも当業者の技能の範囲内である。プロモータは、非ウイルスプロモータ、例えば、ヒト伸長因子

ー 1  $\alpha$  プロモータであってもよく、ウイルスプロモータ、例えば、サイトメガロウイルス (CMV) プロモータ、SV40 プロモータ、RSV プロモータ、及びマウス幹細胞ウイルスの末端反復配列にみられるプロモータであってもよい。

【0082】

本発明の組み換え発現ベクターは、一過的発現用、安定的発現用、又は両方のために設計することができる。また、組み換え発現ベクターは、構成的発現用又は誘導性発現用に作製することができる。

【0083】

更に、組み換え発現ベクターは、自殺遺伝子を含むように作製してもよい。本明細書で用いるとき、用語「自殺遺伝子」とは、自殺遺伝子を発現している細胞を死に至らしめる遺伝子を指す。自殺遺伝子は、該遺伝子が発現する細胞に対して剤、例えば薬物に対する感受性を付与し、そして、該細胞が該剤と接触したとき又は該剤に曝露されたときに該細胞を死に至らしめる遺伝子であってよい。自殺遺伝子は、当技術分野において公知であり、例えば、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、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ、及びニトロレダクターゼを含む。

【0084】

本発明の別の態様は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載する核酸又はベクターのいずれかによってコードされる単離又は精製された TCR、ポリペプチド、又はタンパク質を提供する。

【0085】

本発明の更に別の態様は、本発明の他の態様に関して本明細書に記載する核酸又はベクターのいずれかが発現した結果得られる、単離又は精製された TCR、ポリペプチド、又はタンパク質を提供する。

【0086】

本発明の別の態様は、更に、本明細書に記載の核酸のいずれか又は組み換え発現ベクターのいずれかを含む宿主細胞を提供する。本明細書で用いるとき、用語「宿主細胞」とは、本発明の組み換え発現ベクターを含有し得る任意の種類の細胞を指す。宿主細胞は、真核細胞、例えば、植物、動物、真菌、又は藻類であってもよく、原核細胞、例えば、細菌又は原生動物であってもよい。宿主細胞は、培養細胞又は初代細胞、即ち、生物、例えばヒトから直接単離された細胞であってよい。宿主細胞は、接着細胞又は懸濁細胞、即ち、懸濁液中で成長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公知であり、例えば、DH5 $\alpha$  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、HEK293細胞等が挙げられる。組み換え発現ベクターを増幅又は複製する目的の場合、宿主細胞は、好ましくは、原核細胞、例えばDH5 $\alpha$ 細胞である。組み換え体のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質を生成する目的の場合、宿主細胞は、好ましくは、哺乳動物細胞である。最も好ましくは、宿主細胞は、ヒト細胞である。例えば、宿主細胞は、ヒトリンパ球であってよい。本発明の一態様においては、宿主細胞は、T細胞、ナチュラルキラーT (NKT) 細胞、インバリアントナチュラルキラーT (iNKT) 細胞、及びナチュラルキラー (NK) 細胞からなる群から選択される。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、好ましくは、末梢血リンパ球 (PBL) 又は末梢血単核細胞 (PBMC) である。より好ましくは、宿主細胞は、T細胞である。

【0087】

本明細書における目的のために、T細胞は、任意のT細胞、例えば、培養T細胞、例えば初代T細胞、又は培養T細胞株由来のT細胞、例えばJurkat、SupT1等、又は哺乳動物から得られた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、又は他の組織若しくは流体を含むがこれらに限定されない多数の供給源から得ることができる。また、T細胞は、濃縮又は精製されていてもよい。好ましくは、T細胞は、ヒトT細胞である。T細胞は、任意の種類のT細胞であってよく、任意の発生段階であってよく、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>二重陽性T細胞、CD4<sup>+</sup>ヘルパーT

10

20

30

40

50

細胞、例えば、 $T_h1$  及び  $T_h2$  細胞、 $CD4^+$  T 細胞、 $CD8^+$  T 細胞（例えば、細胞傷害性 T 細胞）、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、メモリー T 細胞（例えば、セントラルメモリー T 細胞及びエフェクタメモリー T 細胞）、ナイーブ T 細胞等が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0088】

また、本明細書に記載の少なくとも 1 の宿主細胞を含む細胞の集団が本発明の一態様によって提供される。細胞の集団は、組み換え発現ベクターのいずれも含まない少なくとも 1 の他の細胞、例えば宿主細胞（例えば、T 細胞）、又は T 細胞以外の細胞、例えば 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、脳細胞等に加えて、記載される組み換え発現ベクターのいずれかを含む宿主細胞を含む不均質な集団であってよい。或いは、細胞の集団は、組み換え発現ベクターを含む（例えば、から本質的になる）宿主細胞を主に含む、実質的に均質な集団であってもよい。また、集団は、該集団の全ての細胞が、組み換え発現ベクターを含む 1 の宿主細胞のクローンであり、その結果、該集団の全ての細胞が組み換え発現ベクターを含む、細胞のクローン集団であってもよい。本発明の一態様においては、細胞の集団は、本明細書に記載の組み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。

#### 【0089】

本発明の一態様においては、集団内の細胞数を、急速に増幅させることができる。T 細胞数の増幅は、例えば、米国特許第 8,034,334 号、同第 8,383,099 号、米国特許出願公開第 2012/0244133 号、Dudley et al., J. Immunother., 26:332-42 (2003)、及び Riddell et al., J. Immunol. Methods, 128:189-201 (1990) に記載されている通り、当技術分野において公知の多数の方法のいずれかによって実現することができる。一態様においては、T 細胞数の増幅は、該 T 細胞を OKT3 抗体、IL-2、及びフィーダー PBMC（例えば、放射線照射された同種 PBMC）と共に培養することによって実行される。

#### 【0090】

本発明の態様は、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生成する方法であって、該 TCR、ポリペプチド、又はタンパク質が生成されるように、本明細書に記載の宿主細胞又は宿主細胞の集団のいずれかを培養することを含む方法を提供する。

#### 【0091】

本発明の TCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、及び宿主細胞（その集団を含む）は、単離及び／又は精製されてもよい。用語「単離された」は、本明細書で用いるとき、その天然環境から取り出されていることを意味する。用語「精製された」は、本明細書で用いるとき、純度が増大したことを意味し、「純度」は相対的な用語であり、必ずしも絶対純度と解釈される訳ではない。例えば、純度は、少なくとも約 50%、少なくとも約 60%、少なくとも約 70%、少なくとも約 80%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95% であってもよく、約 100% であってもよい。

#### 【0092】

本発明の TCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、及び宿主細胞（その集団を含む）（以後、これらの全てをまとめて「本発明の TCR 材料」と称する）は、医薬組成物等の組成物に製剤化してもよい。これに関して、本発明の一態様は、本明細書に記載の TCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、発現ベクター、及び宿主細胞（その集団を含む）のいずれかと、薬学的に許容し得る担体とを含む医薬組成物を提供する。本発明の TCR 材料のいずれかを含有する本発明の医薬組成物は、1 つを超える本発明の TCR 材料、例えばポリペプチド及び核酸、又は 2 つ以上の異なる TCR を含んでもよい。或いは、医薬組成物は、別の薬学的活性剤（複数可）又は薬物（複数可）、例えば、アスパラギナーゼ、ブスルファン、カルボプラチン、シスプラチン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシウレア、メトトレ

キサート、パクリタキセル、リツキシマブ、ビンブラスチン、ピンクリスチン等の化学療法剤と組み合わせて、本発明のTCR材料を含んでいてもよい。

【0093】

好ましくは、担体は、薬学的に許容し得る担体である。医薬組成物に関して、担体は、検討中の具体的な本発明のTCR材料に従来使用されているもののいずれかであってよい。投与可能な組成物を調製する方法は、当業者に公知であるか又は明らかであり、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22<sup>nd</sup> Ed., Pharmaceutical Press (2012)により詳細に記載されている。薬学的に許容し得る担体は、使用条件下で有害な副作用も毒性も有しないものであることが好ましい。

10

【0094】

担体の選択は、具体的な本発明のTCR材料によって、並びに本発明のTCR材料を投与するために使用される具体的な方法によって部分的に決定される。従って、本発明の医薬組成物の様々な好適な製剤が存在する。好適な製剤は、非経口、皮下、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、腫瘍内、又は腹腔内に投与するためのもののいずれかを含み得る。1つを超える経路を用いて本発明のTCR材料を投与してよく、特定の例では、特定の経路が別の経路よりも即時且つより有効な応答を提供し得る。

【0095】

好ましくは、本発明のTCR材料は、例えば静脈内に注射することによって投与される。本発明のTCR材料が、本発明のTCRを発現している宿主細胞であるとき、注射用の細胞のための薬学的に許容し得る担体としては、任意の等張担体、例えば、通常生理食塩水（水中約0.90%w/v NaCl、水中約300mOsm/L NaCl、又は水1リットルあたり約9.0g NaCl）、NORMOSOL R電解質溶液（Abbott, Chicago, IL）、PLASMA-LYTE A（Baxter, Deerfield, IL）、水中約5%デキストロース、又は乳酸リンゲル液を挙げることができる。一態様においては、薬学的に許容し得る担体にヒト血清アルブミンを補給する。

20

【0096】

投与される本発明のTCR材料の量又は用量（例えば、本発明のTCR材料が1以上の細胞である場合は細胞数）は、好適な時間枠にわたって被験体又は動物において効果、例えば治療的又は予防的応答をもたらすのに十分でなければならない。例えば、本発明のTCR材料の用量は、投与時点から約2時間以上、例えば、12～24時間又はそれ以上の期間、がん抗原（例えば、変異p53）に結合するか又はがんを検出、治療、若しくは予防するのに十分でなければならない。特定の態様においては、期間は更に長くてもよい。用量は、具体的な本発明のTCR材料の有効性及び動物（例えば、ヒト）の状態、並びに治療される動物（例えば、ヒト）の体重によって決定される。

30

【0097】

投与される用量を決定するための多くのアッセイが、当技術分野において公知である。例えば、それぞれ異なる用量のT細胞を与えた哺乳動物のセット間で、所与の用量の本発明のTCR、ポリペプチド、又はタンパク質を発現しているT細胞を哺乳動物に投与した際に標的細胞が溶解するか又はこのようなT細胞によってIFN- $\gamma$ が分泌される程度を比較することを含むアッセイを用いて、哺乳動物に投与する開始用量を決定することができる。特定の用量を投与した際に標的細胞が溶解する又はIFN- $\gamma$ が分泌される程度は、当技術分野において公知の方法によってアッセイすることができる。

40

【0098】

本発明のTCR材料の用量は、具体的な本発明のTCR材料の投与に付随する可能性のある任意の有害な副作用の存在、性質、及び程度によっても決定される。典型的には、主治医が、様々な要因、例えば、年齢、体重、全体的な健康状態、食生活、性別、投与される本発明のTCR材料、投与経路、及び治療されるがんの重篤度を考慮して、各個々の患者を治療するための本発明のTCR材料の投与量を決定する。本発明のTCR材料が細胞の集団である一態様においては、注入1回あたりに投与される細胞数は、例えば、約1×

50

$10^6 \sim 1 \times 10^{12}$  細胞又はそれ以上で変動し得る。特定の態様においては、 $1 \times 10^6$  細胞未満を投与してもよい。

【0099】

当業者は、本発明の TCR 材料を任意の数の方法で修飾してよく、その結果、該修飾を通して本発明の TCR 材料の治療又は予防の有効性が増大することを容易に理解するであろう。例えば、本発明の TCR 材料を、直接又は架橋を介して間接的に化学療法剤にコンジュゲートしてもよい。化合物の化学療法剤へのコンジュゲートの実施は、当技術分野において公知である。当業者は、架橋及び／又は化学療法剤が本発明の TCR 材料に結合した時点で本発明の TCR 材料の機能、即ち、変異 p53 に結合するか又はがんを検出、治療、若しくは予防する能力には干渉しない限り、本発明の TCR 材料の機能に必須ではない本発明の TCR 材料の部位が、架橋及び／又は化学療法剤を結合させるのに理想的な部位であることを認識する。

10

【0100】

本発明の医薬組成物、TCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、宿主細胞、又は細胞の集団は、がんを治療又は予防する方法において使用できることが企図される。特定の理論に縛られるものではないが、本発明の TCR は変異 p53 に特異的に結合し、その結果、TCR（又は関連する本発明のポリペプチド若しくはタンパク質）は、細胞によって発現されたとき、変異 p53 を発現している標的細胞に対する免疫応答を媒介することができると考えられる。これに関して、本発明の一態様は、哺乳動物におけるがんを治療又は予防する方法であって、本明細書に記載の医薬組成物、TCR、ポリペプチド、若しく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、タンパク質のいずれかをコードしているヌクレオチド配列を含む任意の核酸若しくは組み換え発現ベクター、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している組み換えベクターを含む任意の宿主細胞若しくは細胞の集団を、哺乳動物におけるがんを治療又は予防するのに有効な量、該哺乳動物に投与することを含む方法を提供する。

20

【0101】

本発明の一様態は、哺乳動物におけるがんの治療又は予防において用いるための、本明細書に記載の医薬組成物、TCR、ポリペプチド、若しく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、タンパク質のいずれかをコードしているヌクレオチド配列を含む任意の核酸若しくは組み換え発現ベクター、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している組み換えベクターを含む任意の宿主細胞若しくは細胞の集団を提供する。

