

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6921001号
(P6921001)

(45) 発行日 令和3年8月18日(2021.8.18)

(24) 登録日 令和3年7月29日(2021.7.29)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13
C 1 2 N 15/85 (2006.01)	C 1 2 N 15/85 Z
C O 7 K 14/705 (2006.01)	C O 7 K 14/705 Z N A
C O 7 K 16/30 (2006.01)	C O 7 K 16/30
C O 7 K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00

請求項の数 49 (全 198 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-553223 (P2017-553223)	(73) 特許権者	593141953 ファイザー・インク アメリカ合衆国10017ニューヨーク州 ニューヨーク市イースト・フォーティーセ カンド・ストリート235
(86) (22) 出願日	平成28年3月30日(2016.3.30)	(74) 代理人	100145403 弁理士 山尾 憲人
(65) 公表番号	特表2018-512153 (P2018-512153A)	(74) 代理人	100122301 弁理士 富田 憲史
(43) 公表日	平成30年5月17日(2018.5.17)	(74) 代理人	100157956 弁理士 稲井 史生
(86) 国際出願番号	PCT/IB2016/051808	(74) 代理人	100170520 弁理士 笹倉 真奈美
(87) 国際公開番号	W02016/166630		
(87) 国際公開日	平成28年10月20日(2016.10.20)		
審査請求日	平成31年3月28日(2019.3.28)		
(31) 優先権主張番号	62/146,825		
(32) 優先日	平成27年4月13日(2015.4.13)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/286,473		
(32) 優先日	平成28年1月25日(2016.1.25)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 B細胞成熟抗原を標的にするキメラ抗原受容体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞外リガンド結合ドメイン、第1の膜貫通ドメイン、細胞内シグナリングドメイン、およびヒンジドメインを含むB細胞成熟抗原(BCMA)特異的キメラ抗原受容体(CAR)であって、細胞外ドメインは、3種の相補性決定領域(CDR)を含む重鎖可変(VH)領域、および3種のCDRを含む軽鎖可変(VL)領域を含む、単鎖Fv断片(scFv)を含み、ここに、

(a) VH領域が配列番号33に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列番号34に示されるアミノ酸配列を含む、

(b) VH領域が配列番号72に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列番号73に示されるアミノ酸配列を含む、

(c) VH領域が配列番号39に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列番号40に示されるアミノ酸配列を含む、

(d) VH領域が配列番号76に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列番号77に示されるアミノ酸配列を含む、

(e) VH領域が配列番号83に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列番号84に示されるアミノ酸配列を含む、

(f) VH領域が配列番号92に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列番号93に示されるアミノ酸配列を含む、

(g) VH領域が配列番号25に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、VL領域が配列

10

20

番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む、

(h) V H 領域が配列番号 112 に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、V L 領域が配列番号 38 に示されるアミノ酸配列を含む、または

(i) V H 領域が配列番号 8 に示されるアミノ酸配列を含み、かつ、V L 領域が配列番号 80 に示されるアミノ酸配列を含む、

B 細胞成熟抗原 (B C M A) 特異的キメラ抗原受容体 (C A R) 。

【請求項 2】

V H 領域が、配列番号 150、151、もしくは 152 に示したアミノ酸配列を含む V H C D R 1、配列番号 153 もしくは 154 に示したアミノ酸配列を含む V H C D R 2、および配列番号 155 に示したアミノ酸配列を含む V H C D R 3 を含み、ならびに、V L 領域が、配列番号 209 に示した配列を含む V L C D R 1、配列番号 221 に示したアミノ酸配列を含む V L C D R 2、および配列番号 222 に示したアミノ酸配列を含む V L C D R 3 を含む、請求項 1 に記載の B C M A 特異的 C A R 。

10

【請求項 3】

V H 領域が、配列番号 33 に示したアミノ酸配列を含み、V L 領域が、配列番号 34 に示したアミノ酸配列を含む、請求項 2 に記載の B C M A 特異的 C A R 。

【請求項 4】

V H 領域が、配列番号 151、156 または 157 に示したアミノ酸配列を含む V H C D R 1、配列番号 158 または 159 に示したアミノ酸配列を含む V H C D R 2、および配列番号 155 に示したアミノ酸配列を含む V H C D R 3 を含み、V L 領域が、配列番号 209 に示した配列を含む V L C D R 1、配列番号 221 に示したアミノ酸配列を含む V L C D R 2、および配列番号 225 に示したアミノ酸配列を含む V L C D R 3 を含む、請求項 1 に記載の B C M A 特異的 C A R 。

20

【請求項 5】

V H 領域が、配列番号 112 に示したアミノ酸配列を含み、V L 領域が、配列番号 38 に示したアミノ酸配列を含む、請求項 4 に記載の B C M A 特異的 C A R 。

【請求項 6】

V H 領域が、配列番号 33、72、39、76、83、92、25、112 もしくは 8 に示した配列、または C D R 内にはない残基中に 1 個もしくは数個の保存的アミノ酸置換を有するそのバリエーションを含み、かつ、あるいは V L 領域が、配列番号 34、73、40、77、84、93、18、38 もしくは 80 に示したアミノ酸配列、または C D R 内にはないアミノ酸中に 1 個もしくは数個のアミノ酸置換を有するそのバリエーションを含む、請求項 1 に記載の B C M A 特異的 C A R 。

30

【請求項 7】

各 C D R が、C D R の K a b a t、C h o t h i a、拡張、A b M、接触、またはコンホメーション定義に従って定義されている、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の B C M A 特異的 C A R 。

【請求項 8】

細胞内シグナリングドメインが、C D 3 シグナリングドメインを含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の B C M A 特異的 C A R 。

40

【請求項 9】

細胞内シグナリングドメインが、4 - 1 B B ドメインを含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の B C M A 特異的 C A R 。

【請求項 10】

第 2 の細胞内シグナリングドメインをさらに含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の B C M A 特異的 C A R 。

【請求項 11】

第 2 の細胞内シグナリングドメインが、4 - 1 B B ドメインを含む、請求項 10 に記載の B C M A 特異的 C A R 。

【請求項 12】

50

ヒンジドメインが、ヒトCD8 ヒンジ、IgG1ヒンジ、およびFcRIIIヒンジからなる群から選択される、請求項1から11のいずれか一項に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項13】

配列番号344に示したアミノ酸配列を含む、請求項1に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項14】

CD20エピトープをさらに含む、請求項1から13のいずれか一項に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項15】

CD20エピトープが、配列番号397または配列番号398に示したアミノ酸配列を含む、請求項14に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項16】

第1の膜貫通ドメインが、CD8 鎖膜貫通ドメインを含む、請求項1から15のいずれか一項に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項17】

BCMAに特異的でない別の細胞外リガンド結合ドメインをさらに含む、請求項1から16のいずれか一項に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項18】

細胞外リガンド結合ドメイン、第1の膜貫通ドメイン、および細胞内シグナリングドメインが、単一ポリペプチド上にある、請求項1から17のいずれか一項に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項19】

第2の膜貫通ドメインをさらに含み、第1の膜貫通ドメインおよび細胞外リガンド結合ドメインは、第1のポリペプチド上にあり、第2の膜貫通ドメインおよび細胞内シグナリングドメインは、第2のポリペプチド上にあり、第1の膜貫通ドメインは、高親和性IgE受容体(FcRI)の鎖由来の膜貫通ドメインを含み、第2の膜貫通ドメインは、FcRIの または 鎖由来の膜貫通ドメインを含む、請求項1から11のいずれか一項に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項20】

共刺激分子由来の細胞内シグナリングドメインに融合した第3の膜貫通ドメインを含む第3のポリペプチドをさらに含み、第3の膜貫通ドメインは、FcRIの または 鎖由来の膜貫通ドメインを含む、請求項19に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項21】

配列番号318の配列を有するCD8 シグナルペプチド、配列番号33の配列を有するVH領域、配列番号333の配列を有するGSリンカー、配列番号34の配列を有するVL領域、配列番号398の配列を有するCD20エピトープ、配列番号320の配列を有するCD8 ヒンジ、配列番号322の配列を有するCD8 膜貫通ドメイン、配列番号323の配列を有する4-1BB細胞内シグナリングドメイン、および配列番号324の配列を有するCD3 細胞内シグナリングドメインを含む、請求項1に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項22】

配列番号318の配列を有するCD8 シグナルペプチド、配列番号112の配列を有するVH領域、配列番号333の配列を有するGSリンカー、配列番号38の配列を有するVL領域、配列番号398の配列を有するCD20エピトープ、配列番号320の配列を有するCD8 ヒンジ、配列番号322の配列を有するCD8 膜貫通ドメイン、配列番号323の配列を有する4-1BB細胞内シグナリングドメイン、および配列番号324の配列を有するCD3 細胞内シグナリングドメインを含む、請求項1に記載のBCMA特異的CAR。

【請求項23】

10

20

30

40

50

配列番号 318 の配列を有する CD8 シグナルペプチド、配列番号 112 の配列を有する VH 領域、配列番号 333 の配列を有する GS リンカー、配列番号 38 の配列を有する VL 領域、配列番号 320 の配列を有する CD8 ヒンジ、配列番号 322 の配列を有する CD8 膜貫通ドメイン、配列番号 323 の配列を有する 4-1BB 細胞内シグナリングドメイン、および配列番号 324 の配列を有する CD3 細胞内シグナリングドメインを含む、請求項 1 に記載の BCMA 特異的 CAR。

【請求項 24】

請求項 1 から 23 のいずれか一項に記載の BCMA 特異的 CAR をコードする核酸配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 25】

配列番号 399 に示した核酸配列を含む、請求項 24 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 26】

請求項 24 または 25 に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 27】

細胞表面膜において、請求項 1 から 23 のいずれか一項に記載の BCMA 特異的 CAR を発現する操作された免疫細胞。

【請求項 28】

BCMA に特異的でない別の CAR をさらに含む、請求項 27 に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 29】

自殺ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドをさらに含む、請求項 27 または 28 に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 30】

自殺ポリペプチドが RQR8 である、請求項 29 に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 31】

ナチュラルキラー (NK) 細胞、炎症性 T リンパ球、細胞傷害性 T リンパ球、調節性 T リンパ球、またはヘルパー T リンパ球に由来する、請求項 27 から 30 のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 32】

1 種または複数の内在性遺伝子の破壊をさらに含み、該内在性遺伝子が、TCR、TCR、CD52、グルココルチコイド受容体 (GR)、デオキシシチジンキナーゼ (dCK)、またはプログラム死 - 1 (PD-1) をコードする、請求項 27 から 31 のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 33】

健康ドナーから得られる、請求項 27 から 32 のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 34】

患者から得られる、請求項 27 から 32 のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 35】

医薬としての使用のための、請求項 27 から 34 のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞。

【請求項 36】

医薬が、多発性骨髄腫、悪性形質細胞新生物、ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫、カーレル病および骨髄腫症、形質細胞白血病、形質細胞腫、B 細胞前リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、B 細胞非ホジキンリンパ腫 (NHL)、急性骨髄性白血病 (AML)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性リンパ球性白血病 (ALL)、慢性骨髄性白血病 (CML)、濾胞性リンパ腫、パーキットリンパ腫、辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、大細胞リンパ腫、前駆 B リンパ芽球性リンパ腫、骨髄性白血病、ワルデンストレームマクログロブリン血症、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、縦隔 (胸腺) 原発大細胞型 B 細胞

10

20

30

40

50

リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、結節辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、T細胞/組織球豊富型大細胞型B細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(脚型)、高齢者のEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症に関連したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、ALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫、形質芽球性リンパ腫、HHV8関連多中心性カストルマン病において生じる大細胞型B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫とパーキットリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫と古典的ホジキンリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、ならびに他のB細胞関連リンパ腫からなる群から選択されたB細胞関連がんの処置における使用のためである、

10

【請求項37】

免疫細胞を操作する *ex vivo* 方法であって、

a. 免疫細胞を準備することと、

b. 請求項1~23のいずれか一項に記載のBCMA特異的CARをコードする少なくとも1種のポリヌクレオチドを前記細胞内に導入することを含む、方法。

【請求項38】

請求項37に記載の免疫細胞を操作する方法であって、

c. BCMAに特異的でない少なくとも1種の他のCARを前記細胞内に導入することを含む、方法。

20

【請求項39】

請求項27から34のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞を含む医薬組成物。

【請求項40】

BCMAを発現する悪性細胞に関連した状態の処置における使用のための、請求項39に記載の医薬組成物。

【請求項41】

状態が、がんである、請求項40に記載の医薬組成物。

【請求項42】

がんが、多発性骨髄腫、悪性形質細胞新生物、ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫、カーレル病および骨髄腫症、形質細胞白血病、形質細胞腫、B細胞前リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、B細胞非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性リンパ球性白血病(PLL)、急性リンパ球性白血病(ALL)、慢性骨髄性白血病(CML)、濾胞性リンパ腫、パーキットリンパ腫、辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、大細胞リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、骨髄性白血病、ワルデンストレームマクログロブリン血症、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、縦隔(胸腺)原発大細胞型B細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、結節辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、T細胞/組織球豊富型大細胞型B細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(脚型)、高齢者のEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症に関連したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、ALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫、形質芽球性リンパ腫、HHV8関連多中心性カストルマン病において生じる大細胞型B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫とパーキットリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫と古典的ホジキンリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、ならびに他のB細胞関連リンパ腫からなる群から選択されたB細胞関連がんである、請求項41に記載の医薬組成物。