30

【0102】

用語「治療する」及び「予防する」、並びにそれから派生する語は、本明細書で用いるとき、必ずしも 100%、即ち、完全な治療又は予防を意味するものではない。どちらかといえば、当業者が潜在的な利点又は治療効果を有すると認識する、様々な程度の治療又は予防が存在する。これに関して、本発明の方法は、哺乳動物における任意の量の任意のレベルのがんの治療又は予防を提供することができる。更に、本発明の方法によって提供される治療又は予防は、治療又は予防されるがんの 1 以上の病態又は症状の治療又は予防を含み得る。例えば、治療又は予防は、腫瘍の退縮を促進することを含み得る。また、本明細書における目的のために、「予防」は、がん又はその症状若しくは病態の発生を遅らせることを包含し得る。或いは又は更に、「予防」は、がん又はその症状若しくは病態の再発を防ぐ又は遅らせることを包含し得る。

40

【0103】

本発明の医薬組成物、TCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、宿主細胞、又は細胞の集団はまた、哺乳動物におけるがんに対する免疫応答を誘導する方法において使用できることが企図される。これに関して、本発明の態様は、哺乳動物におけるがん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、若しくはタンパク質のいずれか、本明細書に記載の TCR、ポリ

50

ペプチド、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任意の核酸若しくは組み換え発現ベクター、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み換えベクターを含む任意の宿主細胞若しくは細胞の集団を、該哺乳動物におけるがんに対する免疫応答を誘導するのに有効な量、該哺乳動物に投与することを含む方法を提供する。

【0104】

本発明の態様は、哺乳動物におけるがんに対する免疫応答の誘導における使用のための、本明細書に記載の医薬組成物、TCR、ポリペプチド、若しく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、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任意の核酸若しくは組み換え発現ベクター、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み換えベクターを含む任意の宿主細胞若しくは細胞の集団を提供する。

10

【0105】

また、哺乳動物におけるがんの存在を検出する方法も本発明の一態様によって提供される。該方法は、(i) 本明細書に記載の本発明のTCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、宿主細胞、細胞の集団、又は医薬組成物のいずれかを、哺乳動物由来の1以上の細胞を含む試料と接触させ、それによって、複合体を形成させることと、(ii) 該複合体を検出することを含み、該複合体の検出が、該哺乳動物におけるがんの存在を示す。

【0106】

哺乳動物におけるがんを検出する本発明の方法に関して、細胞の試料は、全細胞、その溶解物、又は全細胞溶解物の画分、例えば、核若しくは細胞質の画分、全タンパク質画分、又は核酸画分を含む試料であってよい。

20

【0107】

本発明の検出方法の目的のために、接触は、哺乳動物に対してインビトロ又はインビボで行ってよい。好ましくは、インビトロで接触させる。

【0108】

また、複合体の検出は、当技術分野において公知の任意の数の方法を通して行うことができる。例えば、本明細書に記載の本発明のTCR、ポリペプチド、タンパク質、核酸、組み換え発現ベクター、宿主細胞、又は細胞の集団を、検出可能な標識、例えば、放射性同位体、フルオロフォア（例えば、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（例えば、アルカリホスファターゼ、セイヨウワサビペルオキシダーゼ）、及び元素粒子（例えば、金粒子）等で標識してよい。

30

【0109】

宿主細胞又は細胞の集団が投与される本発明の方法の目的のために、細胞は、哺乳動物にとって同種又は自己である細胞であってよい。好ましくは、細胞は、哺乳動物にとって自己である。

【0110】

本発明の方法に関して、がんは、例えば、急性リンパ球性がん、急性骨髄性白血病、胞巣状横紋筋肉腫、骨がん、脳がん、乳がん、肛門、肛門管、又は肛門直腸のがん、眼のがん、肝内胆管のがん、関節のがん、頸部、胆嚢、又は胸膜のがん、鼻、鼻腔、又は中耳のがん、口腔のがん、膣のがん、外陰部のがん、慢性リンパ性白血病、慢性骨髄性がん、結腸がん、結腸直腸がん、子宮内膜がん、食道がん、子宮頸がん、消化管カルチノイド腫瘍、神経膠腫、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、腎臓がん、喉頭がん、肝臓がん、肺がん、悪性中皮腫、黒色腫、多発性骨髄腫、上咽頭がん、非ホジキンリンパ腫、中咽頭のがん、卵巣がん、陰茎のがん、膵臓がん、腹膜、網、及び腸間膜のがん、咽頭がん、前立腺がん、直腸がん、腎がん、皮膚がん、小腸がん、軟組織がん、胃がん、精巣がん、甲状腺がん、子宮のがん、尿管がん、並びに膀胱がんのいずれかをを含む任意のがんであってよい。好ましい一態様においては、がんは、変異p53を発現するがんである。がんは、配列番号1により定義される135位、175位、及び237位のうちの1以上に変異を有するp

40

50

53を発現し得る。がんは、以下のヒトp53変異のうちの1以上を有するp53を発現し得る：C135Y、R175H、又はM237I。本発明の一態様においては、がんは、上皮がんである。本発明の一態様においては、がんは、胆管がん、黒色腫、結腸がん、直腸がん、卵巣がん、子宮内膜がん、非小細胞肺癌（NSCLC）、神経膠芽腫、子宮頸がん、頭頸部がん、乳がん、膵臓がん、又は膀胱がんである。がんは、ヒトp53におけるC135Y、R175H、又はM237Iの変異を含むことが知られている場合がある。

#### 【0111】

本発明の方法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。本明細書で用いるとき、用語「哺乳動物」とは、げっ歯目の哺乳動物、例えばマウス及びハムスター、並びにウサギ目の哺乳動物、例えばウサギ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、ネコ及びイヌを含む食肉目の哺乳動物であることが好ましい。哺乳動物は、ウシ及びブタを含む偶蹄目、又はウマを含む奇蹄目の哺乳動物であることがより好ましい。哺乳動物は、霊長目、サル目（Ceboids又はSimoids）（サル）、又は真猿亜目（ヒト及び類人猿）の哺乳動物であることが最も好ましい。特に好ましい哺乳動物は、ヒトである。

#### 【実施例】

#### 【0112】

以下の実施例は、本発明を更に説明するが、無論、いかなる方法でもその範囲を限定すると解釈されるべきではない。

#### 【0113】

本実施例は、患者4316のTILにおける抗p53-C135Y反応性の同定について示す。

#### 【0114】

結腸直腸がん患者4316から切除した腫瘍を24の断片に切断し、サイトカインIL-2の存在下で培養して、エクスピボでTILを成長させた。TILを標的細胞と共培養することによって、p53-C135Yを含む患者の腫瘍でみられる体細胞変異について断片（F1～F24と付番）をスクリーニングした。標的細胞は、（i）p53-C135Yを含むPPをパルスした；（ii）p53-C135YをコードするTMG RNA若しくは関係性のないTMGでトランスフェクションした；又は（iii）DMSO（ジメチルスルホキシド）（コントロール）で処理した自己DCであった。PMA（ホルボール12-ミリステート13-アセテート）／イオノマイシンで処理したTILをポジティブコントロールとした。IFN- $\gamma$ の生成をELISpotアッセイによって測定した。結果を図1Aに示す。断片番号F22がp53-C135Yを認識するTILを含有すると同定された。

#### 【0115】

断片22からのTILを解析し、p53-C135Yに対する反応性について試験した。標的細胞は、表1に示すp53-C135Yペプチドのうちの1つをパルスした自己DCであった。ネガティブコントロールとして、関係性のないペプチドKIAA1328 K386R又はDMSO（ビヒクル）をパルスした標的細胞を含めた。PMA／イオノマイシンで処理したTILをポジティブコントロールとした。共培養後、T細胞活性化マーカーである細胞表面4-1BB発現のフローサイトメトリー分析によって反応性を測定した。結果を図1Bに示す。図1Bに示すように、表1に示す3のp53-C135YペプチドのいずれかとTILを共培養した後に反応性が観察された。

#### 【0116】

10

20

30

40

50

【表 1】

|        |                  |                                         |         |
|--------|------------------|-----------------------------------------|---------|
| TP53-1 | カノニカル            | <b>TCTYSPALNKM<u>FYQLAK</u>TCPVQLWV</b> | 配列番号 90 |
| TP53-2 | スプライスバリ<br>アント-1 | <b>NVLYSPALNKM<u>FYQLAK</u>TCPVQLWV</b> | 配列番号 96 |
| TP53-3 | スプライスバリ<br>アント-2 | <b>SGTAKSVTCTM<u>FYQLAK</u>TCPVQLWV</b> | 配列番号 97 |

【0117】

10

## 実施例 2

本実施例は、実施例 1 の反応性 T I L からの抗 p 5 3 - C 1 3 5 Y T C R の単離について示す。

【0118】

反応性 T I L を再刺激し、単一細胞 T - 細胞受容体 (T C R) シーケンシングのために 4 - 1 B B の上方制御によって選別して 9 6 ウェルプレートに入れた。T C R、即ち、4 3 1 6 - D T C R が見出された。

【0119】

T C R のアルファ鎖及びベータ鎖の可変領域の配列を、単一細胞 T C R シーケンシングによって同定した。アルファ鎖及びベータ鎖の可変領域のアミノ酸配列を表 2 に示す。C D R を下線で示す。N 末端シグナルペプチドを太字フォントで示す。

20

【0120】

【表 2】

| TCR の名称    | TCR 鎖                                 | アミノ酸配列                                                                                                                                                                            |
|------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4316-D TCR | 可変 α<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド無し<br>の予測配列) | QQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSST <u>TL</u> SNIQWYKQRPGGHP<br>VFLIQLVKS <u>GEVKKQ</u> KRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTDTVGT<br>YFCAESYSGGYQKVTFGIGTKLQVIP (配列番号 8)                                |
|            | 可変 β<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド無し<br>の予測配列) | EPEVTQTPSHQVTQMGEVILRCVPISN <u>HLYFYWYRQILGQKV</u><br>EFLVSFYNN <u>EISEKSEIFDDQFS</u> VERPDGSNFTLKIRSTKLEDSA<br>MYFCASSSFSNEQFFGPGTRLTVL (配列番号 9)                                 |
|            | 可変 α<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)          | <b>MHLITSMVLVLMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTY</b><br>CNSST <u>TL</u> SNIQWYKQRPGGHPVFLIQLVKS <u>GEVKKQ</u> KRLTFQF<br>GEAKKNSSLHITATQTDTVGTYFCAESYSGGYQKVTFGIGTKL<br>QVIP (配列番号 10) |
|            | 可変 β<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)          | <b>MATWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGEVILR</b><br>CVPISN <u>HLYFYWYRQILGQKVEFLVSFYNN</u> EISEKSEIFDDQFS<br>VERPDGSNFTLKIRSTKLEDSAMYFCASSSFSNEQFFGPGTRLT<br>VL (配列番号 11)           |

30

40

【0121】

## 実施例 3

本実施例は、患者 4 1 4 1 の T I L における抗 p 5 3 - R 1 7 5 H 反応性の同定について示す。

【0122】

結腸直腸がん患者 4 1 4 1 からの T I L を、新抗原反応性 T 細胞を濃縮するために体外感作に供した後、DMSO、変異体 p 5 3 R 1 7 5 H ペプチド H M T E V V R H C (配列番号 9 2)、又は対応する W T p 5 3 R 1 7 5 ペプチド H M T E V V R R C (配列番号 9 1) に対する試験を行った。T 細胞活性化マーカーである 4 - 1 B B 及び O X 4 0

50

を、フローサイトメトリーによって測定した。結果を図 2 に示す。

【0123】

#### 実施例 4

本実施例は、実施例 3 の反応性 T I L からの抗 p 5 3 - R 1 7 5 H T C R の単離について示す。

【0124】

反応性 T I L を再刺激し、単一細胞 T C R シーケンシングのために 4 - 1 B B の上方制御によって選別して 9 6 ウェルプレートに入れた。T C R、即ち、4 1 4 1 I V S T C R が見出された。

【0125】

T C R のアルファ鎖及びベータ鎖の可変領域の配列を、単一細胞 T C R シーケンシングによって同定した。アルファ鎖及びベータ鎖の可変領域のアミノ酸配列を表 3 に示す。C D R を下線で示す。N 末端シグナルペプチドを太字フォントで示す。

【0126】

【表 3】

| TCR の名称      | TCR 鎖                             | アミノ酸配列                                                                                                                                                         |
|--------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4141 IVS TCR | 可変 α<br>(N 末端シグナルペプチド無し<br>の予測配列) | QTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCITYDTSENNYYLFWYKQPPSR<br>QMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKA AKSFSLKISDSQLGDTAMYFCAFMAYMEYGNKL VFGAGTILRVKS (配列番号 23)                           |
|              | 可変 β<br>(N 末端シグナルペプチド無し<br>の予測配列) | EPEVTQTPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHL YFYWYRQILGQKV<br>EFLVSFYNN EISEKSEIFDDQFSVERPDGSNFTLKIRSTKLEDSA<br>MYFCACKGITDTQYFGPGTRLTVL (配列番号 24)                           |
|              | 可変 α<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)      | MHRVSLWAVVVSTCLESMAQTVTQSQPEMSVQEAETVT<br>LSCITYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYKQQNATEN<br>RFSVNFQKA AKSFSLKISDSQLGDTAMYFCAFMAYMEYGNKL<br>VFGAGTILRVKS (配列番号 25) |
|              | 可変 β<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)      | MATWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGQEVILR<br>CVPISNHL YFYWYRQILGQKVEFLVSFYNN EISEKSEIFDDQFS<br>VERPDGSNFTLKIRSTKLEDSAMYFCACKGITDTQYFGPGTRL<br>TVL (配列番号 26)     |

【0127】

#### 実施例 5

本実施例は、患者 4 3 0 4 の T I L における抗 p 5 3 - M 2 3 7 I 反応性の同定について示す。

【0128】

結腸直腸がん患者 4 3 0 4 から切除した腫瘍を 2 4 の断片に切断し、サイトカイン I L - 2 の存在下で培養して、エキスピボで T I L を成長させた。T I L を標的細胞と共培養することによって、p 5 3 M 2 3 7 I を含む患者の腫瘍でみられる体細胞変異について断片 (F 1 ~ F 2 4 と付番) をスクリーニングした。標的細胞は、(i) p 5 3 M 2 3 7 I を含む P P をパルスした；(i i) p 5 3 M 2 3 7 I をコードする T M G R N A 若しくは関係性のない T M G でトランスフェクションした；又は (i i i) D M S O (コントロール) で処理した自己 D C であった。P M A / イオノマイシンで処理した T I L をポジティブコントロールとした。I F N - γ の生成を E L I S p o t アッセイによって測定した。結果を図 3 A に示す。断片番号 F 2 4 が p 5 3 - M 2 3 7 I を認識する T I L を含有すると同定された。

【0129】

断片 2 4 からの T I L を解析し、p 5 3 - M 2 3 7 I に対する反応性について試験した

。標的細胞は、図 3 A のペプチドプールを構成する個々の変異体ペプチドを独立してパルスした自己 DC であった。PMA / イオノマイシンで処理した TIL をポジティブコントロールとした。培地のみ及び DMSO をパルスした DC をコントロールとした。共培養後、ELISPOT アッセイによって IFN- $\gamma$  の発現を測定することにより反応性を試験した。IFN- $\gamma$  陽性スポットの数を表 4 に示す。表 4 に示すように、TIL を変異型 p53 ペプチド (p53-M237I) VGS D C T T I H Y N Y I C N S S C M G G M N R R (配列番号 94) と共培養した後に反応性が観察された。表 4 中、「ブランク」は、いかなる T 細胞も標的細胞も含まないブランクウェルを意味する。

【0130】

【表 4】

10

| 変異体ペプチド     | IFN-ガンマスポット数 |
|-------------|--------------|
| ZFN469      | 40           |
| MAP2K2      | ~52          |
| SCN4A       | ~46          |
| PPP1R13L    | 15           |
| P53         | ~712         |
| PEG3        | 34           |
| DNAH17      | ~86          |
| DMSO        | 15           |
| NTN1        | ~33          |
| 培地のみ        | 1            |
| SMAD2       | 23           |
| ブランク        | 2            |
| CPAMD8      | 15           |
| ブランク        | 3            |
| NCAN        | 28           |
| PMA/イオノマイシン | 数え切れないほど多い   |

20

30

【0131】

フローサイトメトリーによって患者 4304 の腫瘍消化物から CD4<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD103<sup>-</sup>CD39<sup>+</sup>、又は CD4<sup>+</sup>CD103<sup>-</sup>CD39<sup>-</sup> 細胞を選別した。この選別に使用したゲーティングスキームを図 3 B に示す。

【0132】

40

選別された細胞集団を標的細胞と独立して共培養することによって、選別された集団中の細胞数を増加させた。標的細胞は、(i) p53 M237I を含む PP をパルスした；(ii) p53 M237I をコードする TMG RNA 若しくは TMG コントロールでトランスフェクションした；又は (iii) DMSO (コントロール) で処理した自己 DC であった。TMG コントロールは、患者 4304 と同じ変異を共有していない他の患者によって発現された関係性のない変異をコードしていた。単独で培養した TIL をコントロールとした。共培養後、ELISPOT によって IFN- $\gamma$  の分泌を測定することにより反応性を試験した。結果を図 3 C に示す。選別された CD4<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup> 又は CD4<sup>+</sup>CD103<sup>-</sup>CD39<sup>+</sup> 細胞を、p53 M237I を含有する PP をパルスした標的細胞と共培養した後に、反応性が観察された。

50

## 【0133】

## 実施例 6

本実施例は、実施例 5 の反応性 T I L からの抗 p 5 3 - M 2 3 7 I T C R の単離について示す。

## 【0134】

反応性 T I L を再刺激し、単一細胞 T C R シーケンシングのために 4 - 1 B B の上方制御によって選別して 9 6 ウェルプレートに入れた。3 の T C R、即ち、4 3 0 4 T C R - 2、4 3 0 4 T C R - 4、4 3 0 4 T C R - K がみられた。

## 【0135】

T C R のアルファ鎖及びベータ鎖の可変領域の配列を、単一細胞 T C R シーケンシングによって同定した。アルファ鎖及びベータ鎖の可変領域のアミノ酸配列を表 5 に示す。C D R を下線で示す。N 末端シグナルペプチドを太字フォントで示す。

## 【0136】

## 【表 5 - 1】

| TCR の名称    | TCR 鎖                                 | アミノ酸配列                                                                                                                                                                                             |
|------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4304 TCR-2 | 可変 α<br>(N 末端シグナルペプチド無し<br>の予測配列)     | QSVSQHNHHVILSEAASLELGCNYSYGGTVNLFWYVQYPGQH<br>LQLLLKYFSGDPLVKGIKGFEAEFIKSKFSFNLRKPSVQWSDTA<br>EYFCAVTFMDTGRRALTFGSGTRLQVQP (配列番号 38)                                                               |
|            | 可変 β<br>(N 末端シグナルペプチド無し<br>の予測配列)     | GVSQSPSNKVTEKGKDVELRCDPISGHTALYWYRQSLGQGLE<br>FLIYFQGN <u>SAPDKSGLPSDRFSAERTGGSVSTLTIQRTQQEDSA</u><br>VYL <u>CASSPRGGDYEQYF</u> GPGLTRTLTVT (配列番号 39)                                              |
|            | 可変 α<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)          | <b>MLLLLIPVLGMIFALRDARA</b> QSVSQHNHHVILSEAASLELGC<br>NYSYGGTVNLFWYVQYPGQH <b>LQLLLKYFSGDPLVKGIKGFEA</b><br>EFIKSKFSFNLRKPSVQWSDTA <b>EYFCAVTFMDTGRRALTFGSG</b><br>TRLQVQP (配列番号 40)               |
|            | 可変 β<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)          | <b>MATRLLFWVAFCLLGADHTGAGV</b> SQSPSNKVTEKGKDVEL<br>RCDPISGHTALYWYRQSLGQGLE <b>FLIYFQGN</b> <u>SAPDKSGLPSDR</u><br>FSAERTGGSVSTLTIQRTQQEDSA <b>VYLCASSPRGGDYEQYF</b> GP<br>GTRLTVT (配列番号 41)       |
| 4304 TCR-4 | 可変 α<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド無し<br>の予測配列) | SQKKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRG <u>SQSFFWYRQYSG</u><br>KSPELIMFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSA<br>TYLCAVEGAGSYQLTFGKGTKLSVIP (配列番号 53)                                                         |
|            | 可変 β<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド無し<br>の予測配列) | AVISQKPSRDICQRGTS <b>LT</b> IQCCQVDSQVTMMFWYRQQPGQSLT<br>LIATANQGSEATY <b>ES</b> GFVIDKF <b>PISRP</b> NLTFSTLTVSNMSPEDSSI<br>YLCSVRSEDTQYF <b>GP</b> GLTRTLTVL (配列番号 54)                           |
|            | 可変 α<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)          | <b>MKSLRVLLVILWLQLSWVWS</b> QKKEVEQNSGPLSVPEGAIAS<br>LNCTYSDRG <u>SQSFFWYRQYSG</u> KSPELIMFIYSNGDKEDGRFTA<br>QLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLCAVRGGNTGFQKL <b>V</b> FGTG<br>TRLLVSP (配列番号 55)              |
|            | 可変 β<br>(N 末端シグナル<br>ペプチド有り)          | <b>MASLLLLLLGLGSVFSA</b> VISQKPSRDICQRGTS <b>LT</b> IQCCQVDSQ<br>VTMMFWYRQQPGQSL <b>LIATANQGSEATY</b> ESGFVIDKF <b>PISRP</b><br>NLTFSTLTVSNMSPEDSSIYLCSVRSEDTQYF <b>GP</b> GLTRTLTVL (配<br>列番号 56) |

10

20

30

40

50

【0137】

【表5-2】

| TCRの名称     | TCR鎖                                    | アミノ酸配列                                                                                                                                                         |
|------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4304 TCR-K | 可変 $\alpha$<br>(N末端シグナルペプチド無し<br>の予測配列) | KDQVFQPSTVASSEGAVVEIFCNHSVSNAYNFFWYLHFPGCAP<br>RLLVKGSKPSQQGRYNMTYERFSSSLILQVREADAAVYYCA<br>VSGYQLIWGAGTKLIKPNIQNPEPAV (配列番号 68)                               |
|            | 可変 $\beta$<br>(N末端シグナルペプチド無し<br>の予測配列)  | GVAQSPRYKIIKQRQSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKL<br>LIQFQNGVVDSDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSA<br>VYLCASSLDRRGRETQYFPGPTRLLVL (配列番号 69)                            |
|            | 可変 $\alpha$<br>(N末端シグナル<br>ペプチド有り)      | MHLQSTLGAVWLGLLLNSLWKVAESKDQVFQPSTVASSEG<br>AVVEIFCNHSVSNAYNFFWYLHFPGCAPRLLVKGSKPSQQGR<br>YNMTYERFSSSLILQVREADAAVYYCAVSGYQLIWGAGTKLI<br>IKPNIQNPEPAV (配列番号 70) |
|            | 可変 $\beta$<br>(N末端シグナル<br>ペプチド有り)       | MATRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIIKQRQSVAFW<br>CNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQNGVVDSDSQLPKDRF<br>SAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSA VYLCASSLDRRGRETQYFG<br>PTRLLVL (配列番号 71)   |

10

20

【0138】

## 実施例7

本実施例は、実施例2、4、及び6のそれぞれのTCRをコードしているレトロウイルスベクターの構築について示す。

【0139】

表2、3、及び5のTCRの $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 鎖の可変領域をコードしているヌクレオチド配列を取得し、コドンを最適化した。TCR $\beta$ VDJ領域をマウスTCR $\beta$ 定常鎖に融合させた。TCR $\alpha$ VJ領域をマウスTCR $\alpha$ 定常鎖に融合させた。特定の理論又は機序に縛られるものではないが、ヒトのTCR $\alpha$ 鎖及びTCR $\beta$ 鎖の定常領域を対応するマウス定常領域で置換すると、TCRの発現及び機能性が改善すると考えられる(Cohen et al., Cancer Res., 66(17): 8878-86 (2006))。

30

【0140】

さらに、マウスのTCR $\alpha$ 及びTCR $\beta$ の定常鎖をシステインで修飾した。マウスTCR $\alpha$ 定常鎖に膜貫通型疎水性変異を導入した。特定の理論又は機序に縛られるものではないが、これら修飾は、導入されたTCR鎖を優先的に対合させ、TCRの表面発現及び機能性を高めると考えられる(Cohen et al., Cancer Res., 67(8): 3898-903 (2007); Haga-Friedman et al., J. Immu., 188: 5538-5546 (2012))。

【0141】

MSGV1ベクターの5'NcoI部位へのTCR発現カセットのクローニングを促進し、コザック配列を導入するために、TCRV $\alpha$ 鎖のN末端シグナルペプチドにおける2番目のアミノ酸をヒスチジン(H)、ロイシン(L)、又はリジン(K)に変更し、TCRV $\beta$ 鎖のN末端シグナルペプチドにおける2番目のアミノ酸をアラニン(A)に変更した。

40

【0142】

定常領域に対するこれら修飾を含む、5のTCRのそれぞれの全長の $\alpha$ 鎖及び $\beta$ 鎖を表5に示す。表6中、CDRを下線で示し、定常領域をイタリック体で示し、定常領域の修飾アミノ酸残基を下線及び太字で示す。