30

40

【請求項43】

BCMAを発現する悪性細胞を有する対象における腫瘍増殖または進行の阻害における

50

使用のための、請求項 3 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 4】

対象における B C M A を発現する悪性細胞の転移の阻害における使用のための、請求項 3 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 5】

B C M A を発現する悪性細胞を有する対象における腫瘍退縮の誘導における使用のための、請求項 3 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 6】

前記使用が対象にヌクレオシド類似体療法を投与することをさらに含む、請求項 4 0 から 4 5 のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物。

10

【請求項 4 7】

ヌクレオシド類似体が、フルダラビン、シタラビンおよび/またはクロファラビンである、請求項 4 6 に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 4 8】

対象がヌクレオシド類似体療法を受けたことがあるか、または受けている、請求項 4 1 から 4 6 のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物。

【請求項 4 9】

ヌクレオシド類似体が、フルダラビン、シタラビンおよび/またはクロファラビンである、請求項 4 8 に記載の使用のための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

20

【技術分野】

【0001】

本発明は、キメラ抗原受容体 (C A R) に関する。 C A R は、免疫細胞特異性および反応性をリガンド結合ドメイン性質を活用して選択された標的にリダイレクトすることができる。特に、本発明は、 B 細胞成熟抗原に特異的に結合する C A R (B C M A 特異的 C A R) に関する。本発明はさらに、 B C M A 特異的 C A R をコードするポリヌクレオチド、および自己の表面で B C M A 特異的 C A R を発現する単離細胞に関する。本発明はさらに、自己の表面で B C M A 特異的 C A R を発現する免疫細胞を操作するための方法に関する。本発明は、 B 細胞リンパ腫および白血病の処置に特に有用である。本発明はさらに、 B C M A を発現する悪性細胞に関連した状態 (例えば、がん) を処置するための、 B C M A 特異的 C A R を含む免疫細胞 (B C M A 特異的 C A R - T 細胞)、 B C M A 特異的 C A R - T 細胞を含む組成物、および B C M A 特異的 C A R - T 細胞を使用する方法に関する。

30

【背景技術】

【0002】

多発性骨髄腫は、クローン性形質細胞の蓄積によって特徴付けられる悪性腫瘍である (例えば、 L o n i a l ら、 C l i n i c a l C a n c e r R e s .、 7 7 (6) : 1 2 6 4 ~ 1 2 7 7 (2 0 1 1) を参照)。 M M の現在の療法は、緩解をもたらすが、ほとんどすべての患者は、最終的に再発し、死亡することが多い (例えば、 R a j k u m a r、 N a t u r e R e v . C l i n i c a l O n c o l、 5 (8) : 4 7 9 ~ 4 9 1 (2 0 1 1) を参照)。

40

【0003】

悪性腫瘍関連抗原を認識するように遺伝的に修飾された T 細胞の養子移入は、がんを処置する新しい手法としての将来性を示している (例えば、 B r e n n e r ら、 C u r r e n t O p i n i o n i n I m m u n o l o g y、 2 2 (2) : 2 5 1 ~ 2 5 7 (2 0 1 0) ; R o s e n b e r g ら、 N a t u r e R e v i e w s C a n c e r、 8 (4) : 2 9 9 ~ 3 0 8 (2 0 0 8) を参照)。 T 細胞は、抗原認識部分および T 細胞活性化ドメインから構成される融合タンパク質である、キメラ抗原受容体 (C A R) を発現するように遺伝的に修飾することができる (例えば、 E s h h a r ら、 P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A、 9 0 (2) : 7 2 0 ~ 7 2 4 (1 9 9 3)、および S a d e l a i n ら、 C u r r . O p i n . I m m u n o l、 2 1 (2) : 2 1 5 ~ 2 2 3 (2

50

009)を参照)。

【0004】

B細胞成熟抗原(BCMA、CD269、またはTNFRSF17)は、腫瘍壊死因子受容体(TNFR)スーパーファミリーのメンバーである。BCMAは、t(4;16)転座を含有する悪性ヒトT細胞リンパ腫において同定された。その遺伝子は、B細胞系統において選択的に発現され、形質芽球および形質細胞、抗体分泌細胞において最高に発現される。BCMAは、それぞれ1 μ Mならびに16nMの親和性を伴って、2つのリガンド、B細胞活性化因子(BAFF)(Bリンパ球刺激物質(BlyS)およびAPOL関連白血球発現リガンド(TALL-1)とも呼ばれる)ならびに増殖誘導リガンド(APRIL)を結合させる。APRILまたはBAFFがBCMAに結合すると、NF- κ B、Elk-1、c-Jun N末端キナーゼ、およびp38マイトジェン活性化プロテインキナーゼを伴うシグナリングカスケードが促進され、それにより、細胞生存および増殖のためのシグナルが生じる。BCMAは、悪性B細胞、ならびに多発性骨髄腫、形質細胞腫、ホジキンリンパ腫、および慢性リンパ球性白血病を含めたBリンパ球を伴ういくつかのがんでも発現される。全身性エリテマトーデス(SLE)および関節リウマチなどの形質芽球が関与する自己免疫疾患では、BCMA発現抗体産生細胞は、自分自身を攻撃する自己抗体を分泌する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

多発性骨髄腫の場合では、毎年、約24,000の新しい症例が米国において新たに診断されており、この数は、米国において新たに診断される血液がんの約15%を占める。毎年、平均で11,000の死亡例が多発性骨髄腫から生じ、平均5年生存率は、約44%であり、生存期間中央値は、50~55カ月である。多発性骨髄腫の現在の処置は、形質細胞アポトーシスおよび/または破骨細胞活性の低下に焦点が置かれている(例えば、化学療法、サリドマイド、レナリドミド、ビスホスホネート、および/またはプロテアソーム阻害剤、例えば、ボルテゾミブ(VELCADE(登録商標))もしくはカルフィルゾミブなど)。しかし、多発性骨髄腫は、不治の疾患のままであり、ほとんどすべての患者は、これらの作用物質に対する耐性を発生させており、最終的には再発する。したがって、BCMA特異的CARおよびBCMA特異的CAR-T細胞を含む抗BCMAアンタゴニストの使用などの多発性骨髄腫の代替の処置は、優れた治療剤をもたらすはずである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

BCMAに結合するキメラ抗原受容体(CAR)が提供される。ある特定のBCMA特異的CARは、T細胞内で発現されてBCMAと接触するとT細胞を活性化する場合、有効であることが実証される。本明細書に提供されるBCMA特異的CARは、ヒトおよびカニクイザルBCMAを結合させることが有利である。本明細書に提供されるBCMA特異的CAR-T細胞は、BCMA発現細胞と接触すると、脱顆粒活性、インターフェロンガンマ産生の増大、および/または細胞傷害活性を呈することも有利である。

【0007】

一態様では、本発明は、細胞外リガンド結合ドメイン、第1の膜貫通ドメイン、および細胞内シグナリングドメインを含むBCMA特異的CARであって、細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列SYX₁MX₂(式中、X₁は、AもしくはPであり、X₂は、T、N、もしくはSである)(配列番号301)、GFTFX₁SY(式中、X₁は、GもしくはSである)(配列番号302)、またはGFTFX₁SYX₂MX₃(式中、X₁は、GもしくはSであり、X₂は、AもしくはPであり、X₃は、T、N、もしくはSである)(配列番号303)を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列AX₁X₂X₃X₄GX₅X₆X₇X₈YADX₉X₁₀KG(式中、X₁は、I、V、T、H、L、A、もしくはCであり、X₂は、S、D、G、T、I、L

、F、M、もしくはVであり、 X_3 は、G、Y、L、H、D、A、S、もしくはMであり、 X_4 は、S、Q、T、A、F、もしくはWであり、 X_5 は、GもしくはTであり、 X_6 は、N、S、P、Y、W、もしくはFであり、 X_7 は、S、T、I、L、T、A、R、V、K、G、もしくはCであり、 X_8 は、F、Y、P、W、H、もしくはGであり、 X_9 は、V、R、もしくはLであり、 X_{10} は、GもしくはTである)(配列番号305)、または $X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6$ (式中、 X_1 は、S、V、I、D、G、T、L、F、もしくはMであり、 X_2 は、G、Y、L、H、D、A、S、もしくはMであり、 X_3 は、S、G、F、もしくはWであり、 X_4 は、GもしくはSであり、 X_5 は、GもしくはTであり、 X_6 は、N、S、P、Y、もしくはWである)(配列番号306)を含むVH CDR2、および(iii)配列VSPIX $_1 X_2 X_3 X_4$ (式中、 X_1 は、AもしくはYであり、 X_2 は、AもしくはSであり、 X_3 は、G、Q、L、P、もしくはEである)(配列番号307)、またはYWP MX $_1 X_2$ (式中、 X_1 は、D、S、T、もしくはAであり、 X_2 は、I、S、L、P、もしくはDである)(配列番号308)を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/あるいは(b)(i)配列 $X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 X_6 X_7 X_8 X_9 X_{10} X_{11} X_{12}$ (式中、 X_1 は、R、G、W、A、もしくはCであり、 X_2 は、A、P、G、L、C、もしくはSであり、 X_3 は、S、G、もしくはRであり、 X_4 は、Q、C、E、V、もしくはIであり、 X_5 は、S、L、P、G、A、R、もしくはDであり、 X_6 は、V、G、もしくはIであり、 X_7 は、S、E、D、もしくはPであり、 X_8 は、S、P、F、A、M、E、V、N、D、もしくはYであり、 X_9 は、I、T、V、E、S、A、M、Q、Y、H、もしくはRであり、 X_{10} は、YもしくはFであり、 X_{11} は、L、W、もしくはPであり、 X_{12} は、A、S、もしくはGである)(配列番号309)を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列 $X_1 A S X_2 R A X_3$ (式中、 X_1 は、GもしくはDであり、 X_2 は、SもしくはIであり、 X_3 は、TもしくはPである)(配列番号310)を含むVL CDR2、および(iii)配列QQYX $_1 X_2 X_3 P X_4 T$ (式中、 X_1 は、G、Q、E、L、F、A、S、M、K、R、もしくはYであり、 X_2 は、S、R、T、G、V、F、Y、D、A、H、V、E、K、もしくはCであり、 X_3 は、W、F、もしくはSであり、 X_4 は、L、もしくはIである)(配列番号311)、またはQQYX $_1 X_2 X_3 P X_4$ (式中、 X_1 は、G、Q、E、L、F、A、S、M、R、K、もしくはYであり、 X_2 は、S、R、T、G、R、V、D、A、H、E、K、C、F、もしくはYであり、 X_3 は、W、S、もしくはFであり、 X_4 は、LもしくはIである)(配列番号312)を含むVL CDR3を含むVL領域を含む、BCMA特異的CARを提供する。

【0008】

別の態様では、本発明は、細胞外リガンド結合ドメイン、第1の膜貫通ドメイン、および細胞内シグナリングドメインを含むBCMA特異的CARであって、細胞外ドメインは、配列番号33、72、39、76、83、92、25、または8に示した配列を含む重鎖可変(VH)領域由来の3種のCDRを含むVH領域、および配列番号34、73、40、77、84、93、18、または80に示した配列を含む軽鎖可変(VL)領域由来の3種のCDRを含むVL領域を含む単鎖Fc断片(scFv)を含む、BCMA特異的CARを提供する。一部の実施形態では、VH領域は、配列番号33、72、39、76、83、92、25、もしくは8に示した配列、またはCDR内にはない残基中に1個もしくは数個の保存的アミノ酸置換を有するそのバリエーションを含み得、かつ/あるいはVL領域は、配列番号34、73、40、77、84、93、18、もしくは80に示したアミノ酸配列、またはCDR内にはないアミノ酸中に1個もしくは数個のアミノ酸置換を有するそのバリエーションを含みうる。

【0009】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号150、151、152、156、157、129、130、もしくは131に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号153、154、187、188、165、166、162、

10

20

30

40

50

159、190、191、169、154、139、140、132、もしくは133に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号155、161、134、もしくは137に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)配列番号209、249、226、251、262、271、217、もしくは377に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号221、252、もしくは210に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号222、225、227、253、263、272、216、もしくは214に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

【0010】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(i)配列番号150、151、もしくは152に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号153もしくは154に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号155に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号209に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号221に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号222に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

10

【0011】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号150、151、もしくは152に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号187もしくは188に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号155に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号249に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号221に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号225に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

20

【0012】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号150、151、もしくは152に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号165もしくは166に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号155に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号226に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号221に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号227に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

30

【0013】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号156、151、もしくは157に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号162もしくは159に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号161に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号251に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号252に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号253に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

40

【0014】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号156、151、もしくは157に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号190もしくは191に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号161に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号262に

50

示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号252に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号263に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

【0015】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号150、151、もしくは152に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号169もしくは154に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号155に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号271に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号221に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号272に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

10

【0016】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号129、130、もしくは131に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号139もしくは140に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号134に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号217に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号210に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号216に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

20

【0017】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるBCMA特異的CARの細胞外リガンド結合ドメインは、(a)(i)配列番号129、130、もしくは131に示した配列を含む重鎖可変(VH)相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列番号132もしくは133に示した配列を含むVH CDR2、および(iii)配列番号137に示した配列を含むVH CDR3を含むVH領域、ならびに/または(b)(i)配列番号377に示した配列を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列番号210に示した配列を含むVL CDR2、および(iii)配列番号214に示した配列を含むVL CDR3を含むVL領域を含む。