【0143】

50

【表 6 - 1】

| TCR の<br>名称        | TCR 鎖                                               | アミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|--------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4316-D<br>TCR      | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖         | MHLITSMLVLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTT<br>LSNIQWYKQRPGGHPVFLIQLVKSGEVKKQKRLTFQFGEAKKNSSSLHI<br>TATQTDDVGTYFCAESYSGGYQKVTFEGIGTKLQVIPNIQNPEPAVYQLK<br>DPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSSKNGAI<br>AWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNLV<br>VLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 12)                                        |
|                    | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖         | MATWLVCAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGEVILRCVPISN<br>HLYFYWYRQILGQKVEFLVSFYNNNEISEKSEIFDDQFSVERPDGNSFTL<br>KIRSTKLEDSAMYFCASSFSNEQFFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFE<br>PSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYK<br>ESNYSYCLSSRLRVSAFWHNP RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV<br>TNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMA<br>MVKRKNS (配列番号 13)  |
|                    | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖予測配<br>列 | QQVMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTTLSNIQWYKQRPGGHPVFLIQ<br>LVKSGEVKKQKRLTFQFGEAKKNSSSLHITATQTDDVGTYFCAESYSG<br>GYQKVTFEGIGTKLQVIPNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQIN<br>VPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSSKNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNAT<br>YPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNLVIVLRILLKLVAGFNLLMTLRL<br>WSS (配列番号 14)                                                          |
|                    | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖予測配<br>列 | EPEVTQTPSHQVTQMGEVILRCVPISNHLFYFYWYRQILGQKVEFLVS<br>FYNNNEISEKSEIFDDQFSVERPDGNSFTLKIRSTKLEDSAMYFCASSFS<br>NEQFFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCLARGF<br>FPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSAFWHNP<br>RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQ<br>QGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMMVKRKNS (配列番号 15)                       |
| 4141<br>IVS<br>TCR | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖         | MHRVSLWAVVVSTCLESMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCITYD<br>TSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIRQEAAYKQONATENRFSVNFQKAAK<br>SFSLKISDSQLGDTAMYFCAFMAYMEYGNKLVEFGAGTILRVKSNIQNP<br>EPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAM<br>DSKNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNL<br>NFQNLVIVLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 27)                                  |
|                    | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖         | MATWLVCAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGEVILRCVPISN<br>HLYFYWYRQILGQKVEFLVSFYNNNEISEKSEIFDDQFSVERPDGNSFTL<br>KIRSTKLEDSAMYFCACKGITDTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLF<br>EPSKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAY<br>KESNYSYCLSSRLRVSAFWHNP RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPV<br>TNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMA<br>MVKRKNS (配列番号 28) |
|                    | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖予測配<br>列 | QTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCITYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVI<br>RQEAAYKQONATENRFSVNFQKAAKSFSLSKISDSQLGDTAMYFCAFMA<br>YMEYGNKLVEFGAGTILRVKSNIQNPPEPAVYQLKDPRSQDSTLCLFTDFD<br>SQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSSKNGAIAWSNQTSFTCQDIFKE<br>TNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNLVIVLRILLKLVAGFNLLM<br>TLRLWSS (配列番号 29)                                                   |
|                    | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖予測配<br>列 | EPEVTQTPSHQVTQMGEVILRCVPISNHLFYFYWYRQILGQKVEFLVS<br>FYNNNEISEKSEIFDDQFSVERPDGNSFTLKIRSTKLEDSAMYFCACKGIT<br>DTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPSKAEIANKQKATLVCLARGF<br>FPDHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSAFWHNP<br>RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQ<br>QGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMMVKRKNS (配列番号 30)                      |

【 0 1 4 4 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

| TCR の<br>名称   | TCR 鎖                                               | アミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4304<br>TCR-2 | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖         | MLLLLIPVLGMIFALRDARAQSVSQHNHHVILSEAASLELGCNYSYGG<br>TVNLFWYVQYPGQHLQLLKYFSGDPLVKGIGFEEAFIKSKFSFNL<br>KPSVQWSDTAEYFCAVTFMDTGRRALTEGSGTRLQVQPNIQNPEPAVY<br>QLKDPQRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKC <b>V</b> LDMKAMDSKSN<br>GAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL<br><b>LVI</b> LRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 42)                                    |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖         | MATRLLFVWAFCLLGADHTGAGVSQSPSNKVTEKKGKDVELRCDPISG<br>HTALYWYRQSLGQGLEFLIYFQGNAPDKSGLPSDRFSAERTGGSVST<br>LTIQRTQQEDSAVYLCASSPRGGDYEQYFGPGTRLTVTEDLRNVTPPK<br>VSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDP<br>QAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPNNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSP<br>KPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLV<br>VMAMVKRKNS (配列番号 43)          |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖予測配<br>列 | QSVSQHNHHVILSEAASLELGCNYSYGGTVNLFWYVQYPGQHLQLL<br>KYFSGDPLVKGIGFEEAFIKSKFSFNLKPSVQWSDTAEYFCAVTFM<br>DTGRRALTEGSGTRLQVQPNIQNPEPAVYQLKDPQRSQDSTLCLFTDFDS<br>QINVPKTMESGTFITDKC <b>V</b> LDMKAMDSKSN <b>G</b> AIAWSNQTSFTCQDIFKET<br>NATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL <b>LVI</b> LRILLKLVAGFNLLMT<br>LRLWSS (配列番号 44)                                              |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖予測配<br>列 | GVSQSPSNKVTEKKGKDVELRCDPISGHTALYWYRQSLGQGLEFLIYFQ<br>GNAPDKSGLPSDRFSAERTGGSVSTLTIQRTQQEDSAVYLCASSPRG<br>GDYEQYFGPGTRLTVTEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLAR<br>GFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWH<br>NPNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASY<br>QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS (配列番号 45)                                    |
| 4304<br>TCR-4 | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖         | MKSLRVLLVILWLQLSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS<br>DRGSQSFFWYRQYSGKSPELIMFIYNSGDKEDGRFTAQLNKASQYVS<br>LLIRDSQPSDSATYLC <b>AV</b> RGGNTGFQKLVEFGTGTRLLVSPNIQNP <b>EP</b> AV<br>YQLKDPQRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKC <b>V</b> LDMKAMDSKS<br>NGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL<br><b>LVI</b> LRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 57)              |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖         | MASLLLLLGLGSVFSAVISQKPSRDICQRGTSITQCCQVDSQV <b>T</b> MMF<br>WYRQPGQSLTLIATANQGEATYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTVSN<br>MSPEDSSIYLC <b>S</b> VRSEDTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAE<br>IANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSY<br>CLSSRLRVSATFWHNPNNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAE<br>AWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRK<br>NS (配列番号 58) |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖予測配<br>列 | QQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYSDRGSQSFFWYRQYSGKSPELI<br>MFIYNSGDKEDGRFTAQLNKASQYVSLIRDSQPSDSATYLC <b>AV</b> RGG<br>NTGFQKLVEFGTGTRLLVSPNIQNP <b>EP</b> AVYQLKDPQRSQDSTLCLFTDFDS<br>QINVPKTMESGTFITDKC <b>V</b> LDMKAMDSKSN <b>G</b> AIAWSNQTSFTCQDIFKET<br>NATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLFQNL <b>LVI</b> LRILLKLVAGFNLLMT<br>LRLWSS (配列番号 59)                         |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖予測配<br>列 | AVISQKPSRDICQRGTSITQCCQVDSQV <b>T</b> MMFWYRQPGQSLTLIATA<br>NQGEATYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTVSNMSPEDSSIYLC <b>S</b> VRSE<br>DTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPKAEIANKQKATLVCLARGFF<br>PDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNP<br>NNHFRQCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQ<br>GVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS (配列番号 60)                    |

【 0 1 4 5 】

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

| TCR の<br>名称   | TCR 鎖                                               | アミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4304<br>TCR-K | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖         | MHLQSTLGAVWLGLLLNSLWKVAESKDQVFQ PSTVASSEGAVVEIFC<br>NHSVSNAYNFFWYLHFP GCAPRLLVKGSKPSQQGRYNMTYERFSSSL<br>LILQVREADAAVYYCAVSGYQLIWGAGTKLIKPNIQNPEPAVNIQNPE<br>PAVYQLKDPRSQDSTLC LFTDFDSQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD<br>SKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLN<br>FQNL <u>LVIVLR</u> ILLKLVAGFNLLMTLRLWSS (配列番号 72)                            |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド有りの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖         | MATRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKII EKRSVAFWCNPISG<br>HATLYWYQQILGQGPKLLIQFQNNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGVD<br>TLKIQPAKLEDSAVYLCASSLDRRGRETQYFGPGTRLLVLEDLRNVT<br>PPKVSLFEP SKAEIANKQKATLVCLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVC<br>TDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRNHFR CQVQFHGLSEEDKWPE<br>GSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV<br>SLVVMAMV KRKNS (配列番号 73) |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 α 鎖予測配<br>列 | KDQVFQ PSTVASSEGAVVEIFC NHSVSNAYNFFWYLHFP GCAPRLLV<br>KGSKPSQQGRYNMTYERFSSSL LILQVREADAAVYYCAVSGYQLIWG<br>AGTKLIKPNIQNPEPAVNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLC LFTDFDSQIN<br>VPKTMESGTFITDKCVLDMKAMD SKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNAT<br>YPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNL <u>LVIVLR</u> ILLKLVAGFNLLMTLRL<br>WSS (配列番号 74)                                                  |
|               | N 末端シグナル<br>ペプチド無しの<br>Cys 置換 LVL<br>修飾 β 鎖予測配<br>列 | GVAQSPRYKII EKRSVAFWCNPISGHATLYWYQQILGQGPKLLIQFQ<br>NNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVYLCASSL<br>DRRGRETQYFGPGTRLLVLEDLRNVT PPKVSLFEP SKAEIANKQKATLV<br>CLARGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVC TDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSAT<br>FWHNPRNHFR CQVQFHGLSEEDKWPE GSPKPVTONISAEAWGRADCGIT<br>SASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSTLVVMAMV KRKNS (配列番号<br>75)                  |

10

20

## 【0146】

表 6 の TCR の α 鎖及び β 鎖をコードしているヌクレオチド配列を、以下の発現カセット構成を有する MSGV1 ベースのレトロウイルスベクターにクローニングした：5' NcoI-VDJβ-mCβ-フリン/SerGly/P2A-VJα-mCα-EcoRI3'。

30

## 【0147】

TCR β 鎖及び TCR α 鎖は、フリン Ser/Gly P2A リンカー RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (配列番号 80) によって分離されていた。特定の理論又は機序に縛られるものではないが、リンカーは、2 本の鎖の発現効率を同等にすると考えられる (Szymczak et al., Nat. Biotechnol., 22 (5) : 589-94 (2004))。

## 【0148】

レトロウイルスベクターの TCR 発現カセットは、5' から 3' に向かって、リンカーによって分離された TCR β 鎖及び TCR α 鎖をコードしていた。それぞれの各 TCR 発現カセットがコードするアミノ酸配列を表 7 に示す。表 7 中、CDR を下線で示し、定常領域をイタリック体で示し、リンカーを太字で示す。

40

## 【0149】

50

【表 7 - 1】

| TCR の名称      | TCR 発現カセットにコードされているアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4316-D TCR   | <p>MATWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHLYFYWY<br/> RQILGQKVEFLVSFYNNIEISEKSEIFDDQFSVERPDGNSFTLKIRSTKLEDSAMYFC<br/> <u>ASSFSNEOFFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPСКАEIA NKQKATLVCLARGFFP</u><br/> <u>DHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNP RNHFRCQVQ</u><br/> <u>FHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATL</u><br/> <u>YAVLVSTLVVMAMV KRKNSRAKRS GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMHLIT SML</u><br/> VLWMQLSQVNGQQVMQIPQYQH VQEGEDFTTYCNSSTL SNIQWYKQRP GGHP<br/> VFLIQLVKS GEVKKQKRLTFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYFCAESYSGGYQ<br/> <u>KVTFGIGTKLQVIPNIQNPEPAVYQLKDPRS QDSTLC LFTDFDSQINVPKTMESGTFIT</u><br/> <u>DKCVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETD</u><br/> MNLNFQNL LVIVLRILL LKVAGFNLLMTLRLWSS<br/> (配列番号 16)</p>                    |
| 4141 IVS TCR | <p>MATWLVCWAIFSLKAGLTEPEVTQTPSHQVTQMGQEVILRCVPISNHLYFYWY<br/> RQILGQKVEFLVSFYNNIEISEKSEIFDDQFSVERPDGNSFTLKIRSTKLEDSAMYFC<br/> <u>ACKGITDTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPСКАEIA NKQKATLVCLARGFF</u><br/> <u>PDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNP RNHFRCQV</u><br/> <u>QFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKAT</u><br/> <u>LYAVLVSTLVVMAMV KRKNSRAKRS GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMHRV SLL</u><br/> WAVVSTCLES GMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTL SCTYDTSENNYYLFWYKQP<br/> PSRQMILVIRQEA YKQQNATENRFSVNFQKA AKSFS LKISDSQLGDTAM YFCAE<br/> <u>MAYMEYGNKL VFGAGTILRVKSNIQNPEPAVYQLKDPRS QDSTLC LFTDFDSQINVP</u><br/> <u>PKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDA</u><br/> <u>ATLTEKSFETDMNLNFQNL LVIVLRILL LKVAGFNLLMTLRLWSS</u><br/> (配列番号 31)</p> |
| 4304 TCR-2   | <p>MATRLFWVAFCLLGADHTGAGVSQSPSNKVTEKGKDVELRCDPI SGHTALYW<br/> YRQSLGQGLEFLIY FQGN S A PDKSGLPSDRFSAERTGGSVSTLTIQRTQQEDSAVY<br/> L CASSPRGGDYEQYFGPGTRLTVTEDLRNVTPPKVSLFEPСКАEIA NKQKATLVCLA<br/> RGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNP RNHF<br/> RCQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILL<br/> GKATLYAVLVSTLVVMAMV KRKNSRAKRS GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPM LLL<br/> LLIPVLGMIFALRDARAQSVSQHNHHVILSEAASLELGCNYSYGGTVNLFWYVQ<br/> YPGQHLQLLLKYFGSDPLVKGIKGFEAEFIKSKFSFNLRKPSVQWSDTA EYFCAV<br/> TFMDTGRRALTFGSGTRLQVQPNIQNPEPAVYQLKDPRS QDSTLC LFTDFDSQINVP<br/> KTMESGTFITDKCVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDA<br/> TLTEKSFETDMNLNFQNL LVIVLRILL LKVAGFNLLMTLRLWSS<br/> (配列番号 46)</p>                                                   |
| 4304 TCR-4   | <p>MASLLLLLLGLGSVFSAVISQKPSRDICQRGTS LTIQCQVDSQVTMMFWYRQQPG<br/> QSLTLIATANQ GSEATYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTVSNMSPEDSSIYLC SVRSE<br/> <u>DTQYFGPGTRLTVLEDLRNVTPPKVSLFEPСКАEIA NKQKATLVCLARGFFPDHVELS</u><br/> <u>WWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRV SATFWHNP RNHFRCQVQFHGLSE</u><br/> <u>EDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVST</u><br/> <u>LVVMAMV KRKNSRAKRS GSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMKSLRVLLVILWLQ</u><br/> LSWVWSQQKEVEQNSGPLSVPEGAIASLNCTYS DRGSQSFFWYRQYSGKSP ELI<br/> MFIYSNGDKEDGRFTAQLNKASQYVSL LIRDSQPSDSATYLCAVRGGNTGFQKL<br/> <u>VFGTGTRLLVSPNIQNPEPAVYQLKDPRS QDSTLC LFTDFDSQINVPKTMESGTFITD</u><br/> <u>KCVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETD</u><br/> MNLNFQNL LVIVLRILL LKVAGFNLLMTLRLWSS<br/> (配列番号 61)</p>                 |