30

【0018】

一部の実施形態では、細胞内シグナリングドメインは、CD3シグナリングドメインを含む。一部の実施形態では、細胞内シグナリングドメインは、4-1BBドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、別の細胞内シグナリングドメインをさらに含む。一部の実施形態では、追加の細胞内シグナリングドメインは、4-1BBドメインを含みうる。

【0019】

一部の実施形態では、CARは、細胞外リガンド結合ドメインと第1の膜貫通ドメインとの間にストークドメインを含みうる。一部の実施形態では、ストークドメインは、ヒトCD8ヒンジ、IgG1ヒンジ、およびFcRIIIヒンジからなる群から選択されうる。

40

【0020】

一部の実施形態では、第1の膜貫通ドメインは、CD8鎖膜貫通ドメインを含みうる。

【0021】

一部の実施形態では、CARは、CD20エピトープを含みうる。

【0022】

一部の実施形態では、CARは、BCMAに特異的でない別の細胞外リガンド結合ドメインを含みうる。

【0023】

50

一部の実施形態では、BCMA特異的CARは、配列番号396に示したアミノ酸配列を含みうる。

【0024】

CARの一部の実施形態では、細胞外リガンド結合ドメイン、第1の膜貫通ドメイン、および細胞内シグナリングドメインは、単一ポリペプチド上にある。

【0025】

一部の実施形態では、CARは、第2の膜貫通ドメインを含むことができ、第1の膜貫通ドメインおよび細胞外リガンド結合ドメインは、第1のポリペプチド上にあり、第2の膜貫通ドメインおよび細胞内シグナリングドメインは、第2のポリペプチド上にあり、第1の膜貫通ドメインは、高親和性IgE受容体(FcRI)の鎖由来の膜貫通ドメインを含み、第2の膜貫通ドメインは、FcRIのまたは鎖由来の膜貫通ドメインを含む。一部の実施形態では、CARは、共刺激分子由来の細胞内シグナリングドメインに融合された第3の膜貫通ドメインを含む第3のポリペプチドを含むことができ、第3の膜貫通ドメインは、FcRIのまたは鎖由来の膜貫通ドメインを含む。

10

【0026】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載のBCMA特異的CARをコードする核酸配列を含む単離ポリヌクレオチドを提供する。

【0027】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載のBCMA特異的CAR抗体をコードする核酸配列を含む発現ベクターを提供する。

20

【0028】

別の態様では、本発明は、その細胞表面膜において本明細書に記載のBCMA特異的CARを発現する操作された免疫細胞を提供する。一部の実施形態では、操作された免疫細胞は、BCMAに特異的でない別のCARを含みうる。一部の実施形態では、操作された免疫細胞は、自殺ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含みうる。一部の実施形態では、自殺ポリペプチドは、RQR8である。

【0029】

一部の実施形態では、免疫細胞は、炎症性Tリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、調節性Tリンパ球、またはヘルパーTリンパ球に由来しうる。

【0030】

一部の実施形態では、操作された免疫細胞は、破壊的な1種または複数の内在性遺伝子を含むことができ、内在性遺伝子は、TCR、TCR、CD52、グルココルチコイド受容体(GR)、デオキシシチジンキナーゼ(DCK)、または例えば、プログラム死-1(PD-1)などの免疫チェックポイントタンパク質をコードする。

30

【0031】

一部の実施形態では、免疫細胞は、健康ドナーから得られる。一部の実施形態では、免疫細胞は、患者から得られる。

【0032】

別の態様では、本発明は、医薬としての使用のための、その細胞表面膜において本明細書に記載のBCMA特異的CARを発現する操作された免疫細胞を提供する。一部の実施形態では、医薬は、多発性骨髄腫、悪性形質細胞新生物、ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫、カーレル病および骨髄腫症、形質細胞白血病、形質細胞腫、B細胞前リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、B細胞非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性リンパ球性白血病(ALL)、慢性骨髄性白血病(CML)、濾胞性リンパ腫、パーキットリンパ腫、辺縁帯リンパ腫、マンテル細胞リンパ腫、大細胞型リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、骨髄性白血病、ワルデンストレームマクログロブリン血症、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、縦隔(胸腺)原発大細胞型B細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、結節辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫

40

50

症、T細胞/組織球豊富型大細胞型B細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(脚型)、高齢者のEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症に関連したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、ALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫、形質芽球性リンパ腫、HHV8関連多中心性カストルマン病において生じる大細胞型B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫とパーキットリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫と古典的ホジキンリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、ならびに他のB細胞関連リンパ腫からなる群から選択されたB細胞関連がんの処置における使用のためである。

【0033】

別の態様では、本発明は、免疫細胞を操作する方法であって、免疫細胞を準備することと、細胞の表面において本明細書に記載の少なくとも1種のBCMA特異的CARを発現させることとを含む、方法を提供する。

【0034】

一部の実施形態では、方法は、免疫細胞を準備することと、前記BCMA特異的CARをコードする少なくとも1種のポリヌクレオチドを細胞内に導入することと、細胞内に前記ポリヌクレオチドを発現させることとを含む。

【0035】

一部の実施形態では、方法は、免疫細胞を準備することと、前記BCMA特異的CARをコードする少なくとも1種のポリヌクレオチドを細胞内に導入することと、BCMAに特異的でない少なくとも1種の他のCARを導入することとを含む。

【0036】

別の態様では、本発明は、悪性細胞に関連した状態に罹患している対象を処置する方法であって、表面において本明細書に記載のBCMA特異的CARを発現する免疫細胞を準備することと、前記患者に前記免疫細胞を投与することとを含む、方法を提供する。

【0037】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載の操作された免疫細胞を含む医薬組成物を提供する。

【0038】

別の態様では、本発明は、対象におけるBCMAを発現する悪性細胞に関連した状態を処置する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載の操作された免疫細胞を含む請求項に記載の有効量の医薬組成物を投与することを含む、方法を提供する。一部の実施形態では、状態は、がんである。一部の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫、悪性形質細胞新生物、ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫、カール病および骨髄腫症、形質細胞白血病、形質細胞腫、B細胞前リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、B細胞非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性リンパ球性白血病(ALL)、慢性骨髄性白血病(CML)、濾胞性リンパ腫、パーキットリンパ腫、辺縁帯リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、大細胞リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、骨髄性白血病、ワルデンストレームマクログロブリン血症、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、縦隔(胸腺)原発大細胞型B細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、結節辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、T細胞/組織球豊富型大細胞型B細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(脚型)、高齢者のEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症に関連したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、ALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫、形質芽球性リンパ腫、HHV8関連多中心性カストルマン病において生じる大細胞型B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫とパーキットリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、ならびに他のB細胞関連リンパ腫からなる群から選

10

20

30

40

50

扱されたB細胞関連がんである。

【0039】

別の態様では、本発明は、BCMAを発現する悪性細胞を有する対象における腫瘍増殖または進行を阻害する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載の操作された免疫細胞を含む有効量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0040】

別の態様では、本発明は、対象におけるBCMAを発現する悪性細胞の転移を阻害する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載の操作された免疫細胞を含む有効量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0041】

別の態様では、本発明は、BCMAを発現する悪性細胞を有する対象における腫瘍退縮を誘導する方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に記載の操作された免疫細胞を含む医薬組成物の有効量の医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。

【0042】

一部の実施形態では、上記方法のいずれも、1種または複数の追加の療法、例えば、モノクローナル抗体および/または化学療法剤などを投与することをさらに含む。一部の実施形態では、モノクローナル抗体は、例えば、チェックポイント阻害剤、例えば、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体などに結合する抗体でありうる。一部の実施形態では、上記方法のいずれも、対象に、ヌクレオシド類似体療法、例えば、フルダラビンまたはクロファラビンなどを投与することをさらに含む。

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図1】MM1.S腫瘍モデルにおけるBCMA特異的CAR-Tでの処置の結果を要約するグラフを表す。

【図2】Molp8腫瘍モデルにおけるBCMA特異的CAR-Tでの処置の結果を要約するグラフを表す。

【発明を実施するための形態】

【0044】

本明細書に開示の発明は、BCMA(例えば、ヒトBCMA)に特異的に結合するキメラ抗原受容体(CAR)およびCARを含む免疫細胞(CAR-T細胞)を提供する。本発明は、これらのCARをコードするポリヌクレオチド、これらのCAR-T細胞を含む組成物、ならびにこれらのCARおよびCAR-T細胞を作製および使用方法も提供する。本発明は、がんなどの対象における悪性BCMA発現に関連した状態を処置するための方法も提供する。

【0045】

一般的な技法

本発明の実施は、別段に示されていない限り、当技術分野の技術の範囲内である分子生物学(組換え技法を含む)、微生物学、細胞生物学、生化学、および免疫学の慣例的な技法を使用することになる。このような技法は、文献、例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、2版(Sambrookら、1989)、Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis(M.J.Gait編、1984); Methods in Molecular Biology、Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook(J.E.Cellis編、1998)、Academic Press; Animal Cell Culture(R.I.Freshney編、1987); Introduction to Cell and Tissue Culture(J.P.MatherおよびP.E.Roberts、1998)、Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures(A.Doyle、J.B.Griffiths、およびD.G.Newell編、1993~1998)、

10

20

30

40

50

J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir および C. C. Blackwell 編); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller および M. P. Calos 編、1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel ら編、1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction (Mullis ら編、1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan ら編、1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons、1999); Immunobiology (C. A. Janeway および P. Travers、1997); Antibodies (P. Finch、1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty 編、IRL Press、1988~1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd および C. Dean 編、Oxford University Press、2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow および D. Lane、Cold Spring Harbor Laboratory Press、1999); The Antibodies (M. Zanetti および J. D. Capra 編、Harwood Academic Publishers、1995) などに完全に説明されている。

【0046】

定義

用語「細胞外リガンド結合ドメイン」は、本明細書では、リガンドを結合させることができるオリゴまたはポリペプチドを指す。好ましくは、ドメインは、細胞表面分子と相互作用することができることになる。例えば、細胞外リガンド結合ドメインは、特定の疾患状態に関連した標的細胞上の細胞表面マーカーとして作用するリガンドを認識するように選択することができる。

【0047】

用語「ストロクドメイン」または「ヒンジドメイン」は、膜貫通ドメインを細胞外リガンド結合ドメインに連結するように機能する任意のオリゴまたはポリペプチドを指すのに本明細書で互換的に使用される。特に、ストロクドメインは、細胞外リガンド結合ドメインにより大きな柔軟性および近接性をもたらすのに使用される。

【0048】

用語「細胞内シグナリングドメイン」は、エフェクターシグナル機能シグナル (effector signal function signal) を伝達し、細胞に特殊機能を実施するように指示するタンパク質の部分に指す。

【0049】

「共刺激分子」は、本明細書では、共刺激リガンドと特異的に結合し、それによってそれだけに限らないが、増殖などの細胞による共刺激応答を媒介する T 細胞上の同族結合パートナーを指す。共刺激分子には、それだけに限らないが、MHC クラス I 分子、BTLA、および TOLL リガンド受容体が含まれる。共刺激分子の例としては、CD27、CD28、CD8、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3 や、CD83 と特異的に結合するリガンドなどがある。

【0050】

「共刺激リガンド」は、T 細胞上の同族共刺激シグナル分子を特異的に結合させ、それによって、例えば、ペプチドを負荷された MHC 分子との TCR / CD3 複合体の結合によってもたらされる一次シグナルに加えて、それだけに限らないが、増殖活性化、分化などを含めた T 細胞応答を媒介するシグナルをもたらす抗原提示細胞上の分子を指す。共刺

激リガンドとして、それだけに限らないが、CD7、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、誘導性共刺激リガンド(ICOS-L)、細胞間接着分子(ICAM)、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、M1CB、HVEM、リンホトキシン受容体、3/TR6、ILT3、ILT4、Tollリガンド受容体を結合させるアゴニストまたは抗体、およびB7-H3と特異的に結合するリガンドを挙げることができる。共刺激リガンドは、とりわけ、T細胞上に存在する共刺激分子、例えば、それだけに限らないが、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LTGHT、NKG2C、B7-H3や、CD83と特異的に結合するリガンドなどと特異的に結合する抗体も包含する。

10

【0051】

「抗体」は、免疫グロブリン分子であって、免疫グロブリン分子の可変領域内に位置した、少なくとも1つの抗原認識部位を通じて標的、例えば、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなどに特異的に結合することができる、免疫グロブリン分子である。本明細書では、この用語は、インタクトなポリクローナルまたはモノクローナル抗体だけでなく、これらの断片(Fab、Fab'、F(ab')₂、Fvなど)、単鎖(ScFv)、ならびにドメイン抗体(例えば、サメおよびラクダ抗体を含む)、ならびに抗体を含む融合タンパク質、ならびに抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の修飾構成も包含する。抗体は、任意のクラス、例えば、IgG、IgA、もしくはIgMなど(またはそのサブクラス)の抗体を含み、抗体は、任意の特定のクラスのものである必要はない。その重鎖の定常領域の抗体アミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、異なるクラスに割り当てることができる。免疫グロブリンの5つの主要なクラス、IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMが存在し、これらのいくつかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2にさらに分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常領域は、それぞれ、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューと呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造および3次元配置は、周知である。

20

【0052】

抗体の「抗原結合断片」または「抗原結合部分」という用語は、本明細書では、所与の抗原(例えば、BCMA)に特異的に結合する能力を保持するインタクト抗体の1つまたは複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、インタクト抗体の断片によって果たされる。用語の抗体の「抗原結合断片」内に包含される結合断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、VHおよびCH1ドメインからなるFd断片、抗体の単一アームのVLおよびVHドメインからなるFv断片、単ドメイン抗体(dAb)断片(Wardら、Nature、341:544~546、1989)、ならびに単離された相補性決定領域(CDR)がある。

30

【0053】

標的(例えば、BCMAタンパク質)に「優先的に結合する」または「特異的に結合する」(本明細書で互換的に使用される)抗体、抗体コンジュゲート、またはポリペプチドは、当技術分野でよく理解されている用語であり、このような特異的または優先的結合を判定する方法も、当技術分野で周知である。分子が特定の細胞または物質と、それが代替の細胞または物質と反応または会合するより、頻繁に、急速に、大きい継続時間および/または大きい親和性で、反応または会合する場合、分子は、「特異的結合」または「優先的結合」を呈すると言われる。抗体は、標的に、それが他の物質に結合するより大きい親和性、結合活性で、より容易に、かつ/またはより大きい継続時間で結合する場合、「特異的に結合し」または「優先的に結合する」。例えば、BCMAエピトープに特異的または優先的に結合する抗体は、抗体であって、それが他のBCMAエピトープ、非BCMAエピトープに結合するより、大きい親和性、結合活性で、より容易に、かつ/またはより大きい継続時間でこのエピトープを結合させる、抗体である。この定義を読むことによ

40

50

て、例えば、第1の標的に特異的または優先的に結合する抗体（または部分もしくはエピトープ）は、第2の標的に特異的または優先的に結合してもよく、結合しなくてもよいことも理解される。したがって、「特異的結合」または「優先的結合」は、排他的結合を必ずしも要求しない（しかし、それは、排他的結合を含むことができる）。一般に、しかし必ずしもではないが、結合への言及は、優先的結合を意味する。

【0054】

抗体の「可変領域」は、単独または組合せで、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域を指す。当技術分野で公知であるように、重および軽鎖の可変領域は、それぞれ、超可変領域としても公知の3つの相補性決定領域（CDR）によって接続された4つのフレームワーク領域（FR）からなる。各鎖中のCDRは、FRによって近接して一緒に保持されており、他の鎖からのCDRとともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。CDRを判定するための少なくとも2つの技法：（1）異種間配列変異性に基づく手法（すなわち、Kabataら、Sequences of Proteins of Immunological Interest（5版、1991、National Institutes of Health、Bethesda MD）、および（2）抗原抗体複合体の結晶学的スタディに基づく手法（Al-lazikaniら、1997、J. Molec. Biol.、273：927～948）が存在する。本明細書では、CDRは、いずれかの手法によって、または両手法の組合せによって定義されるCDRを指すことができる。

【0055】

可変ドメインの「CDR」は、Kabata、Chothia、KabataおよびChothiaの両方の蓄積、AbM、接触、ならびにノもしくはコンホメーション定義、または当技術分野で周知のCDR判定の任意の方法の定義に従って同定される可変領域内のアミノ酸残基である。抗体CDRは、Kabataらによって元来定義された超可変領域として同定される場合がある。例えば、Kabataら、1992、Sequences of Proteins of Immunological Interest、5版、Public Health Service、NIH、Washington D.C.を参照。CDRの位置は、Chothiaらによって元来記述された構造的ループ構造として同定することもできる。例えば、Chothiaら、Nature、342：877～883、1989を参照。CDR同定の他の手法としては、KabataとChothiaとの間の妥協案であり、Oxford MolecularのAbM抗体モデル化ソフトウェア（現在、Accelrys（登録商標））を使用して導出される「AbM定義」、またはMacCallumら、J. Mol. Biol.、262：732～745、1996に示された、観察される抗原接触に基づくCDRの「接触定義」がある。CDRの「コンホメーション定義」として本明細書で呼ばれる別の手法では、CDRの位置を、抗原結合にエンタルピー的寄与をする残基として同定することができる。例えば、Makabeら、Journal of Biological Chemistry、283：1156～1166、2008を参照。さらに他のCDR境界定義は、上記手法の1つに厳密には従わない場合があるが、それにもかかわらず、これらは、特定の残基もしくは残基の群、またはさらにはCDR全体が抗原結合に著しくインパクトを与えないという予測または実験的所見を踏まえると短くまたは長くすることができるとはいえ、Kabata CDRの少なくとも一部と重なることになる。本明細書では、CDRは、手法の組合せを含めた当技術分野で公知の任意の手法によって定義されるCDRを指すことができる。本明細書で使用される方法は、これらの手法のいずれかによって定義されるCDRを利用することができる。1つを超えるCDRを含有する任意の所与の実施形態について、CDRは、Kabata、Chothia、拡張、AbM、接触、およびノまたはコンホメーション定義のいずれかに従って定義されうる。

【0056】

本明細書では、「モノクローナル抗体」は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在しうる可能性がある天然

10

20

30

40

50

に存在する突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、単一抗原部位に向けられて、高度に特異的である。さらに、異なる決定基（エピトープ）に向けられた異なる抗体を典型的には含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一決定基に向けられている。修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均質な集団から得られるものとしての抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を要求すると解釈されるべきでない。例えば、本発明によって使用されるモノクローナル抗体は、KohlerおよびMilstein、Nature、256:495、1975によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製することができ、または米国特許第4,816,567号に記載されたものなどの組換えDNA法によって作製することができる。モノクローナル抗体は、例えば、McCaffertyら、Nature

10

【0057】

本明細書では、「ヒト化」抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有するキメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはこれらの断片（Fv、Fab、Fab'、(Fab')₂、もしくは抗体の他の抗原結合部分配列など）である、非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。好ましくは、ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（CDR）由来の残基が、所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種（ドナー抗体）、例えば、マウス、ラット、またはウサギなどのCDR由来の残基によって置き換えられているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。一部の事例では、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域（FR）残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体内にも移入されたCDRまたはフレームワーク配列内にも見出だされないが、抗体性能をさらに洗練および最適化するのに含まれる残基を含みうる。一般に、ヒト化抗体は、CDR領域のすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、FR領域のすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含むことになる。ヒト化抗体は、最適には、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Fc）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのものも含むことになる。WO99/58572に記載されているように修飾されたFc領域を有する抗体が好適である。ヒト化抗体の他の形態は、元の抗体に関して変更されている1つまたは複数のCDR（CDRL1、CDRL2、CDRL3、CDRH1、CDRH2、またはCDRH3）を有し、これらのCDRは、元の抗体からの1つまたは複数のCDR「に由来する」1つまたは複数のCDRとも呼ばれる。

20

30

【0058】

本明細書では、「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体のものに対応するアミノ酸配列を有する、かつ/または当業者に公知もしくは本明細書に開示のヒト抗体を作製するための技法のいずれかを使用して作製された抗体を意味する。ヒト抗体のこの定義は、少なくとも1つのヒト重鎖ポリペプチドまたは少なくとも1つのヒト軽鎖ポリペプチドを含む抗体を含む。1つのこのような例は、マウス軽鎖およびヒト重鎖ポリペプチドを含む抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技法を使用して生成されうる。一実施形態では、ヒト抗体は、ファージライブラリーから選択され、この場合ファージライブラリーは、ヒト抗体を発現する（Vaughanら、Nature Biotechnology、14:309~314、1996；Sheetsら、Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)、95:6157~6162、1998；Hoogenboom and Winter、J. Mol. Biol.、227:381、1991；Marksら、J. Mol. Biol.、222:581、1991）。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座が内因性遺伝子座の代わりに遺伝子導入で導入された動物、例えば、内在性免疫グロブリン遺伝子が部分的または完全に不活化されたマウスの免疫化によって作製することもできる。この手法は、米国特許第5,545,807号、同第5,5

40

50

45, 806号、同第5, 569, 825号、同第5, 625, 126号、同第5, 633, 425号、および同第5, 661, 016号に記載されている。代わりに、ヒト抗体は、標的抗原に向けられた抗体を産生するヒトBリンパ球を不死化することによって調製されてもよい(このようなBリンパ球は、個体からもしくはcDNAの単細胞クローニングから回収することができ、または*in vitro*で免疫されうる)。例えば、Coleら、*Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*、Alan R. Liss、77頁、1985; Boernerら、*J. Immunol.*、147(1): 86~95、1991、および米国特許第5, 750, 373号を参照。

【0059】

用語「キメラ抗体」は、可変領域配列が1つの種に由来し、定常領域配列が別の種に由来する抗体、例えば、可変領域配列がマウス抗体に由来し、定常領域配列がヒト抗体に由来する抗体などを指すように意図されている。

【0060】

用語「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」は、好ましくは相対的に短い(例えば、10~100アミノ酸)、任意の長さのアミノ酸の鎖を指すのに本明細書で互換的に使用される。鎖は、直鎖状であっても分枝状であってもよく、これは、修飾アミノ酸を含むことができ、かつ/または非アミノ酸によって中断されていてよい。この用語は、天然に、あるいは介入; 例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他のマニピュレーションもしくは修飾、例えば、標識コンポーネントとのコンジュゲーションなどによって修飾されたアミノ酸鎖も包含する。例えば、アミノ酸の1種または複数の類似体(例えば、非天然アミノ酸などを含む)、および当技術分野で公知の他の修飾を含有するポリペプチドも定義内に含まれる。ポリペプチドは、単鎖または会合鎖として存在しうるということが理解される。

【0061】

「一価抗体」は、1分子当たり1つの抗原結合部位を含む(例えば、IgGまたはFab)。一部の事例では、一価抗体は、1つを超える抗原結合部位を有しうるが、結合部位は、異なる抗原由来である。

【0062】

「二価抗体」は、1分子当たり2つの抗原結合部位を含む(例えば、IgG)。一部の事例では、2つの結合部位は、同じ抗原特異性を有する。しかし、二価抗体は、二重特異性でありうる。

【0063】

「二重特異性」、「デュアル特異性」または「二重機能性」抗体は、2つの異なる抗原結合部位を有するハイブリッド抗体である。二重特異性抗体の2つの抗原結合部位は、2つの異なるエピトープに結合し、これらのエピトープは、同じまたは異なるタンパク質鎖の上に存在しうる。

【0064】

本発明の抗体は、当技術分野で周知の技法、例えば、組換え技術、ファージディスプレイ技術、合成技術、もしくはこのような技術の組合せ、または当技術分野において容易に分かる他の技術を使用して生成することができる(例えば、Jayasena, S. D., *Clin. Chem.*、45: 1628~50、1999、およびFellouse, F. A.ら、*J. Mol. Biol.*、373(4): 924~40、2007を参照)。

【0065】

当技術分野で公知であるように、本明細書で互換的に使用される「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドの鎖を指し、DNAおよびRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾ヌクレオチドもしくは塩基、および/またはこれらの類似体、あるいはDNAまたはRNAポリメラーゼに

10

20

30

40

50

よって鎖中に組み込まれうる任意の基質でありうる。ポリヌクレオチドは、修飾ヌクレオチド、例えば、メチル化ヌクレオチドおよびこれらの類似体などを含みうる。存在する場合、ヌクレオチド構造への修飾は、鎖を集合させる前または後に授けることができる。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチドコンポーネントによって中断されてもよい。ポリヌクレオチドは、標識コンポーネントとのコンジュゲーションなどによって重合後にさらに修飾されてもよい。修飾の他のタイプとしては、例えば、「キャップ」、天然に存在するヌクレオチドの1つまたは複数の類似体との置換、ヌクレオチド間修飾、例えば、非荷電連結（例えば、ホスホン酸メチル、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメートなど）を有するものおよび荷電連結（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）を有するもの、ペンダント部分、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ-L-リシンなど）などを含有するもの、インターカレーター（例えば、アクリジン、ソラレンなど）を有するもの、キレーター（例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など）を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された連結を有するもの（例えば、アルファアノマー核酸など）など、ならびにポリヌクレオチドの無修飾形態がある。さらに、糖の中に通常存在するヒドロキシル基のいずれも、例えば、ホスホネート基、リン酸基によって置き換えられ、標準的な保護基によって保護され、もしくは追加のヌクレオチドへの追加の連結をもたらすように活性化され得、または固体支持体にコンジュゲートされうる。5'および3'末端OHは、リン酸化し、またはアミン、もしくは1~20炭素原子の有機キャッピング基部分で置換することができる。他のヒドロキシルも、標準的な保護基に誘導体化されうる。ポリヌクレオチドは、例えば、2'-O-メチル-、2'-O-アリル、2'-フルオロ-、または2'-アジド-リボース、炭素環糖類似体、アルファ-またはベータ-アノマー糖、エピマー糖、例えば、アラビノース、キシロースまたはリキソースなど、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプトロース、非環式類似体、およびメチルリボシドなどの脱塩基ヌクレオチド類似体を含めた、当技術分野で一般に公知であるリボースまたはデオキシリボース糖の類似型も含有することができる。1個または複数のホスホジエステル連結を代替の連結基によって置き換えることができる。これらの代替の連結基としては、それだけに限らないが、ホスフェートが、P(O)S(「チオエート」)、P(S)S(「ジチオエート」)、(O)NR₂(「アミデート」)、P(O)R、P(O)OR'、CO、またはCH₂(「ホルムアセタール」)(式中、各RまたはR'は、独立に、H、またはエーテル(-O-)連結を含有してもよい置換もしくは非置換のアルキル(1~20C)、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、またはアラルジルである)によって置き換えられている実施形態がある。ポリヌクレオチド中のすべての連結が同一である必要はない。前記記述は、RNAおよびDNAを含めて本明細書に言及されるすべてのポリヌクレオチドに当てはまる。