10

20

30

40

【 0 1 5 0 】

【表 7－2】

| TCR の名称    | TCR 発現カセットにコードされているアミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4304 TCR-K | <div>MATRLLCWAALCLLGAELTEAGVAQSPRYKIIIEKRQSVAFWCNPISGHATLYWY<br/>QQILGQGPKLLIQFQNNGVVDDSQLPKDRFSAERLKGVDSTLKIQPAKLEDSAVY<br/>LCASSLDRRGGRETQYFGPGTRLLVLEDLRNVTPPKVSLFEPСКАEIANKQKATLVC<br/>LARGFFPDHVELSWVNGKEVHSGVCTDPQAYKESNYSYCLSSRLRVSATFWHNPRN<br/>HFRQVQFHGLSEEDKWPEGSPKPVTONISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILYE<br/>ILLGKATLYAVLVSTLVMMAMVKRKNSRAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPM<br/>HLQSTLGAVWLGLLLNSLWKVAESKDQVFQPSSTVASSEGAVVEIFCNHSVSNAY<br/>NFFWYLFHPGCAPRLLVKGSKPSQQGRYNMTYERFSSLLILQVREADAAVYYC<br/>AVSGYQLIWGAGTKLIKPNIQNPEPAVNIQNPEPAVYQLKDPRSQDSTLCFLTFDFD<br/>SQINVPKTMESGTFITDKCVLDMKAMDSSNGAIAWSNQTSFTCQDIFKETNATYPSS<br/>DVPCDATLTEKSFETDMNLNFQNLVIVLRILLKVAGFNLLMTLRLWSS<br/>(配列番号 76)</div> |

10

【0151】

実施例 8

本実施例は、実施例 7 のレトロウイルスベクターによってコードされている 4316-D TCR の結合活性について示す。

【0152】

健常ドナーの末梢血リンパ球（PBL）を実施例 7 の 4316-D TCR レトロウイルスベクターで形質導入した（エフェクター細胞）。標的細胞は、連続希釈した 25mer ペプチド p53-C135Y TCTYSPALNKMFYQLAKT CPVQLWV（配列番号 90）又は WT p53-C135 TCTYSPALNKMF CQLAKT CPVQLWVU（配列番号 89）をパルスした自己未成熟 DC であった。

20

【0153】

エフェクター細胞を標的細胞と共培養することによって、CD4 4316-D TCR の結合活性を測定した。4-1BB を発現しているマウス TCR 定常領域発現 T 細胞のパーセンテージを測定することによって、反応性を測定した。結果を図 1C に示す。形質導入細胞は p53-C135Y を認識した。

30

【0154】

実施例 9

本実施例は、実施例 7 のレトロウイルスベクターによってコードされる 4316-D TCR が、HLA-DRB1\*07:01 / HLA-DRA1\*01:01 ヘテロ二量体によって提示される p53-C135Y を認識することを実証する。

【0155】

エクソーム及び mRNA シーケンシングを用いて、患者 4316 が発現した MHC クラス II 分子を決定した。発現した MHC クラス II 分子を表 8 に示す。

【0156】

40

【表 8】

| 患者 4316 によって発現された MHC クラス II 分子 |    |
|---------------------------------|----|
| DPA1*01:03-DPB1*02:01           |    |
| DPA1*01:03-DPB1*11:01           |    |
| DPA1*02:01-DPB1*02:01           |    |
| DPA1*02:01-DPB1*11:01           |    |
| DQA1*01:01-DQB1*02:01           | 10 |
| DQA1*01:01-DQB1*02:02           |    |
| DQA1*01:01-DQB1*05:01           |    |
| DQA1*02:01-DQB1*02:01           |    |
| DQA1*02:01-DQB1*02:02           |    |
| DQA1*02:01-DQB1*05:01           |    |
| DRA*01:01-DRB1*07:01            | 20 |
| DRA*01:01-DRB3*01:01            |    |
| DQA*01:01-DRB4*01:01            |    |

## 【0157】

エフェクター細胞は、実施例 7 の 4316-D TCR レトロウイルスベクターで形質導入した同種 PBL であった。標的細胞は、表 8 に示す HLA クラス II ヘテロ二量体のうちの 1 で独立してトランスフェクションし、DMSO、野生型 p53-C135 25-mer ペプチド TCTYSPALNKMFCQLAKTCPVQLWV（配列番号 89）（1 μg/mL）、又は p53-C135Y 25-mer ペプチド TCTYSPALNKMFYQLAKTCPVQLWV（配列番号 90）（1 μg/mL）をパルスした 30,000 の COS7 細胞であった。

## 【0158】

20,000 のエフェクター細胞を標的細胞と 18 時間共培養した後、ELISPOT アッセイによって IFN-γ の発現を測定することにより反応性を試験した。4316-D TCR 形質導入細胞を、HLA-DRA\*01:01/HLA-DRB1\*07:01 ヘテロ二量体をコードするヌクレオチド配列で形質導入した p53-C135Y 25mer 負荷標的細胞と共培養したときにのみ、反応性が観察された。これらデータは、4316-D TCR が DRB1\*07:01 によって制限されていることを示す。

## 【0159】

## 実施例 10

本実施例は、実施例 7 の レトロウイルスベクターによってコードされる 4141 IVS TCR の結合活性及び特異性について示す。

## 【0160】

エフェクター細胞は、実施例 7 の 4141 IVS TCR レトロウイルスベクターで形質導入した健常ドナー PBL であった。標的細胞は、表 9 に示す濃度の連続希釈された ME p53-R175H ペプチド HMTEVVRHC（配列番号 92）又は WT p53-R175 ペプチド HMTEVVRRC（配列番号 91）をパルスした HLA-A\*02+ T2 白血病細胞であった。

【0161】  
【表9】

| パルスした<br>ペプチドの濃度 |
|------------------|
| 10 μg/mL         |
| 1 μg/mL          |
| 100 ng/mL        |
| 10 ng/mL         |
| 1 ng/mL          |
| 100 pg/mL        |
| 10 pg/mL         |

10

【0162】

20

20,000のエフェクター細胞を100,000の標的細胞と18時間共培養することによって、4141 IVS TCRの結合活性及び特異性を判定した。IFN-γの生成をELISpotアッセイによって測定した(N=3)。結果は4141 IVS TCRで形質導入した細胞が、100 pg/mL以上の濃度でパルスされたME p53-R175Hペプチドを認識したことを示す。4141 IVS TCRで形質導入した細胞は、WT p53-R175ペプチドを認識しなかった。これらデータは、4141 IVS TCRが変異体p53 R175Hに高度に特異的であることを示す。

【0163】

実施例11

本実施例は、実施例7のレトロウイルスベクターによってコードされる4141 IVS TCRが、HLA-A\*02:01によって提示されるp53-R175Hを認識することを実証する。

30

【0164】

エクソーム及びmRNAシーケンシングを用いて、患者4141が発現したMHCクラスI分子を決定した。発現したMHCクラスI分子を表10に示す。

【0165】

40

50

【表 1 0】

| 患者 4141 によって発現された MHC クラス I 分子 |
|--------------------------------|
| A02:01                         |
| A23:01                         |
| B08:01                         |
| B44:03                         |
| C04:01                         |
| C07:01                         |
| HLA-ALL                        |

10

20

【0 1 6 6】

エフェクター細胞は、実施例 7 の 4 1 4 1 I V S T C R レトロウイルスベクターで形質導入した健常ドナー P B L であった。標的細胞は、表 1 0 に示す H L A クラス I 分子のうちの 1 つで独立してトランスフェクションし、D M S O、M E p 5 3 − R 1 7 5 H ペプチド H M T E V V R H C（配列番号 9 2）（1 μ g / m L）、又は W T p 5 3 − R 1 7 5 ペプチド H M T E V V R R C（配列番号 9 1）（1 μ g / m L）をパルスした 3 0 , 0 0 0 の C O S 7 細胞であった。表 1 0 中の H L A − A L L とは、表 1 0 に示す 6 の H L A クラス I 分子を全て発現している標的細胞を指し、これをポジティブコントロールとした。

30

【0 1 6 7】

2 0 , 0 0 0 のエフェクター細胞を標的細胞と 1 8 時間共培養した後、E L I S P O T アッセイによって I F N − γ の発現を測定することにより反応性を試験した。4 1 4 1 I V S T C R 形質導入細胞を、H L A − A \* 0 2 : 0 1 をコードしているヌクレオチド配列で形質導入した p 5 3 − R 1 7 5 H 9 m e r 負荷標的細胞と共培養したときにのみ、反応性が観察された。これらデータは、4 1 4 1 I V S T C R が H L A − A \* 0 2 : 0 1 によって制限されていることを示す。

【0 1 6 8】

実施例 1 2

本実施例は、実施例 7 のそれぞれのレトロウイルスベクターによってコードされる 4 3 0 4 T C R − 4、4 3 0 4 T C R − K、又は 4 3 0 4 T C R − 2 の結合活性について示す。

【0 1 6 9】

健常ドナー P B L を、実施例 7 の 4 3 0 4 T C R − 4、4 3 0 4 T C R − K、又は 4 3 0 4 T C R − 2 レトロウイルスベクターで独立して形質導入した（エフェクター細胞）。標的細胞は、連続希釈した 2 5 m e r ペプチド p 5 3 − M 2 3 7 I V G S D C T T I H Y N Y I C N S S C M G G M N R R（配列番号 9 4）又は W T p 5 3 − M 2 3 7 V G S D C T T I H Y N Y M C N S S C M G G M N R R（配列番号 9 3）をパルスした自

40

50

己未成熟DCであった。  
【0170】  
エフェクター細胞を標的細胞と共培養することによって、TCRの結合活性を測定した。4-1BBを発現しているマウスTCR定常領域発現CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞のパーセンテージを測定することによって、反応性を測定した。結果を図3D～Fに示す。形質導入された細胞はp53-M237Iを認識した。

【0171】  
実施例13  
本実施例は、実施例7のそれぞれのレトロウイルスベクターによってコードされている4304 TCR-4、4304 TCR-K、又は4304 TCR-2が、HLA-DRB1\*01:01／HLA-DRA1\*01:01ヘテロ二量体によって提示されるp53-M237Iを認識することを実証する。

【0172】  
エクソーム及びmRNAシーケンシングを用いて、患者4304が発現したMHCクラスII分子を決定した。発現したMHCクラスII分子を表11に示す。

【0173】  
【表11】

| 患者 4304 によって発現された MHC クラス II 分子 |            |
|---------------------------------|------------|
| DRA1*01:01                      | DQA1*02:01 |
| DRB1*01:01                      | DQB1*02:01 |
| DRA1*01:01                      | DQA1*02:01 |
| DRB1*07:01                      | DQB1*05:01 |
| DRA1*01:01                      | DPA1*01:03 |
| DRB3*01:01                      | DPB1*04:02 |
| DRA1*01:01                      | DPA1*01:03 |
| DRB4*01:01                      | DPB1*11:01 |
| DQA1*01:01                      | DPA1*02:01 |
| DQB1*02:01                      | DPB1*04:02 |
| DQA1*01:01                      | DPA1*02:01 |
| DQB1*05:01                      | DPB1*11:01 |

【0174】  
エフェクター細胞は、実施例7のそれぞれのレトロウイルスベクターによってコードされている4304 TCR-4、4304 TCR-K、又は4304 TCR-2が形質導入された健常ドナーPBLであった。標的細胞は、表11に示すHLAクラスIIヘテロ二量体のうちの1つで独立してトランスフェクションし、DMSO、ME p53-M237IペプチドVGSDCTTIIHYN<sup>Y</sup>ICNSSSCMGGMNRR（配列番号94）（1μg/mL）、又はWT p53-M237IペプチドVGSDCTTIIHYN<sup>Y</sup>MCNSSSCMGGMNRR（配列番号93）（1μg/mL）をパルスした30,000のCOS7細胞であった。単独で培養したエフェクター細胞及びPMA／イオノマイシンで処理したエフェクター細胞をコントロールとした。DMSOで処理し、表11に示したHLAクラスIIヘテロ二量体全てでトランスフェクションした標的細胞をコントロー

ルとした。標的細胞はまた、コントロールとして、表 11 に示した HLA クラス II ヘテロ二量体全てでトランスフェクションし、WT p53-M237 ペプチドをパルスした。

【0175】

20,000 のエフェクター細胞を標的細胞と 18 時間共培養した後、ELISPOT アッセイによって IFN- $\gamma$  の発現を測定することにより反応性を試験した。4304 TCR-4、4304 TCR-K、又は 4304 TCR-2 で形質導入した細胞を、HLA-DRA1\*01:01/HLA-DRB1\*01:01 ヘテロ二量体をコードするヌクレオチド配列で形質導入した p53-M237I 25mer 負荷標的細胞と共培養したときにのみ、反応性が観察された。これらデータは、4304 TCR-4、4304 TCR-K、及び 4304 TCR-2 が HLA-DRA1\*01:01/HLA-DRB1\*01:01 ヘテロ二量体によって制限されていることを示す。