【0066】

当技術分野で公知であるように、抗体の「定常領域」は、単独または組合せて抗体軽鎖の定常領域または抗体重鎖の定常領域を指す。

【0067】

本明細書では、「実質的に純粋な」は、少なくとも50%純粋(すなわち、混入物を含まない)、より好ましくは少なくとも90%純粋、より好ましくは少なくとも95%純粋、さらにより好ましくは少なくとも98%純粋、最も好ましくは少なくとも99%純粋である材料を指す。

【0068】

「宿主細胞」は、ポリヌクレオチドインサートを取り込むためのベクターのレシピエントでありうる、またはレシピエントであった個々の細胞または細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一宿主細胞の子孫を含み、子孫は、天然の、偶発的な、または意図的な突然変異に起因して元の親細胞と必ずしも完全に同一でない場合がある(形態において、またはゲノムDNA補体において)。宿主細胞は、本発明のポリヌクレオチドを*in vivo*でトランスフェクトされた細胞を含む。

10

20

30

40

50

【0069】

本明細書では、「免疫細胞」は、自然および/または適応的免疫応答の開始および/または実行に機能的に関与する造血起源の細胞を指す。

【0070】

当技術分野で公知であるように、用語「Fc領域」は、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するように使用される。「Fc領域」は、天然配列Fc領域またはバリエーションFc領域でありうる。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は変動しうるが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、位置Cys226におけるアミノ酸残基から、またはPro230からそのカルボキシル末端に伸びるように通常定義される。Fc領域中の残基の番号付けは、Kabatsと同様にEUインデックスのものである。Kabatsら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、5版、Public Health Service、National Institutes of Health、Bethesda、Md.、1991。免疫グロブリンのFc領域は一般に、2つの定常領域、CH2およびCH3を含む。

10

【0071】

当技術分野で使用される場合、「Fc受容体」および「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を記述する。好適なFcRは、天然配列ヒトFcRである。さらに、好適なFcRは、IgG抗体を結合させるもの(ガンマ受容体)であり、FcRI、FcRII、およびFcRIIIサブクラスを受容体を含み、これらの受容体の対立遺伝子バリエーションおよび選択的にスプライスされた形態を含む。FcRII受容体には、FcRIIA(「活性化受容体」)およびFcRIIB(「阻害受容体」)が含まれ、これらは同様のアミノ酸配列を有し、その細胞質ドメインが主に異なる。FcRは、RavetchおよびKinet、Ann. Rev. Immunol.、9:457~92、1991; Capelら、Immunomethods、4:25~34、1994;ならびにde Haasら、J. Lab. Clin. Med.、126:330~41、1995に総説されている。「FcR」には、新生児受容体、FcRnも含まれ、これは、母体IgGの胎仔への移動を担う(Guyerら、J. Immunol.、117:587、1976;およびKimら、J. Immunol.、24:249、1994)。

20

【0072】

用語「競合する」は、抗体に関して本明細書で使用する場合、第1の抗体またはその抗原結合断片(もしくは部分)が、第2の抗体またはその抗原結合部分の結合と十分同様の様式でエピトープに結合し、その結果、第1の抗体のその同族エピトープとの結合の結果が、第2の抗体の非存在下での第1の抗体の結合と比較して、第2の抗体の存在下で検出可能に低下することを意味する。第2の抗体のそのエピトープへの結合も第1の抗体の存在下で検出可能に低下する残された選択は、当てはまりうるが、そうである必要はない。すなわち、第1の抗体は、第2の抗体が第1の抗体のそれぞれのエピトープへの結合を阻害することなく、第2の抗体のそのエピトープへの結合を阻害することができる。しかし、各抗体が、他の抗体のその同族エピトープまたはリガンドとの結合を、同じ、より大きい、またはより少ない程度であってもなくても検出可能に阻害する場合、抗体は、これらのそれぞれのエピトープの結合を互いに「交差競合する」と言われる。競合および交差競合する抗体はともに、本発明によって包含されている。このような競合または交差競合が起こる機構(例えば、立体障害、コンホメーション変化、または共通エピトープもしくはその部分への結合)にかかわらず、当業者は、本明細書に提供される教示に基づいて、このような競合および/または交差競合する抗体が包含され、本明細書に開示の方法に有用でありうることを理解するはずである。

30

40

【0073】

本明細書では、「自己の」は、患者を処置するのに使用される細胞、細胞株、または細胞の集団が前記患者またはヒト白血球抗原(HLA)適合性ドナーに源を発することを意味する。

【0074】

50

本明細書では、「同種間の」は、患者を処置するのに使用される細胞または細胞の集団が前記患者に源を発しないが、ドナーに源を発することを意味する。

【0075】

本明細書では、「処置」は、有益なまたは所望の臨床結果を得るための手法である。本発明の目的に関して、有益なまたは所望の臨床結果としては、それだけに限らないが、以下：新生物もしくはがん性細胞の増殖の低減（もしくはこれらの細胞の破壊）、新生物細胞の転移の阻害、BCMA発現腫瘍のサイズの縮小もしくは低下、BCMA関連疾患（例えば、がん）の緩解、BCMA関連疾患（例えば、がん）から生じる症状の低下、BCMA関連疾患（例えば、がん）に罹患している者の生活の質の増大、BCMA関連疾患（例えば、がん）を処置するのに要求される他の薬物療法の用量の低下、BCMA関連疾患（例えば、がん）の進行の遅延、BCMA関連疾患（例えば、がん）の治癒、および/またはBCMA関連疾患（例えば、がん）を有する患者の生存期間の延長のうちの1つまたは複数がある。

10

【0076】

「寛解させること」は、BCMA抗体またはBCMA抗体コンジュゲートを投与しないことと比較した1つまたは複数の症状の軽減または改善を意味する。「寛解させること」は、症状の継続時間の短縮または低減も含む。

【0077】

本明細書では、薬物、化合物、または医薬組成物の「有効投与量」または「有効量」は、任意の1つまたは複数の有益なまたは所望の結果をもたらすのに十分な量である。予防的使用に関して、有益なまたは所望の結果としては、疾患、その合併症、および疾患の発生中に提示する中間病理学的表現型の生化学的、組織学的、および/または行動上の症状を含めた疾患のリスクの排除もしくは低減、重症度の軽減、または発症の遅延がある。治療的使用に関して、有益なまたは所望の結果としては、臨床結果、例えば、様々なBCMA関連疾患または状態（例えば多発性骨髄腫など）の発生率の低減または1つもしくは複数の症状の寛解、疾患を処置するのに要求される他の薬物療法の用量の低下、別の薬物療法の効果の増強、および/あるいは患者のBCMA関連疾患の進行の遅延などがある。有効投与量は、1回または複数回の投与で投与することができる。本発明の目的に関して、薬物、化合物、または医薬組成物の有効投与量は、直接的または間接的に予防的または治療的処置を達成するのに十分な量である。臨床状況において理解されているように、薬物、化合物、または医薬組成物の有効投与量は、別の薬物、化合物、または医薬組成物と併せて実現されてもよく、または実現されなくてもよい。よって、「有効投与量」は、1種または複数の治療剤の投与との関連で考慮することができ、単剤は、1種または複数の他の作用物質と併せて、望ましい結果が実現され得、または実現される場合、有効量で与えられていると見なすことができる。

20

30

【0078】

「個体」または「対象」は、哺乳動物、より好ましくは、ヒトである。哺乳動物には、それだけに限らないが、家畜、競技動物、ペット、霊長類、ウマ、イヌ、ネコ、マウス、およびラットが含まれる。

【0079】

本明細書では、「ベクター」は、宿主細胞内に目的の1種または複数の遺伝子または配列を送達し、好ましくは宿主細胞内でこれらを発現させることができる構築物を意味する。ベクターの例としては、それだけに限らないが、ウイルスベクター、裸のDNAもしくはRNA発現ベクター、プラスミド、コスミド、またはファージベクター、カチオン性縮合剤と会合したDNAもしくはRNA発現ベクター、リボソーム中に被包されたDNAもしくはRNA発現ベクター、および産生細胞などのある特定の真核細胞がある。

40

【0080】

本明細書では、「発現制御配列」は、核酸の転写を指示する核酸配列を意味する。発現制御配列は、構成的もしくは誘導プロモーターなどのプロモーター、またはエンハンサーでありうる。発現制御配列は、転写される核酸配列に作動可能に連結される。

50

【0081】

本明細書では、「薬学的に許容できる担体」または「薬学的に許容できる賦形剤」には、活性成分と組み合わせられたとき、成分が生物活性を保持することを可能にし、対象の免疫系と非反応性である任意の材料が含まれる。例として、それだけに限らないが、標準的な薬学的担体、例えば、リン酸緩衝溶液、水、油/水エマルジョンなどのエマルジョン、および様々なタイプの湿潤剤のいずれかが挙げられる。エアロゾルまたは非経口投与に好適な希釈剤は、リン酸緩衝溶液(PBS)または通常の(0.9%)生理食塩水である。このような担体を含む組成物は、周知の従来法によって製剤化される(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、18版、A. Gennaro編、Mack Publishing Co.、Easton、PA、1990; および Remington、The Science and Practice of Pharmacy 21版、Mack Publishing、2005を参照)。

10

【0082】

用語「 k_{on} 」は、本明細書では、抗体の抗原への会合に関する速度定数を指す。

【0083】

用語「 k_{off} 」は、本明細書では、抗体/抗原複合体からの抗体の解離に関する速度定数を指す。

【0084】

用語「 K_D 」は、本明細書では、抗体-抗原相互作用の平衡解離定数を指す。

20

【0085】

本明細書で「約」のついた値またはパラメータへの言及は、その値またはパラメータ自体に向けられた実施形態を含む(かつ記述する)。例えば、「約X」に言及する記述は、「X」の記述を含む。数値範囲は、範囲を定義している数値を含む。

【0086】

実施形態が言い回し「含む」を用いて本明細書に記載されている場合は必ず、「からなる」および/または「から本質的になる」の観点から記載されている別段の類似の実施形態も提供されていることが理解される。

【0087】

本発明の態様または実施形態が選択肢のマーカッシュ群または他の分類の観点から記載されている場合、本発明は、個々に群の各メンバーおよび主群のすべての可能性がある亜群のほか全体として列挙された群全体だけでなく、群メンバーの1つまたは複数を含む主群も包含する。本発明は、主張した発明における群メンバーのいずれかの1つまたは複数の明確な除外も想定する。

30

【0088】

別段の定義のない限り、本明細書で使用するすべての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般に理解するのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書が定義を含めて支配する。本明細書および特許請求の範囲全体にわたって、単語「含む(comprise)」または「含む(comprises)」もしくは「含む(comprising)」などの変形は、述べた整数または整数の群を含むことを暗示するが、任意の他の整数または整数の群の除外を暗示しない。脈絡による別段の要求のない限り、単数形の用語は、複数存在することを含むものとし、複数形の用語は、単数形を含むものとする。

40

【0089】

例示的な方法および材料が本明細書に記載されているが、本明細書に記載したものと同様のまたは等価な方法および材料も、本発明の実施または試験において使用することができる。材料、方法、および実施例は、例示的なだけであり、限定的であるように意図されていない。

【0090】

BCMA特異的CARおよびこれらを作製する方法

50

本発明は、BCMA（例えば、ヒトBCMA（例えば、配列番号354または受託番号Q02223-2））に結合するCARを提供する。本明細書に提供されるBCMA特異的CARには、単鎖CARsおよび多鎖CARが含まれる。CARは、モノクローナル抗体の抗原結合性質を活用して非MHC制限様式でT細胞特異性および反応性をBCMAにリダイレクトする能力を有する。非MHC制限抗原認識は、CARを発現するT細胞に、抗原プロセッシングに依存しない抗原を認識し、よって腫瘍エスケープの主要な機構を迂回する能力を与える。

【0091】

一部の実施形態では、本明細書に提供されるCARは、細胞外リガンド結合ドメイン（例えば、単鎖可変断片（scFv））、膜貫通ドメイン、および細胞内シグナリングドメインを含む。一部の実施形態では、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞内シグナリングドメインは、1つのポリペプチド中、すなわち、単鎖中にある。多鎖CARおよびポリペプチドも、本明細書に提供されている。一部の実施形態では、多鎖CARは、膜貫通ドメインおよび少なくとも1つの細胞外リガンド結合ドメインを含む第1のポリペプチド、ならびに膜貫通ドメインおよび少なくとも1つの細胞内シグナリングドメインを含む第2のポリペプチドを含み、ポリペプチドは、一緒に集合させて多鎖CARを形成する。

【0092】

一部の実施形態では、BCMA特異的多鎖CARは、IgEの高親和性受容体（FcRI）に基づく。肥満細胞および好塩基球上で発現されるFcRIは、アレルギー反応を誘発する。FcRIは、単一のサブユニット、単一のサブユニット、および2つのジスルフィド連結サブユニットから構成される四量体複合体である。サブユニットは、IgE結合ドメインを含有する。およびサブユニットは、シグナル伝達を媒介するITAMを含有する。一部の実施形態では、FcRI鎖の細胞外ドメインが欠失され、BCMA特異的細胞外リガンド結合ドメインによって置き換えられている。一部の実施形態では、多鎖BCMA特異的CARは、BCMAに特異的に結合するscFv、CD8ヒンジ、およびFcRI鎖のITAMを含む。一部の実施形態では、CARは、FcRI鎖を含んでも、含まなくてもよい。