10

【0176】

#### 実施例 14

本実施例は、4141 IVS TCR が、HLA 及び p53 変異特異的に腫瘍細胞を認識することを示す。

【0177】

実施例 7 の 4141 IVS TCR レトロウイルスベクターで形質導入した健常ドナー T 細胞を、p53 R175H 若しくは HLA-A\*02:01 又はその両方について陽性である腫瘍細胞株のパネルと共培養した。フローサイトメトリーによって 4141 IVS TCR<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 細胞において T 細胞活性化マーカーである 4-1BB 及び OX40 を測定した。結果を図 4A~4B に示す。結果は、TCR 形質導入細胞は、p53 R175H 及び HLA-A\*02:01 の両方について陽性である腫瘍細胞株を認識したことを示した。TCR 形質導入細胞は、p53 R175H 又は HLA-A\*02:01 のいずれかについて陰性である腫瘍細胞株を認識しなかった。

20

【0178】

#### 実施例 15

本実施例は、p53 C135Y 反応性 4316-D TCR による自己腫瘍細胞認識について示す。

【0179】

健常ドナーの末梢血リンパ球に実施例 7 の 4316-D TCR レトロウイルスベクターをレトロウイルスによって形質導入した。形質導入細胞を標的細胞と 16 時間共培養することによって、形質導入細胞が自己腫瘍細胞を認識する能力を試験した。標的細胞は、IFN- $\gamma$  の非存在下又は IFN- $\gamma$  の存在下において、DMSO、実施例 8 の WT p53、又は実施例 8 の変異体 p53 ペプチドをパルスした患者 4316 からの自己 PDX 腫瘍細胞であった。T 細胞活性化マーカーである 4-1BB 及び OX40 を用いてフローサイトメトリーによって T 細胞の活性化を測定した。結果を図 6 に示す。結果は、形質導入 T 細胞が、IFN- $\gamma$  及び変異体 p53 ペプチドの両方で処理された標的細胞と共培養したときに 4-1BB 及び OX40 の発現を上方制御したことを示す。

30

【0180】

#### 実施例 16

本実施例は、4141 IVS TCR が前臨床異種移植マウスモデルにおいて抗腫瘍活性を発揮することを示す。

【0181】

2 頭の健常ドナー（健常ドナー 1 及び健常ドナー 2）からの PBL を、実施例 7 の 4141 IVS TCR レトロウイルスベクターで独立して形質導入した。前臨床マウスモデルを用いて、形質導入細胞の抗腫瘍活性を 4141-TCR1a2（米国特許出願第 17/620,942 号に開示）で形質導入した PBL と比較した。雌性 NSG マウスに、p53 R175H 変異及び HLA-A\*02:01 を天然で発現する TYK-nu 卵巣がん細胞を 200 万移植した。2 週間後、移植した腫瘍の大きさが約 30 mm<sup>2</sup> に達した時点で、マウスを無作為化し、ビヒクル (PBS)、p53 Y220C を標的とする関

40

50

係性のないTCRで形質導入したT細胞1,000万、又は4141 IVS TCRで形質導入したT細胞1,000万で処理した(N=5)。ACT処理後、これらマウスにヒト組換えインターロイキン2(IL-2)(180,000IU)を1日3回静脈内注射した。このプロセスを図7Aに示す。ACT後30日間にわたり、マウスの平均腫瘍サイズを評価し、4141-TCR1a2で形質導入した細胞で処理したマウスの平均腫瘍サイズと比較した。この実験は、2頭の健常ドナー(健常ドナー1及び健常ドナー2)からの形質導入PBLを用いて2回行った。これら実験の結果を図7B~7Cに示す。4141 IVS TCR発現T細胞で処理したマウスは、健常ドナー1及び健常ドナー2の両実験において、PBS又は関係性のないTCRで処理したマウスに比べて腫瘍成長の著しい遅延を示した。4141 IVS TCRによる処理の結果、4141-TCR1a2による処理と比較して優れた抗腫瘍活性が得られた。

10

【0182】

刊行物、特許出願及び特許を含む、本明細書に引用した全ての参考文献は、それぞれの参考文献が参照によって組込まれることが個々に且つ具体的に示されているのと同程度及びその全体が本明細書に記載されているのと同程度まで、参照によって本明細書に組込まれる。

【0183】

本発明の説明に関して(特に、以下の特許請求の範囲に関して)、用語「a」及び「an」及び「the」及び「少なくとも1」並びに同様の指示対象の使用は、本明細書に特記しないか文脈と明らかに矛盾しない限り、単数形及び複数形の両方をカバーすると解釈すべきである。1以上の事項の列挙の後での用語「少なくとも1」の使用(例えば、「A及びBのうち少なくとも1」)は、本明細書に特記しないか又は文脈と明らかに矛盾しない限り、列挙した事項から選択された1の事項(A若しくはB)又は列挙した事項のうち2以上の任意の組合せ(A及びB)を意味すると解釈すべきである。用語「含む(comprising)」、「有する(having)」、「含む(including)」及び「含有する(containing)」は、特記しない限り、オープンエンドの用語(即ち、「～を含むがそれらに限定されない」を意味する)と解釈すべきである。本明細書の値の範囲の記述は、本明細書に特記しない限り、その範囲内に入る各個別の値に個々に言及する省略方法として働くことのみを意図しており、各個別の値は、それが本明細書に個々に記述されているかのように本明細書に組込まれる。本明細書に記載の全ての方法は、本明細書に特記しないか又は文脈と特に明らかに矛盾しない限り、任意の好適な順序で実施できる。本明細書に提供される任意の及び全ての例又は例示的語句(例、「等(such as)」)の使用は、本発明をよりよく説明することのみを意図しており、特段特許請求されない限り、本発明の範囲に限定を課すものではない。本明細書の全ての語句は、特許請求されていない任意の要素を本発明の実施に必須のものとして示していると解釈すべきではない。

20

30

【0184】

発明を実施するための、発明者が知る最良の形態を含む、本発明の好ましい態様が本明細書に記載される。これらの好ましい態様のバリエーションは、上述の説明を読めば当業者に明らかとなり得る。本発明者らは、当業者がかかるバリエーションを適宜用いることを予期しており、本発明者らは、本明細書に具体的に記載されたのとは異なる方法で本発明が実施されることを意図している。従って、本発明は、適用法によって許容されるとおり、本明細書に添付した特許請求の範囲に記載の主題の全ての改変及び均等物を含む。更に、その全ての可能なバリエーションでの上記要素の任意の組合せが、本明細書に特記しないか又は文脈と特に明らかに矛盾しない限り、本発明によって包含される。