【0093】

一部の実施形態では、細胞外リガンド結合ドメインは、可動性リンカーによって連結された標的抗原特異的モノクローナル抗体の軽鎖可変（VL）領域および重鎖可変（VH）領域を含むscFvを含む。単鎖可変領域断片は、短い連結ペプチドを使用することにより、軽および/または重鎖可変領域を連結することによって作製される（Birdら、Science、242：423～426、1988）。連結ペプチドの一例は、アミノ酸配列（GGGS）₃（配列番号333）を有するGSリンカーであり、これは、一方の可変領域のカルボキシ末端と他方の可変領域のアミノ末端との間のおよそ3.5nmを架橋する。他の配列のリンカーも設計および使用されている（Birdら、1988、上記）。一般に、リンカーは、短い柔軟なポリペプチドであり得、好ましくは、約20またはそれ未満のアミノ酸残基から構成されうる。リンカーは、ひいては、追加の機能、例えば、薬物の付着または固体支持体への付着などのために修飾することができる。単鎖バリアントは、組換えで、または合成的に生成されうる。scFvの合成生産のために、自動シンセサイザーを使用することができる。scFvの組換え産生のために、scFvをコードするポリヌクレオチドを含有する適当なプラスミドを、酵母、植物、昆虫、もしくは哺乳動物細胞などの真核生物、または大腸菌（E.coli）などの原核生物の適当な宿主細胞内に導入することができる。目的のscFvをコードするポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのライゲーションなどの慣例的なマニピュレーションによって作製することができる。結果として生じるscFvは、当技術分野で公知の標準的なタンパク質精製技法を使用して単離することができる。

【0094】

一部の実施形態では、細胞外リガンド結合ドメインは（i）配列SYX₁MX₂（式中

10

20

30

40

50

、 X_1 は、AもしくはPであり、 X_2 は、T、N、もしくはSである) (配列番号301)、 $4GFTFX_1SY$ (式中、 X_1 は、GもしくはSである) (配列番号302)、または $GFTFX_1SYX_2MX_3$ (式中、 X_1 は、GもしくはSであり、 X_2 は、AもしくはPであり、 X_3 は、T、N、もしくはSである) (配列番号303)を含むVH相補性決定領域1(CDR1)、(ii)配列 $AX_1X_2X_3X_4GX_5X_6X_7X_8YADX_9X_{10}KG$ (式中、 X_1 は、I、V、T、H、L、A、もしくはCであり、 X_2 は、S、D、G、T、I、L、F、M、もしくはVであり、 X_3 は、G、Y、L、H、D、A、S、もしくはMであり、 X_4 は、S、Q、T、A、F、もしくはWであり、 X_5 は、GもしくはTであり、 X_6 は、N、S、P、Y、W、もしくはFであり、 X_7 は、S、T、I、L、T、A、R、V、K、G、もしくはCであり、 X_8 は、F、Y、P、W、H、もしくはGであり、 X_9 は、V、R、もしくはLであり、 X_{10} は、GもしくはTである) (配列番号305)、または $X_1X_2X_3X_4X_5X_6$ (式中、 X_1 は、S、V、I、D、G、T、L、F、もしくはMであり、 X_2 は、G、Y、L、H、D、A、S、もしくはMであり、 X_3 は、S、G、F、もしくはWであり、 X_4 は、GもしくはSであり、 X_5 は、GもしくはTであり、 X_6 は、N、S、P、Y、もしくはWである) (配列番号306)を含むVH CDR2、およびiii)配列 $VSPIX_1X_2X_3X_4$ (式中、 X_1 は、AもしくはYであり、 X_2 は、AもしくはSであり、 X_3 は、G、Q、L、P、もしくはEである) (配列番号307)、または $YWPMX_1X_2$ (式中、 X_1 は、D、S、T、もしくはAであり、 X_2 は、I、S、L、P、もしくはDである) (配列番号308)を含むVH CDR3を含む(a)VH領域、ならびに/または(i)配列 $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7X_8X_9X_{10}X_{11}X_{12}$ (式中、 X_1 は、R、G、W、A、もしくはCであり、 X_2 は、A、P、G、L、C、もしくはSであり、 X_3 は、S、G、もしくはRであり、 X_4 は、Q、C、E、V、もしくはIであり、 X_5 は、S、L、P、G、A、R、もしくはDであり、 X_6 は、V、G、もしくはIであり、 X_7 は、S、E、D、もしくはPであり、 X_8 は、S、P、F、A、M、E、V、N、D、もしくはYであり、 X_9 は、I、T、V、E、S、A、M、Q、Y、H、もしくはRであり、 X_{10} は、YもしくはFであり、 X_{11} は、L、W、もしくはPであり、 X_{12} は、A、S、もしくはGである) (配列番号309)を含む軽鎖可変(VL)CDR1、(ii)配列 $X_1ASX_2RAX_3$ (式中、 X_1 は、GもしくはDであり、 X_2 は、SもしくはIであり、 X_3 は、TもしくはPである) (配列番号310)を含むVL CDR2、および(iii)配列 $QQYX_1X_2X_3PX_4T$ (式中、 X_1 は、G、Q、E、L、F、A、S、M、K、R、もしくはYであり、 X_2 は、S、R、T、G、V、F、Y、D、A、H、V、E、K、もしくはCであり、 X_3 は、W、F、もしくはSであり、 X_4 は、LもしくはIである) (配列番号311)、または $QQYX_1X_2X_3PX_4$ (式中、 X_1 は、G、Q、E、L、F、A、S、M、R、K、もしくはYであり、 X_2 は、S、R、T、G、R、V、D、A、H、E、K、C、F、もしくはYであり、 X_3 は、W、S、もしくはFであり、 X_4 は、LもしくはIである) (配列番号312)を含むVH領域を含む。一部の実施形態では、VHおよびVLは、可動性リンカーによって一緒に連結される。一部の実施形態では、可動性リンカーは、配列番号333に示したアミノ酸配列を含む。

【0095】

別の態様では、BCMAに特異的に結合するCARであって、CARは、配列番号2、3、7、8、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、35、37、39、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、83、87、92、78、95、97、99、101、104、106、110、112、114、76、118、120、122、112、125、127、313、もしくは314に示したVH配列のVH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含むVH領域、および/または配列番号1、4、5、6、9、10、11、12、13、15、16、17、18、19、20、21、22、23、34、36、38、40、41、43、45、47、49、51、53、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、317

10

20

30

40

50

、 8 1、 8 2、 8 4、 8 5、 8 6、 8 8、 8 9、 9 0、 9 1、 9 3、 9 4、 9 6、 9 8、 1 0 0、 1 0 2、 1 0 3、 1 0 5、 1 0 7、 1 0 8、 1 0 9、 1 1 1、 1 1 3、 1 1 5、 1 1 6、 1 1 7、 1 1 9、 1 2 1、 1 2 3、 1 2 4、 1 2 6、 1 2 8、 3 1 5、 もしくは 3 1 6 に示した V L 配列の V L C D R 1、 V L C D R 2、 および V L C D R 3 を含む V L 領域を含む細胞外リガンド結合ドメインを含む、 C A R が提供されている。一部の実施形態では、 V H および V L は、可動性リンカーによって一緒に連結される。一部の実施形態では、可動性リンカーは、配列番号 3 3 3 に示したアミノ酸配列を含む。

【 0 0 9 6 】

一部の実施形態では、本発明の C A R は、表 1 に列挙した部分的軽鎖配列のいずれか 1 つおよび / または表 1 に列挙した部分的重鎖配列のいずれか 1 つを有する細胞外リガンド結合ドメインを含む。表 1 において、 C h o t h i a C D R 配列に下線が引かれており、 K a b a t C D R 配列が太字である重鎖 C D R 2 配列を除いて、下線を引いた配列は、 K a b a t による C D R 配列であり、太字は、 C h o t h i a による C D R 配列である。

10

【 0 0 9 7 】

【表 1 - 1】

表 1

mAb	軽鎖	重鎖	
P6E01/ P6E01	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YGSPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 1)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号2)	10
P6E01/ H3.AQ	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YGSPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 1)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号3)	20
L1.LG F/L3.K W/P6E 01	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SC <u>RASQLGSFYLA</u> WYQQKPGQA PRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KH</u> <u>YGWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列 番号 4)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号2)	30
L1.LG F/L3.N Y/P6E 01	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 5)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号2)	40

【表 1 - 2】

mAb	軽鎖	重鎖	
L1.GD F/L3.N Y/P6E 01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 6)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号2)	10
L1.LG F/L3.K W/H3. AL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 4)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>ARVSPIALMDY</u> WGQGTLL VTVSS (配列番号7)	20
L1.LG F/L3.K W/H3. AP	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 4)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAPMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号8)	
L1.LG F/L3.K W/H3. AQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 4)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号3)	30
L1.LG F/L3.P Y/H3.A P	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 9)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAPMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号8)	40

【表 1 - 3】

mAb	軽鎖	重鎖	
L1.LG F/L3.P Y/H3.A Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 9)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号3)	10
L1.LG F/L3.N Y/H3.A L	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 10)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAALMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号7)	20
L1.LG F/L3.N Y/H3.A P	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 10)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAPMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号8)	
L1.LG F/L3.N Y/H3.A Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSLGSFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 10)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号 3)	30
L1.GD F/L3.K W/H3. AL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 11)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAALMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号7)	40

【表 1 - 4】

mAb	軽鎖	重鎖	
L1.GD F/L3.K W/H3. AP	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 11)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAPMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号8)	10
L1.GD F/L3.K W/H3. AQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 11)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号 3)	20
L1.GD F/L3.P Y/H3.A Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 12)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号3)	
L1.GD F/L3.N Y/H3.A L	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 13)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAALMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号7)	30
L1.GD F/L3.N Y/H3.A P	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVGDFYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 13)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAPMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号8)	40

【表 1 - 5】

mAb	軽鎖	重鎖	
L1.GD F/L3.N Y/H3.A Q	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S C <u>R</u> <u>ASQSVGDFY</u> LAWYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 14)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCA ASGFTF GSYAMT WVRQAPGKGLE WVSAI SGSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR VSPIAAQMDY WGQGTLV VSS (配列番号3)	10
L3.KW/ P6E01	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S C <u>R</u> <u>ASQSVSSSYL</u> LAWYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KHY</u> <u>GWPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 15)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCA ASGFTF GSYAMT WVRQAPGKGLE WVSAI SGSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR VSPIASGMDY WGQGTLV VSS (配列番号2)	20
L3.PY/ P6E01	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S C <u>R</u> <u>ASQSVSSSYL</u> LAWYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 16)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCA ASGFTF GSYAMT WVRQAPGKGLE WVSAI SGSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR VSPIASGMDY WGQGTLV VSS (配列番号2)	
L3.NY/ P6E01	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S C <u>R</u> <u>ASQSVSSSYL</u> LAWYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YNYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 17)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCA ASGFTF GSYAMT WVRQAPGKGLE WVSAI SGSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR VSPIASGMDY WGQGTLV VSS (配列番号2)	30
L3.PY/ L1.PS/ P6E01	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S C <u>R</u> <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRL SCA ASGFTF GSYAMT WVRQAPGKGLE WVSAI SGSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR VSPIASGMDY WGQGTLV VSS (配列番号2)	40

【表 1 - 6】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.AH/ P6E01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号2)	10
L3.PY/ L1.FF/ P6E01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号2)	20
L3.PY/ L1.PH/ P6E01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 21)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号2)	
L3.PY/ L3.KY/ P6E01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KYY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号2)	30
L3.PY/ L3.KF/ P6E01	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号2)	40

【表 1 - 7】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ H2.QR	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S CR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG T KVEIK (配列番 号 16)	EVQLLES G GGGLVQP G GSRLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQRKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT L V VSS (配列番号24)	10
L3.PY/ H2.DY	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S CR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG T KVEIK (配列番 号 16)	EVQLLES G GGGLVQP G GSRLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>IDYSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT L V VSS (配列番号25)	20
L3.PY/ H2.YQ	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S CR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG T KVEIK (配列番 号 16)	EVQLLES G GGGLVQP G GSRLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SYQGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT L V VSS (配列番号26)	
L3.PY/ H2.LT	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S CR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG T KVEIK (配列番 号 16)	EVQLLES G GGGLVQP G GSRLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SLTGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT L V VSS (配列番号27)	30
L3.PY/ H2.HA	EIVLTQSPGTL S SLSPGERATL S CR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG T KVEIK (配列番 号 16)	EVQLLES G GGGLVQP G GSRLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SHAGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT L V VSS (配列番号28)	40

【表 1 - 8】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ H2.QL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLI Y <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSDFT LTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 16)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADQLKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号29)	10
L3.PY/ H3.YA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 16)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIYAGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号30)	20
L3.PY/ H3.AE	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 16)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAEMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号31)	
L3.PY/ H3.AQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 16)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号3)	30
L3.PY/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 16)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号32)	40

【表 1 - 9】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ P6E01	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番 号 16)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV T VSS (配列番号2)	10
L3.PY/ L1.PS/ H2.QR	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQRKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV T VSS (配列番号24)	20
L3.PY/ L1.PS/ H2.DY	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV T VSS (配列番号25)	
L3.PY/ L1.PS/ H2.YQ	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SYQGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV T VSS (配列番号26)	30
L3.PY/ L1.PS/ H2.LT	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SLTGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV T VSS (配列番号27)	40

【表 1 - 1 0】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.PS/ H2.HA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SHAGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号28)	10
L3.PY/ L1.PS/ H2.QL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQLKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号29)	20
L3.PY/ L1.PS/ H3.YA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIYAGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号30)	
L3.PY/ L1.PS/ H3.AE	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAEMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号31)	30
L3.PY/ L1.PS/ H3.AQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号3)	40

【表 1 - 1 1】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.PS/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPS</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号32)	10
L3.PY/ L1.AH/ H2.QR	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQRKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号24)	20
L3.PY/ L1.AH/ H2.DY	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号25)	
L3.PY/ L1.AH/ H2.YQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SYQGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号26)	30
L3.PY/ L1.AH/ H2.LT	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SLTGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号27)	40

【表 1 - 1 2】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.AH/ H2.HA	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SHAGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LVT VSS (配列番号28)	10
L3.PY/ L1.AH/ H2.QL	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQLKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LVT VSS (配列番号29)	20
L3.PY/ L1.AH/ H3.YA	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIYAGMDY</u> WGQGT LVT VSS (配列番号30)	
L3.PY/ L1.AH/ H3.AE	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAEMDY</u> WGQGT LVT VSS (配列番号31)	30
L3.PY/ L1.AH/ H3.AQ	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 19)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGT LVT VSS (配列番号3)	40

【表 1 - 1 3】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.AH/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAHYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRATGIPDRFSGSGS</u> GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 19)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号32)	10
L3.PY/ L1.FF/ H2.QR	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRATGIPDRFSGSGS</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADQRKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号24)	20
L3.PY/ L1.FF/ H2.DY	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRATGIPDRFSGSGS</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号25)	30
L3.PY/ L1.FF/ H2.YQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRATGIPDRFSGSGS</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SYQGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号26)	40
L3.PY/ L1.FF/ H2.LT	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRATGIPDRFSGSGS</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SLTGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号27)	

【表 1 - 1 4】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.FF/ H2.HA	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SHAGGN</u> TFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV VSS (配列番号28)	10
L3.PY/ L1.FF/ H2.QL	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGN</u> TFYADQLKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGT LV VSS (配列番号29)	20
L3.PY/ L1.FF/ H3.YA	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGN</u> TFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIYAGMDY</u> WGQGT LV VSS (配列番号30)	
L3.PY/ L1.FF/ H3.AE	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGN</u> TFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAEMDY</u> WGQGT LV VSS (配列番号31)	30
L3.PY/ L1.FF/ H3.AQ	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQG TKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGN</u> TFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGT LV VSS (配列番号3)	40

【表 1 - 1 5】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.FF/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSFFLAWYQQKPGQAPR</u> LLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYP</u> <u>YPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 20)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号32)	10
L3.PY/ L1.PH/ H2.QR	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPHYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 21)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADQRKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号24)	20
L3.PY/ L1.PH/ H2.HA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPHYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 21)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SHAGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号28)	
L3.PY/ L1.PH/ H3.AE	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPHYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 21)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAEMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号31)	30
L3.PY/ L1.PH/ H3.AQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPHYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 21)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号3)	40

【表 1 - 1 6】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L1.PH/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPHYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 21)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号32)	10
L3.PY/ L3.KY/ H2.QR	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KYY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQRKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号24)	20
L3.PY/ L3.KY/ H2.DY	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KYY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号25)	
L3.PY/ L3.KY/ H2.YQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KYY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SYQGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号26)	30
L3.PY/ L3.KY/ H2.LT	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KYY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SLTGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号27)	40

【表 1 - 17】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L3.KY/ H2.HA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCKYY <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SHAGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号28)	10
L3.PY/ L3.KY/ H2.QL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCKYY <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQLKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号29)	20
L3.PY/ L3.KY/ H3.YA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCKYY <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIYAGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号30)	
L3.PY/ L3.KY/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCKYY <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 22)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号32)	30
L3.PY/ L3.KF/ H2.DY	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCKFY <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号25)	40

【表 1 - 1 8】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L3.KF/ H2.YQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCK <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SYQGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号26)	10
L3.PY/ L3.KF/ H2.LT	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCK <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SLTGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号27)	20
L3.PY/ L3.KF/ H2.QL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCK <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADQLKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号29)	
L3.PY/ L3.KF/ H3.YA	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCK <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIYAGMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号30)	30
L3.PY/ L3.KF/ H3.AE	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYCK <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFG <u>SYAMT</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNT</u> FYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAEMDY</u> WGQGTLLV VSS (配列番号31)	40

【表 1 - 1 9】

mAb	軽鎖	重鎖	
L3.PY/ L3.KF/ H3.AQ	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号3)	10
L3.PY/ L3.KF/ H3.TA Q	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>KFY</u> <u>PYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 23)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTR <u>VSPIAAQMDY</u> WGQGLT VSS (配列番号32)	20
P5A2_ VHVL	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YGSWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 34)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWRQAPGKGLE WVSAI <u>SDSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGLT VSS (配列番号 33)	
A02_R d4_0.6 nM_C0 6	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSVIYLAWYQQKPGQAPR</u> LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QRWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 36)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWRQAPGKGLE WVSAI <u>SDSGGSAWYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGLT VSS (配列番号 35)	30
A02_R d4_0.6 nM_C0 9	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQSWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 38)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWRQAPGKGLE WVSAI <u>SDSGGSMWYADSVKGRF</u> TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARY <u>WPMSL</u> WGQGLT VSS (配列番号 37)	40

【表 1 - 2 0】

mAb	軽鎖	重鎖	
A02_R d4_6n M_C16 (P5AC 16)	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSDIYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QTWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 40)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF SSYAMN WVRQAPGKGLE WVSAI <u>Sd</u> FGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 39)	10
A02_R d4_6n M_C03	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSNLYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQGWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 41)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF SSYAMN WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SDSGG</u> STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 33)	20
A02_R d4_6n M_C01	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAYYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YERWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 43)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF SSYAMN WVRQAPGKGLE WVSAI <u>TASGG</u> STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 42)	
A02_R d4_6n M_C26	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSLYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QVWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 45)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF SSYAMN WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SDSGG</u> STYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 44)	30
A02_R d4_6n M_C25	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YLDWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 47)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF SSYAMN WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SdSGGSRWY</u> ADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMP</u> TPWGQGTLVTVSS (配列番号 46)	40

【表 1 - 2 1】

mAb	軽鎖	重鎖	
A02_R d4_6n M_C22	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQVWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番 号 49)	EVQLLES GG LVQP GG SLRLS CA ASGFTF SS YAMN WVR QAPGK GLE WVSAVL <u>dSGGSTYYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMT</u> PWGQGT LV TVSS (配列番号 48)	10
A02_R d4_6n M_C19	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSVIYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYL</u> <u>AWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番号 51)	EVQLLES GG LVQP GG SLRLS CA ASGFTF SS YAMN WVR QAPGK GLE WVSAIS <u>dSGGSRWYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSD</u> WGQGT LV TVSS (配列番号 50)	20
A02_R d4_0.6 nM_C0 3	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YFTWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番 号 53)	EVQLLES GG LVQP GG SLRLS CA ASGFTF SS YAMN WVR QAPGK GLE WVSAIS <u>dSGGSKWYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGT LV TVSS (配列番号 52)	
A02_R d4_6n M_C07	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSPyYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYE</u> <u>RWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番号 55)	EVQLLES GG LVQP GG SLRLS CA ASGFTF SS YAMN WVR QAPGK GLE WVSAI <u>GGSGGSLPYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSD</u> SWGQGT LV TVSS (配列番号 54)	30
A02_R d4_6n M_C23	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSVEYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YARWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番 号 57)	EVQLLES GG LVQP GG SLRLS CA ASGFTF SS YAMN WVR QAPGK GLE WVSAIS <u>dSGGSGWYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGT LV TVSS (配列番号 56)	40

【表 1 - 2 2】

mAb	軽鎖	重鎖	
A02_R d4_0.6 nM_C1 8	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSEIYL</u> AWYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYF</u> <u>GWPLTF</u> FGQGTKVEIK (配列番号 59)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAVL <u>dSGGSTYYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 58)	10
A02_R d4_6n M_C10	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVEMSYL</u> AWYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YAHWPLTF</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 61)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAIS <u>dSGGSCWYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMT</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 60)	20
A02_R d4_6n M_C05	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYL</u> AWYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQRWPLTF</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 63)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAIF <u>aSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMT</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 62)	30
A02_R d4_0.6 nM_C1 0	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAQYL</u> AWYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQRWPLTF</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 65)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAIS <u>gWGGSLPYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 64)	40
A02_R d4_6n M_C04	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAIYL</u> AWYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QVWPLTF</u> FGQGTKVEIK (配列番号 67)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAIM <u>sSGGPLYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMAL</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 66)	

【表 1 - 2 3】

mAb	軽鎖	重鎖	
A02_R d4_0.6 nM_C2 6	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>G</u> <u>PSQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QSWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番号 69)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMN WVR QAPGKGLE WVSAIL <u>mSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGT LV TVSS (配列番号 68)	10
A02_R d4_0.6 nM_C1 3	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>ASQSVSSSYWA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YESWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番 号 71)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMN WVR QAPGKGLE WVSAIS <u>dSGGYRYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGT LV TVSS (配列番号 70)	20
A02_R d4_0.6 nM_C0 1 (P5AC 1)	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>GGQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQSWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番 号 73)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMN WVR QAPGKGLE WVSAIL <u>sSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGT LV TVSS (配列番号 72)	
A02_R d4_6n M_C08	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>ASQSVSFIYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>GSWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番号 75)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMN WVR QAPGKGLE WVSAIL <u>dSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSPWGQGT</u> LV TVSS (配列番号 74)	30
P5C1_ VHVL (PC1)	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>ASQSVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>TSPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 77)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMS WVR QAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSTYYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDSWGQGT</u> LV TVSS (配列番号 76)	40

【表 1 - 2 4】

mAb	軽鎖	重鎖	
C01_R d4_6n M_C24	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSPEYLA</u> WYQQKPGQAP RLLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YSVWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 79)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLS CA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSL</u> PYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	10
C01_R d4_6n M_C26	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSAIYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>AWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 317)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLS CA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSL</u> PYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	20
C01_R d4_6n M_C10	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSvYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>TWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 79)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLS CA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSL</u> PYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	
C01_R d4_0.6 nM_C2 7	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>RWPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 81)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLS CA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSL</u> PYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	30
C01_R d4_6n M_C20	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSPIYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>AFPLT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 82)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLS CA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSL</u> PYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	40

【表 1 - 2 5】

mAb	軽鎖	重鎖	
C01_R d4_6n M_C12 (PC1C 12)	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>WLSQSVSSTYLA</u> WYQQKPGQA PRLLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSG SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>Q</u> <u>QYSEWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列 番号 84)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLSCA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGWS</u> YYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 83)	10
C01_R d4_0.6 nM_C1 6	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>ASQSVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>SWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番号 85)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLSCA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSLPY</u> ADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	20
C01_R d4_0.6 nM_C0 9	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>ASQSVSSIFLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>AWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番号 86)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLSCA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSLPY</u> ADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	
C01_R d4_6n M_C09	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>A</u> <u>CSQSVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>AWPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番号 88)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLSCA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAT <u>vgSGGSIGY</u> ADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 87)	30
C01_R d4_0.6 nM_C0 3	EIVLTQSPGTL SL SPGERATLSC <u>R</u> <u>ASCDVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>MRSPLT</u> FGQG TK VEIK (配列番号 89)	EVQLLES GG LVQPGGSLRLSCA ASGFTF SS YPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSLPY</u> ADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	40

【表 1 - 2 6】

mAb	軽鎖	重鎖	
C01_R d4_0.6 nM_C0 6	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASEAVPSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>AFPLTFGQGTKVEIK</u> (配列番号 90)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYPMSWVRQAPGKGLE</u> WVSAI <u>GgSGGSLPYADSVKGTISR</u> DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配 列番号 78)	10
C01_R d4_6n M_C04	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCC <u>SSQSVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLIY <u>DASSRAP</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQYS</u> <u>AFPLTFGQGTKVEIK</u> (配列番号 91)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYPMSWVRQAPGKGLE</u> WVSAI <u>GgSGGSLPYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 78)	20
COMB O_Rd4 _0.6n M_C22 (COM2 2)	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASVRVSSTYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>MKWPLTFGQGTKVEIK</u> (配列番号 93)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYAMN</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SdSGGSRWYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCTRY <u>WPMDI</u> WGQGLTVTVSS (配列番号 92)	
COMB O_Rd4 _6nM_ C21	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAAYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YMCWPLTFGQGTKVEIK</u> (配列番 号 94)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYPMSWVRQAPGKGLE</u> WVSAI <u>GgSGGSLPYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 78)	30
COMB O_Rd4 _6nM_ C10	EIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYWG</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQCWPLTFGQGTKVEIK</u> (配列番 号 96)	EVQLLES GGGLVQP GGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYPMSWVRQAPGKGLE</u> WVSAI <u>GgSGGSIHYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 95)	40