40

【図面】

【図 1 A】

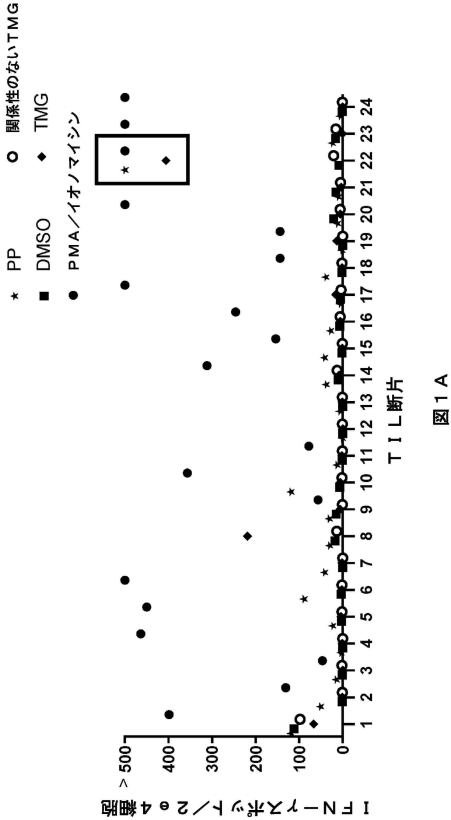


図 1 A

【図 1 C】

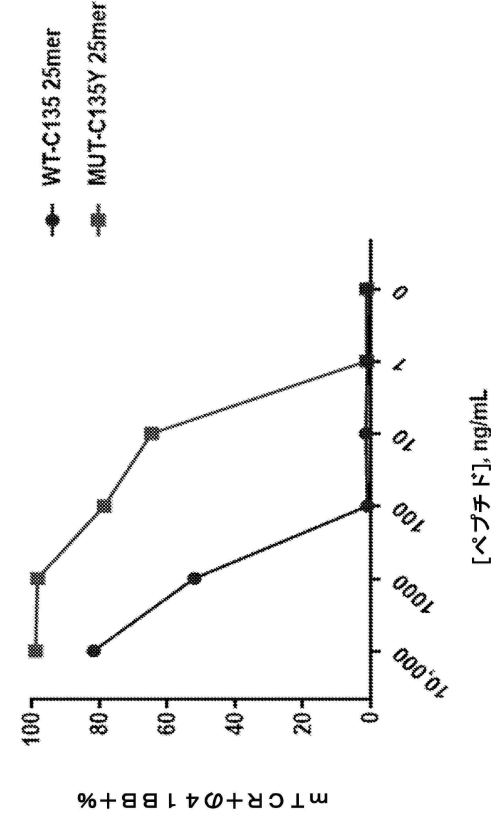


図 1 C

【図 1 B】

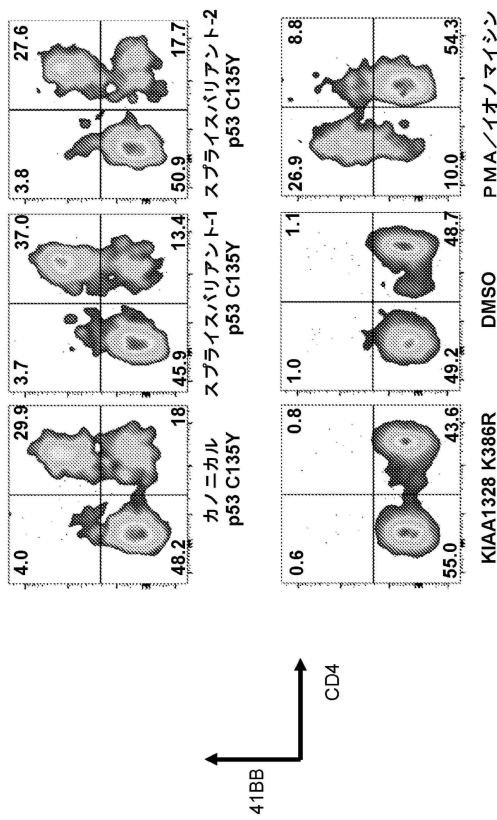


図 1 B

【図 2】

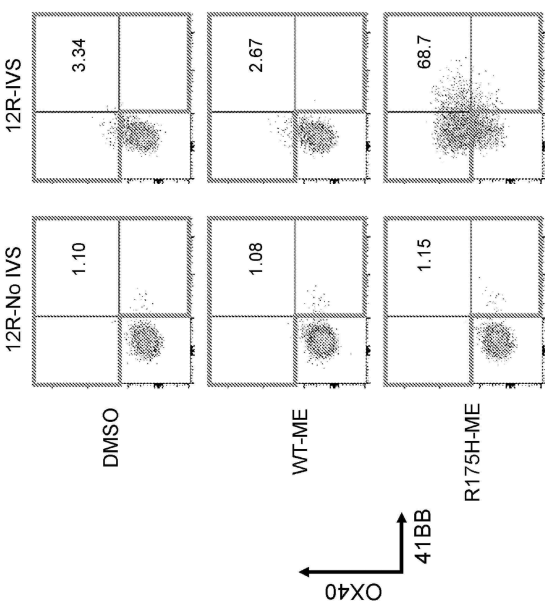


図 2

10

20

30

40

50

【図 3 A】

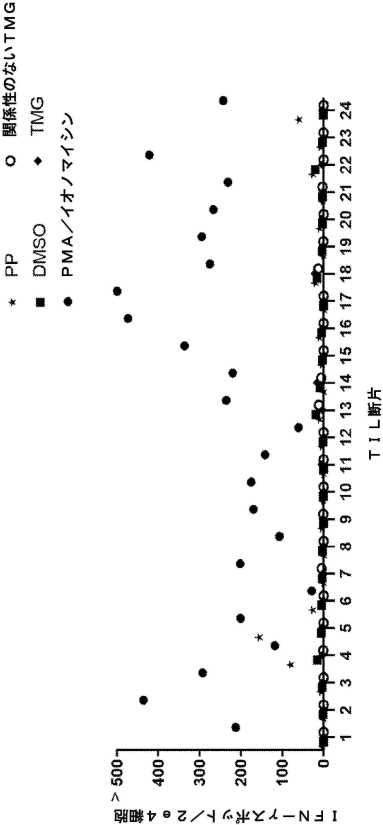


図 3 A

【図 3 B】

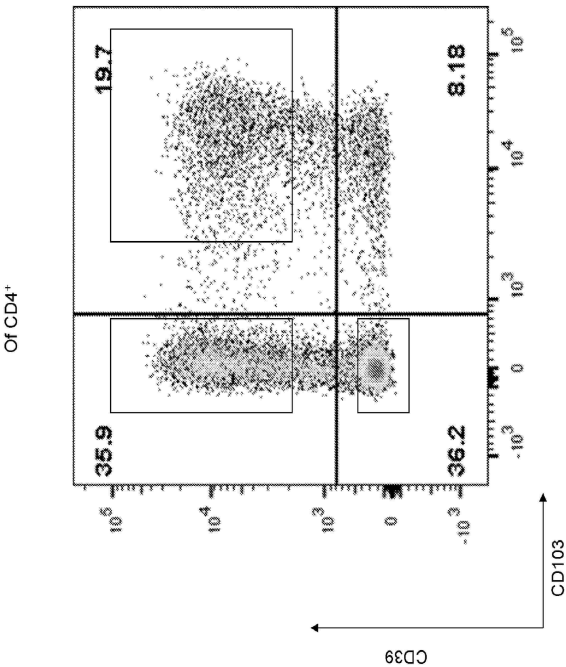


図 3 B

【図 3 C】

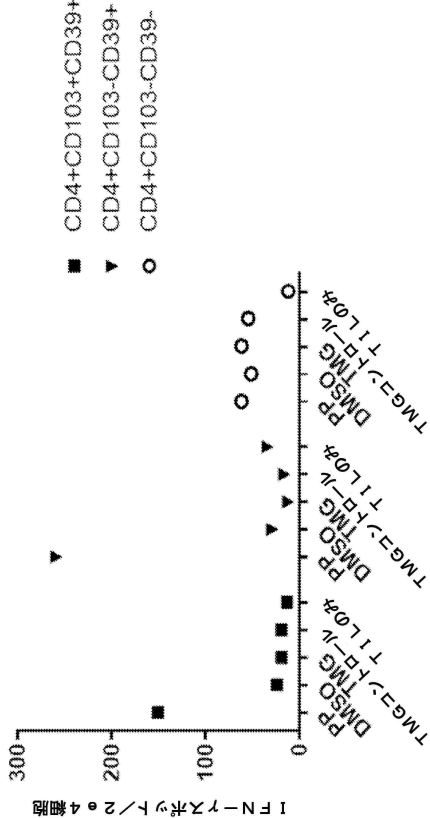


図 3 C

【図 3 D】

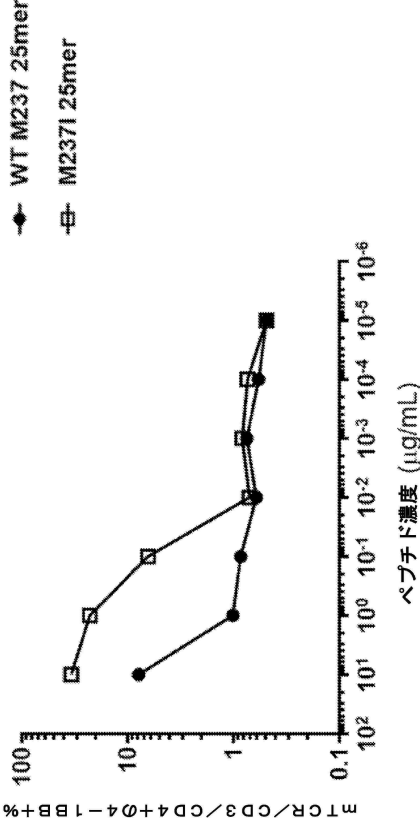


図 3 D

10

20

30

40

50

【図 3 E】

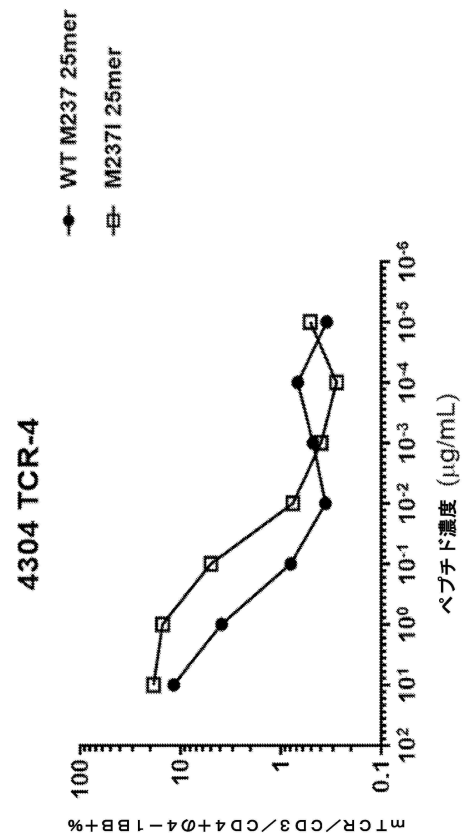


図 3 E

【図 3 F】

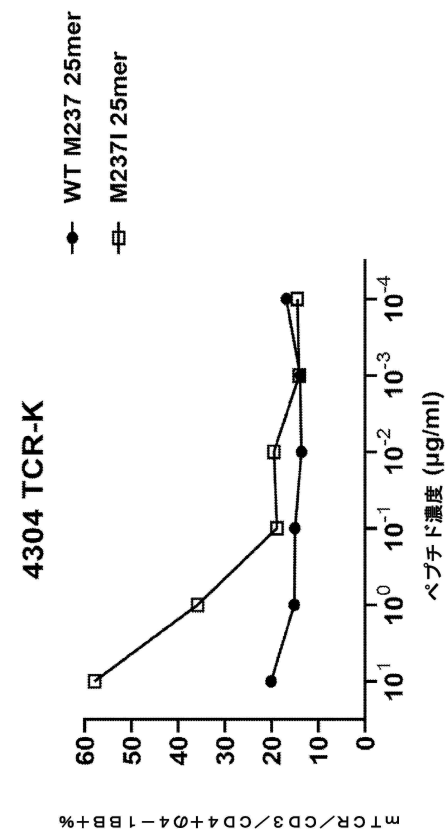
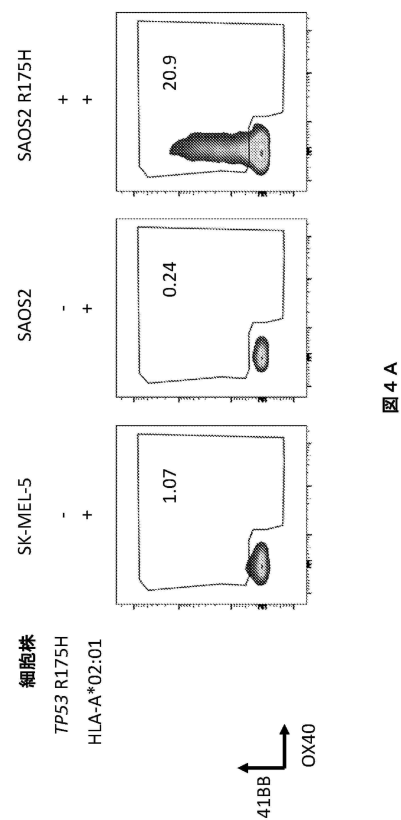
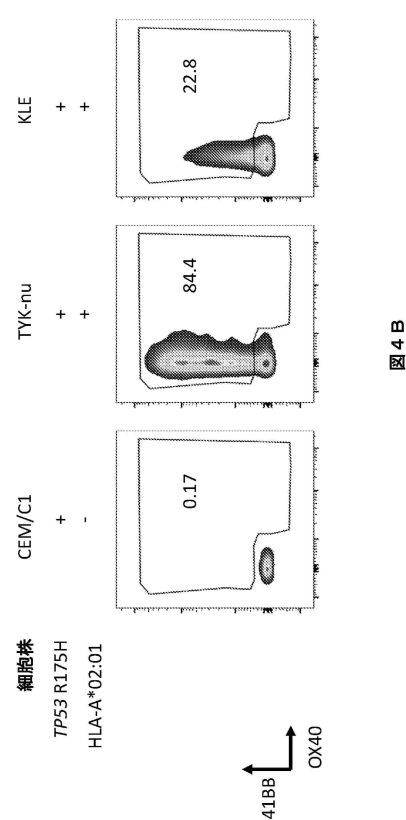


図 3 F

【図 4 A】



【図 4 B】



10

20

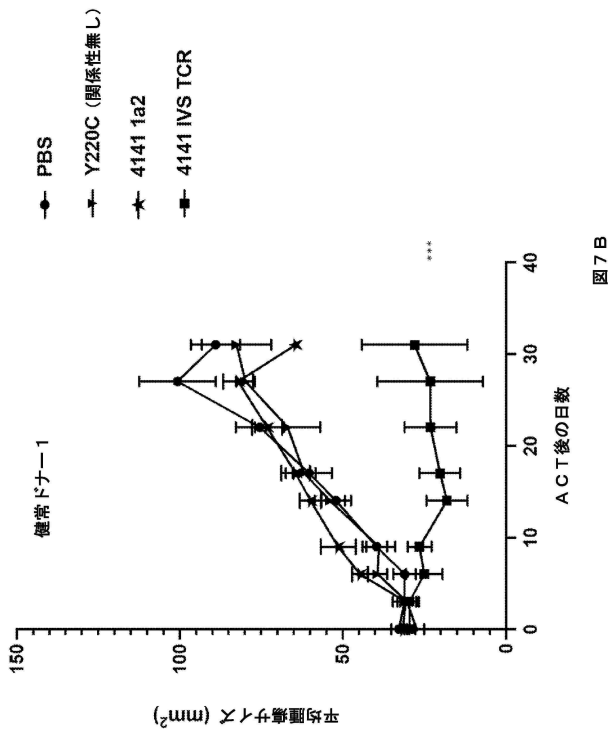
30

40

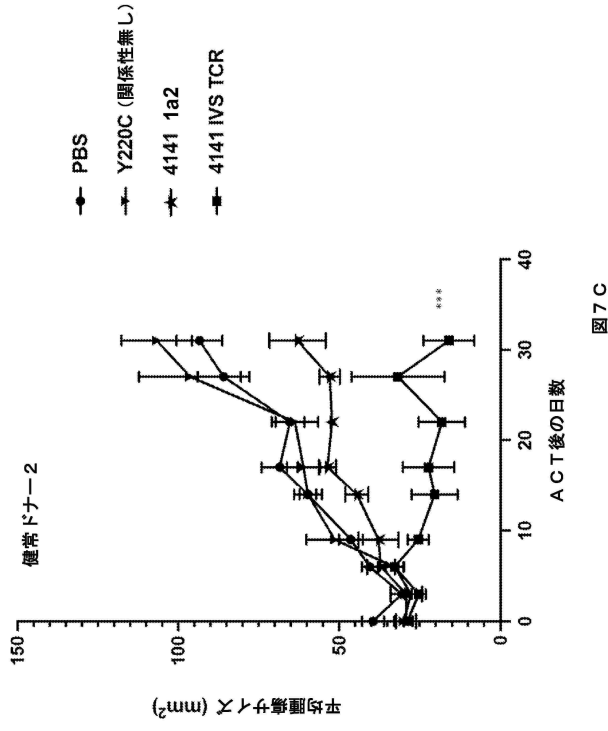
50



【図 7 B】



【図 7 C】



【配列表】

2024517884000001.app

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
**PCT/US2022/028066**

|                                                                                                                                                                                              |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>                                                                                                                                                   |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| INV. C07K14/725                                                                                                                                                                              | C07K14/47                                                                                             | A61P35/00 A61K35/17 G01N33/574                                                                                                                                                                                                                   |
| ADD.                                                                                                                                                                                         |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                            |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b>                                                                                                                                                                    |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br><b>A61P G01N A61K C07K</b>                                                                      |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched                                                                |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br><b>EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, CHEM ABS Data, BIOSIS</b> |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Category*                                                                                                                                                                                    | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                    | Relevant to claim No.                                                                                                                                                                                                                            |
| X                                                                                                                                                                                            | WO 2020/264269 A1 (US HEALTH [US]; DENIGER DREW C [US] ET AL.)<br>30 December 2020 (2020-12-30)       | 1-39                                                                                                                                                                                                                                             |
| Y                                                                                                                                                                                            | See e.g. the abstract; paragraphs 102, 131, 133-137 or 143; claim 32; Example 12                      | 1-39                                                                                                                                                                                                                                             |
| X                                                                                                                                                                                            | WO 2019/067243 A1 (US HEALTH [US]; DENIGER DREW C [US] ET AL.)<br>4 April 2019 (2019-04-04)           | 1-39                                                                                                                                                                                                                                             |
| Y                                                                                                                                                                                            | See e.g. claims 3 or 19; Tables 42 and 52; paragraphs 133, 135-139, 149, or 232                       | 1-39                                                                                                                                                                                                                                             |
| X                                                                                                                                                                                            | WO 2019/067242 A1 (US HEALTH [US])<br>4 April 2019 (2019-04-04)                                       | 1-39                                                                                                                                                                                                                                             |
| Y                                                                                                                                                                                            | See e.g. Table 36; Figures 1, 38, 41, 43, 45, 48, 54; Examples 1 and 14; SEQ ID NOs: 548, 196, 35, 85 | 1-39                                                                                                                                                                                                                                             |
|                                                                                                                                                                                              | -----<br>-/--                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.                                  |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| * Special categories of cited documents :                                                                                                                                                    |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance                                                                                     |                                                                                                       | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention                                              |
| "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date                                                                                                    |                                                                                                       | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone                                                                     |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)                      |                                                                                                       | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means                                                                                                                 |                                                                                                       | "&" document member of the same patent family                                                                                                                                                                                                    |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                                                                                       |                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Date of the actual completion of the international search<br><b>19 September 2022</b>                                                                                                        |                                                                                                       | Date of mailing of the international search report<br><b>29/09/2022</b>                                                                                                                                                                          |
| Name and mailing address of the ISA/<br>European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2<br>NL - 2280 HV Rijswijk<br>Tel. (+31-70) 340-2040,<br>Fax: (+31-70) 340-3016                         |                                                                                                       | Authorized officer<br><b>Valcárcel, Rafael</b>                                                                                                                                                                                                   |

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

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2022/028066

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                       |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Relevant to claim No. |
| X                                                    | WINIFRED LO ET AL: "Immunologic Recognition of a Shared p53 Mutated Neoantigen in a Patient with Metastatic Colorectal Cancer",<br>CANCER IMMUNOLOGY RESEARCH,<br>vol. 7, no. 4,<br>1 February 2019 (2019-02-01), pages<br>534-543, XP055730133,<br>US<br>ISSN: 2326-6066, DOI:<br>10.1158/2326-6066.CIR-18-0686                                                                                                                                                                                                                            | 1-39                  |
| Y                                                    | See e.g. the abstract                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 1-39                  |
| X                                                    | DAICHAO WU ET AL: "Supplementary Information: Structural basis for oligoclonal T cell recognition of a shared p53 cancer neoantigen",<br>NATURE COMMUNICATIONS,<br>vol. 11, no. 1, 9 June 2020 (2020-06-09),<br>XP055730715,<br>DOI: 10.1038/s41467-020-16755-y                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1-39                  |
| Y                                                    | See supplementary Tables 1, 5 and 6                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1-39                  |
| Y                                                    | FEI-ZHOU JIANG ET AL: "Mutant p53 induces EZH2 expression and promotes epithelial?mesenchymal transition by disrupting p68-Drosha complex assembly and attenuating miR-26a processing",<br>ONCOTARGET,<br>vol. 6, no. 42,<br>29 December 2015 (2015-12-29),<br>XP055550514,<br>DOI: 10.18632/oncotarget.6350<br>See e.g. the abstract; page 44664, right column, second paragraph; figure 4                                                                                                                                                 | 1-39                  |
| Y                                                    | ZHUANG JIE ET AL: "Mitochondrial disulfide relay mediates translocation of p53 and partitions its subcellular activity",<br>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES,<br>vol. 110, no. 43,<br>22 October 2013 (2013-10-22), pages<br>17356-17361, XP55943716,<br>ISSN: 0027-8424, DOI:<br>10.1073/pnas.1310908110<br>Retrieved from the Internet:<br>URL:http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1310908110><br>See e.g. page 17358, left column, first paragraph and right column, first paragraph; page 17360, left column, first paragraph | 1-39                  |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2022/028066

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                       |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                            | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                               | Relevant to claim No. |
| A                                                    | WO 2020/210202 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]) 15 October 2020 (2020-10-15)<br>See SEQ ID NOS: 31, 44, 74 and 94<br>-----                                                                                                                                                                                                  | 1-39                  |
| A                                                    | ME LE NOURS ET AL: "Atypical natural killer T-cell receptor recognition of CD1d&#8211;lipid antigens", NATURE COMMUNICATIONS, vol. 7, 15 February 2016 (2016-02-15), pages 1-14, XP055683833, DOI: 10.1038/ncomms10570<br>See Table 1 on page 4<br>-----                                                                         | 1-39                  |
| A                                                    | US 2018/282808 A1 (MILLA MARCOS E [US] ET AL) 4 October 2018 (2018-10-04)<br>See e.g. Table 1<br>-----                                                                                                                                                                                                                           | 1-39                  |
| Y                                                    | WANG PING-YUAN ET AL: "Increased Oxidative Metabolism in the Li-Fraumeni Syndrome", NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, vol. 368, no. 11, March 2013 (2013-03), pages 1027-1032, XP009539245, See e.g. page 1031, left column, 1st paragraph; page 1032, right column, 1st paragraph<br>-----                                       | 1-39                  |
| Y                                                    | LU X ET AL: "The gain of function of p53 cancer mutant in promoting mammary tumorigenesis", ONCOGENE, NATURE PUBLISHING GROUP UK, LONDON, vol. 32, no. 23, 23 July 2012 (2012-07-23), pages 2900-2906, XP037749094, ISSN: 0950-9232, DOI: 10.1038/ONC.2012.299 [retrieved on 2012-07-23]<br>See e.g. the abstract<br>-----       | 1-39                  |
| Y                                                    | LIU D P ET AL: "A common gain of function of p53 cancer mutants in inducing genetic instability", ONCOGENE, NATURE PUBLISHING GROUP UK, LONDON, vol. 29, no. 7, 2 November 2009 (2009-11-02), pages 949-956, XP037743520, ISSN: 0950-9232, DOI: 10.1038/ONC.2009.376 [retrieved on 2009-11-02]<br>See e.g. the abstract<br>----- | 1-39                  |

|                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                        |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | International application No.<br><br>PCT/US2022/028066 |
| <b>Box No. I</b>                   | <b>Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                        |
| 1.                                 | With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:<br><br>a. <input checked="" type="checkbox"/> forming part of the international application as filed:<br><div><input checked="" type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file.<br/><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file.</div><br>b. <input type="checkbox"/> furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.<br><br>c. <input type="checkbox"/> furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:<br><div><input type="checkbox"/> in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).<br/><input type="checkbox"/> on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).</div><br>2. <input type="checkbox"/> In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.<br><br>3. Additional comments: |                                                        |

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2022/028066

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

**see additional sheet**

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:  
**1-39 (partially)**
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims;; it is covered by claims Nos.:

## Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2022/028066

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-39(partially)

It corresponds to the isolated T cell receptor (TCR) having the CDRs of the alpha chain of SEQ ID NOS: 2, 3 and 4; the CDRs of the beta chain of SEQ ID NOS: 5, 6 and 7, the alpha chain having the SEQ ID NO: 8 (without signal peptide) or SEQ ID NO: 10 (with signal peptide), the beta chain having the SEQ ID NO: 9 (without signal peptide) or SEQ ID NO: 11 (with signal peptide), the vectors encoding said chains are disclosed in SEQ ID NOS 12-15 and the corresponding TCR expression cassette has SEQ ID NO: 16.

In summary, invention 1 relates to SEQ ID NOS: 1-16.

The TCR is designated 4316-D and is restricted by HLA-DRA\*01:01/HLA-DRB1\*07:01 heterodimer with specificity for the p53 C135Y mutant.

Examples 1, 2, 9 and 15 relate entirely to this invention and examples 7 and 8 relate partially to this invention.

It is noted that Example 15 discloses autologous tumor cell recognition by the p563 C135Y-reactive 4316-D TCR, but anti-tumor activity is only demonstrated on example 16 for the TCR of invention 2.

While independent claim 1 refers to the TCR defined by only the 3 CDRs of the alpha chain of the 3 CDRs of the beta chain, or the combination of the 6 CDRs, or by the entire alpha and beta chains, claim 10 refers to a polypeptide comprising a functional portion of the TCR (the meaning of functional portion is however NOT clear).

Invention 1 also comprises nucleic acid sequences encoding the above recited amino acid sequences, vectors comprising these nucleic acids, host cells comprising the nucleic acid sequences, a method of producing the TCRs, pharmaceutical compositions comprising the TCRs, the polypeptides or the nucleic acid sequences, a method of detecting the presence of cancer. Medical use for the treatment or prevention of cancer of the above listed products or the population of cells for the use in the treatment or prevention of cancer.

---

2. claims: 1-39(partially)

As subject (invention) 1 but for the TCR designated 4141 IVS, SEQ ID NOS 17-31.

---

3. claims: 1-39(partially)

As subject (invention) 1 but for the TCR designated 4304 TCR-2, SEQ ID NOS 32-46.

---

4. claims: 1-39(partially)

10

20

30

40

50

International Application No. PCT/US2022 /028066

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

As subject (invention) 1 but for the TCR designated 4304  
TCR-4, SEQ ID NOS 47-61.  
---

10

## 5. claims: 1-39(partially)

As subject (invention) 1 but for the TCR designated 4304  
TCR-Z, SEQ ID NOS 62-76.  
---

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/028066

| Patent document<br>cited in search report |  | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|--|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 2020264269 A1                          |  | 30-12-2020          | AU 2020308004 A1           | 03-02-2022          |
|                                           |  |                     | BR 112021026408 A2         | 08-02-2022          |
|                                           |  |                     | CA 3144070 A1              | 30-12-2020          |
|                                           |  |                     | CN 114341171 A             | 12-04-2022          |
|                                           |  |                     | EP 3990481 A1              | 04-05-2022          |
|                                           |  |                     | JP 2022538148 A            | 31-08-2022          |
|                                           |  |                     | KR 20220047969 A           | 19-04-2022          |
|                                           |  |                     | TW 202108609 A             | 01-03-2021          |
|                                           |  |                     | WO 2020264269 A1           | 30-12-2020          |
| -----                                     |  |                     |                            |                     |
| WO 2019067243 A1                          |  | 04-04-2019          | AU 2018342246 A1           | 16-04-2020          |
|                                           |  |                     | BR 112020006012 A2         | 06-10-2020          |
|                                           |  |                     | CA 3077024 A1              | 04-04-2019          |
|                                           |  |                     | CN 111386282 A             | 07-07-2020          |
|                                           |  |                     | CR 20200170 A              | 23-11-2020          |
|                                           |  |                     | EA 202090757 A1            | 21-08-2020          |
|                                           |  |                     | EP 3688027 A1              | 05-08-2020          |
|                                           |  |                     | IL 273515 A                | 31-05-2020          |
|                                           |  |                     | JP 2021500010 A            | 07-01-2021          |
|                                           |  |                     | KR 20200064110 A           | 05-06-2020          |
|                                           |  |                     | MA 50651 A                 | 05-08-2020          |
|                                           |  |                     | SG 11202002636P A          | 29-04-2020          |
|                                           |  |                     | US 2020277352 A1           | 03-09-2020          |
|                                           |  |                     | WO 2019067243 A1           | 04-04-2019          |
| -----                                     |  |                     |                            |                     |
| WO 2019067242 A1                          |  | 04-04-2019          | AU 2018342245 A1           | 16-04-2020          |
|                                           |  |                     | CA 3080274 A1              | 04-04-2019          |
|                                           |  |                     | CN 111344394 A             | 26-06-2020          |
|                                           |  |                     | EP 3688142 A1              | 05-08-2020          |
|                                           |  |                     | IL 273516 A                | 31-05-2020          |
|                                           |  |                     | JP 2020534839 A            | 03-12-2020          |
|                                           |  |                     | KR 20200065026 A           | 08-06-2020          |
|                                           |  |                     | SG 11202002635R A          | 29-04-2020          |
|                                           |  |                     | US 2020316121 A1           | 08-10-2020          |
|                                           |  |                     | WO 2019067242 A1           | 04-04-2019          |
| -----                                     |  |                     |                            |                     |
| WO 2020210202 A1                          |  | 15-10-2020          | US 2022175899 A1           | 09-06-2022          |
|                                           |  |                     | WO 2020210202 A1           | 15-10-2020          |
| -----                                     |  |                     |                            |                     |
| US 2018282808 A1                          |  | 04-10-2018          | NONE                       |                     |
| -----                                     |  |                     |                            |                     |

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

## テーマコード (参考)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)  
C 1 2 N 1/15 (2006.01)  
C 0 7 K 14/725 (2006.01)  
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)  
A 6 1 P 35/00 (2006.01)  
A 6 1 P 17/00 (2006.01)  
A 6 1 K 38/17 (2006.01)  
A 6 1 K 48/00 (2006.01)  
A 6 1 K 35/76 (2015.01)  
A 6 1 K 35/17 (2015.01)  
A 6 1 K 39/395 (2006.01)  
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

C 1 2 N 1/19  
C 1 2 N 1/15  
C 0 7 K 14/725  
C 1 2 Q 1/02  
A 6 1 P 35/00  
A 6 1 P 17/00  
A 6 1 K 38/17  
A 6 1 K 48/00  
A 6 1 K 35/76  
A 6 1 K 35/17  
A 6 1 K 39/395  
A 6 1 K 39/395  
A 6 1 K 31/7088

4 C 0 8 7  
4 H 0 4 5

E

T

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

(74)代理人 100121212

弁理士 田村 弥栄子

(74)代理人 100174296

弁理士 當麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100152308

弁理士 中 正道

(74)代理人 100201558

弁理士 亀井 恵二郎

(72)発明者 キム、サンヒョン

アメリカ合衆国、2 0 8 5 2 メリーランド州、ロックヴィル、パイン ハイヴン テラス 1 0 7 1 2

(72)発明者 ザカラキス、ニコラオス

アメリカ合衆国、2 0 8 7 8 メリーランド州、ゲイザースバーグ、エリントン ブールヴァード  
1 1 3

(72)発明者 ローゼンバーグ、スティーヴン エー。

アメリカ合衆国、2 0 8 5 4 メリーランド州、ポトマック、アイアン ゲート ロード 1 0 1 0 4

(72)発明者 ロウリー、ザ サード、フランク ジェイ。

アメリカ合衆国、2 0 8 7 1 メリーランド州、クラークスバーグ、マーツ ストリート 1 3 0 5 2

(72)発明者 パークハースト、マリア アール。

アメリカ合衆国、2 1 0 4 3 メリーランド州、エリコット シティ、グレース コート 4 9 3 8

F ターム (参考) 4B063 QA19 QQ02 QR80 QS28 QX01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AA94X AB01 BA02 CA24 CA44

4C084 AA01 AA02 AA13 BA01 CA18 DC50 MA66 NA05 NA13 ZA89  
ZB26

4C085 AA13 AA14 BB31 BB41 BB42 BB43 CC22 DD62 EE01 GG02

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA03 MA04 MA66 NA05 NA13  
ZA89 ZB264C087 AA01 AA02 BB37 BB64 BB65 BC83 CA12 MA66 NA05 NA13  
ZA89 ZB26

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 DA50 EA20 FA72 FA74