【表 1 - 2 7】

mAb	軽鎖	重鎖	
COMB O_Rd4 _0.6n M_C04	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSTYLAWYQQKPGQAPR</u> LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QSWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 98)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAH <u>IgSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 97)	10
COMB O_Rd4 _6nM_ C25	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSpYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QSWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 100)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDP</u> WGQGLTVTVSS (配列番号 99)	20
COMB O_Rd4 _0.6n M_C21	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGS</u> GTDFTLISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQSWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 38)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GgSGGSLPYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 78)	20
COMB O_Rd4 _6nM_ C11	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSPIYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>KAWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 102)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSLGYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 101)	30
COMB O_Rd4 _0.6n M_C20	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSYLYLA</u> WYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>MEWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 103)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSLPYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMD</u> SWGQGLTVTVSS (配列番号 78)	40

【表 1 - 2 8】

mAb	軽鎖	重鎖	
COMB O_Rd4 _6nM_ C09	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAQYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQAWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 105)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>FASGGSTYYADSVKGRFTI</u> SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 104)	10
COMB O_Rd4 _6nM_ C08	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQKWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 107)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGTWTYYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 106)	20
COMB O_Rd4 _0.6n M_C19	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSAVYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YRAWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 108)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSLPYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	
COMB O_Rd4 _0.6n M_C02	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASIAVSSTYLAWYQQKPGQAPR</u> LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSGS TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>MVWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 109)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>GGSGGSLPYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 78)	30
COMB O_Rd4 _0.6n M_C23	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>PRQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQDWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 111)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAI <u>FGSGGSTYYADSVKGRFT</u> ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 110)	40

【表 1 - 2 9】

mAb	軽鎖	重鎖	
COMB O_Rd4 _0.6n M_C29	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSSYL</u> AWYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQSWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番 号 38)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSA <u>IGSGGSL</u> PYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGTLLTVSS (配列番号 112)	10
COMB O_Rd4 _0.6n M_C09	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSSTYL</u> AWYQQKPGQAPR LLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QEWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番号 113)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSA <u>IGSGGSL</u> PYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGTLLTVSS (配列番号 112)	20
COMB O_Rd4 _6nM_ C12	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSASYL</u> AWYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YMSWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番 号 115)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSA <u>ALGSGGST</u> YYADSVKGRF TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLLTVS S (配列番号 114)	
COMB O_Rd4 _0.6n M_C30	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSYMYL</u> AWYQQKPGQAP RLLIY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>KSWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番号 116)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSA <u>IGSGGST</u> YYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLLTVSS (配列番号 76)	30
COMB O_Rd4 _0.6n M_C14	EIVLTQSPGTL SL SPGERATL SCR <u>ASQSVSALYL</u> AWYQQKPGQAP RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YYGWPL</u> TFGQGTKVEIK (配列番 号 117)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSA <u>IGSGGSL</u> PYADSVKGRFT ISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGTLLTVSS (配列番号 112)	40

【表 1 - 3 0】

mAb	軽鎖	重鎖	
COMB O_Rd4 _6nM_ C07	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQPISSSYLAWYQQKPGQAPR</u> LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>QGWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 119)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAIGGSGGSLPYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMAD</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 118)	10
COMB O_Rd4 _6nM_ C02	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGS</u> GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YEFWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 121)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAISDSGGFVYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 120)	20
COMB O_Rd4 _0.6n M_C05	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSTYLAWYQQKPGQAPR</u> LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>MSWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 123)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSAIGGSGGSTYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMSL</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 122)	
COMB O_Rd4 _0.6n M_C17	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQGISSTYLAWYQQKPGQAPR</u> LLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGSG</u> TDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQY</u> <u>AYWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番号 124)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLE WVSAIGGSGGSLPYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDI</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 112)	30
COMB O_Rd4 _6nM_ C22	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRATGIPDRFSGSGS</u> GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YQGWPLTFGQG</u> TKVEIK (配列番 号 126)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLE WVSACLDSGGSTYYADSVKGRFT ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARY <u>WPMDS</u> WGQGTLVTVSS (配列番号 125)	40

【表 1 - 3 1】

mAb	軽鎖	重鎖
COMB O_Rd4 _0.6n M_C11	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSVRYLAWYQQKPGQAP</u> RLLMY <u>DASIRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QQ</u> <u>YGSWPIT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 128)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYPMSWVRQAPGKGLE</u> WVSA <u>ALGSGGSTYYADSVKGRF</u> TISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARY <u>WPMSL</u> WGQGTLVTVS S (配列番号 127)
P6DY	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYPSWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YPYPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 18)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTF <u>GSYAMTWVRQAPGKGLE</u> WVSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTI SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIASGMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号 25)
P6AP	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQLGSFYLA</u> WYQQKPGQAPRL LIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QHYN</u> <u>YPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番号 80)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTF <u>GSYAMTWVRQAPGKGLE</u> WVSA <u>ISGSGGNTFYADSVKGRFTI</u> SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>VSPIAAPMDY</u> WGQGTLVT VSS (配列番号 8)

10

20

30

【 0 1 2 8 】

【表 1 - 3 2】

mAb	軽鎖	重鎖
コンセンサス	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ WYQQ KPGQAPRLIMYX ₁₃ ASX ₁₄ RAX ₁₅ GIPD RFGSGSGTDFLTISRLEPEDFAVY YCX ₁₆ X ₁₇ YX ₁₈ X ₁₉ PPSFTFGQGKVEI K(式中、X ₁ は、R、G、W、A、もしくはCであり、X ₂ は、A、P、G、L、C、もしくはSであり、X ₃ は、S、G、もしくはRであり、X ₄ は、Q、C、E、V、もしくはIであり、X ₅ は、S、P、G、A、R、もしくはDであり、X ₆ は、V、G、I、もしくはLであり、X ₇ は、S、E、D、P、もしくはGであり、X ₈ は、S、P、F、A、M、E、V、N、D、もしくはYであり、X ₉ は、I、T、V、E、S、A、M、Q、Y、H、R、もしくはFであり、X ₁₀ は、YもしくはFであり、X ₁₁ は、L、W、もしくはPであり、X ₁₂ は、A、S、もしくはGであり、X ₁₃ は、GもしくはDであり、X ₁₄ は、SもしくはIであり、X ₁₅ は、TもしくはPであり、X ₁₆ は、QもしくはKであり、X ₁₇ は、HもしくはYで	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFX ₁ SYX ₂ MX ₃ WVRQAPGKGLEWV SAX ₄ X ₅ X ₆ X ₇ GX ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ YADX ₁₂ X ₁₃ KG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARVSPIX ₁₄ X ₁₅ X ₁₆ MDYWGQGT VTVSS(式中、X ₁ は、GもしくはSであり、X ₂ は、AもしくはPであり、X ₃ は、T、N、もしくはSであり、X ₄ は、I、V、T、H、L、A、もしくはCであり、X ₅ は、S、D、G、T、I、L、F、M、もしくはVであり、X ₆ は、G、Y、L、H、D、A、S、もしくはMであり、X ₇ は、S、Q、T、A、F、もしくはWであり、X ₈ は、GもしくはTであり、X ₉ は、N、S、P、Y、W、もしくはFであり、X ₁₀ は、S、T、I、L、T、A、R、V、K、G、もしくはCであり、X ₁₁ は、F、Y、P、W、H、もしくはGであり、X ₁₂ は、V、R、もしくはLであり、X ₁₃ は、GもしくはTであり、X ₁₄ は、AもしくはYであり、X ₁₅ は、AもしくはSであり、X ₁₆ は、G、Q、L、P、もしくはEである)(配列番号 313)、または

10

20

30

【 0 1 2 9】

【表 1 - 3 3】

mAb	軽鎖	重鎖
	<p>あり、X₁₈は、G、N、もしくはPであり、X₁₉は、S、W、もしくはYである)(配列番号 315)、または</p> <p>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCX₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂WYQQKPGQAPRLMYX₁₃ASX₁₄RAX₁₅GIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYX₁₆X₁₇X₁₈PX₁₉FGQGTKVEIK(式中、X₁は、R、G、W、A、もしくはCであり;X₂は、A、P、G、L、C、もしくはSであり、X₃は、S、G、もしくはRであり、X₄は、Q、C、E、V、もしくはIであり、X₅は、S、L、P、G、A、R、もしくはDであり、X₆は、V、G、もしくはIであり、X₇は、S、E、D、もしくはPであり、X₈は、S、P、F、A、M、E、V、N、D、もしくはYであり、X₉は、I、T、V、E、S、A、M、Q、Y、H、もしくはRであり、X₁₀は、YもしくはFであり、X₁₁は、L、W、もしくはPであり、X₁₂は、A、S、もしくはGであり、X₁₃は、GもしくはDであり、X₁₄は、SもしくはIであり、X₁₅は、TもしくはPであり、X₁₆は、G、Q、E、L、F、A、S、M、R、K、もしくはYであり、X₁₇は、S、R、T、G、R、V、D、A、H、E、K、C、F、もしくはYであり、X₁₈は、W、S、もしくはFであり、X₁₉は、LもしくはIである)(配列番号 316)</p>	<p>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFX₁SYX₂MX₃WVRQAPGKGLEWVSAX₄X₅X₆X₇GX₈X₉X₁₀X₁₁YADX₁₂X₁₃KGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYWPMX₁₄X₁₅WGQGTLVTVSS(式中、X₁は、GもしくはSであり、X₂は、AもしくはPであり、X₃は、T、N、もしくはSであり、X₄は、I、V、T、H、L、A、もしくはCであり、X₅は、S、D、G、T、I、L、F、M、もしくはVであり、X₆は、G、Y、L、H、D、A、S、もしくはMであり、X₇は、S、Q、T、A、F、もしくはWであり、X₈は、GもしくはTであり、X₉は、N、S、P、Y、W、もしくはFであり、X₁₀は、S、T、I、L、T、A、R、V、K、G、もしくはCであり、X₁₁は、F、Y、P、W、H、もしくはGであり、X₁₂は、V、R、もしくはLであり、X₁₃は、GもしくはTであり、X₁₄は、D、S、T、もしくはAであり、X₁₅は、I、S、L、P、もしくはDである)(配列番号 314)</p>

10

20

30

40

【表 1 - 3 4】

mAb	軽鎖	重鎖	
P4G4	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASSRAY</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YGSPPLFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 401)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTF <u>SSYAMS</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SASGGST</u> YYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAR <u>LSWSGAFDN</u> WGQGLT VSS (配列番号 378)	10
P1A11	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCR <u>ASQNVSSSYLAWYQQKPGQAP</u> RLLIY <u>GASYRAT</u> GIPDRFSGSGS GTDFTLTISRLEPEDFAVYYC <u>QH</u> <u>YGSPPSFT</u> FGQGTKVEIK (配列番 号 379)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTF <u>RSYAMS</u> WVRQAPGKGLE WVSAI <u>SGSGGST</u> TFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAT <u>VTSGAFGI</u> WGQGLT VTVSS (配列番号 380)	20

【 0 1 3 1】

BCMAに対するCARの細胞外リガンド結合ドメインのCDR部分(Chothia、Kabata CDR、およびCDR接触領域を含む)も、本明細書に提供されている。CDR領域の判定は、当技術分野の技術の十分範囲内である。一部の実施形態では、CDRは、KabataおよびChothia CDRの組合せ(「組み合わせたCDR」または「拡張CDR」とも呼ばれる)でありうるということが理解される。一部の実施形態では、CDRは、Kabata CDRである。他の実施形態では、CDRは、Chothia CDRである。言い換えれば、1つを超えるCDRを有する実施形態では、CDRは、Kabata、Chothia、組合せCDR、またはこれらの組合せのいずれかでありうる。表2は、本明細書に提供されるCDR配列の例を提供するものである。

【 0 1 3 2】

【表 2 - 1】

表 2

重鎖			
mAb	CDRH1	CDRH2	CDRH3
P6E01 以下の mAb: P6E01/P6E 01;L1.LGF/ L3.KW/P6E 01;L1.LGF/ L3.NY/P6E 01;L1.GDF/ L3.NY/P6E 01;L3.KW/ P6E01;L3. PY/P6E01; L3.NY/P6E 01;L3.PY/L 1.PS/P6E0 1;L3.PY/L1. AH/P6E01; L3.PY/L1.F F/P6E01;L3 .PY/L1.PH/ P6E01;L3. PY/L3.KY/P 6E01;L3.P Y/L3.KF/P6 E01;および L3.PY/P6E 01につい て。	SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)	AISGSGGNTFYADSVKG (配列番号132) (Chothia) SGSGGN (配列番号 133) (Kabat)	VSPIASGMDY (配列番号134)

10

20

30

40

【 0 1 3 3 】

【表 2 - 2】

<p>H3.AQ 以下の mAb: P6E01/H3. AQ; L1.LGF/L3. KW/H3.AQ; L1.LGF/L3. PY/H3.AQ について。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISGSGGNTFYADSVKG (配列番号132) (Chothia) SGSGGN (配列番号 133) (Kabat)</p>	<p>VSPIAAQMDY (配列番号135)</p>	10
<p>H3.AL 以下の mAb: L1.LGF/L3. KW/H3.AL; L1.LGF/L3. NY/H3.AL; および L1.GDF/L3. NY/H3.AL について。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISGSGGNTFYADSVKG (配列番号132) (Chothia) SGSGGN (配列番号 133) (Kabat)</p>	<p>VSPIAALMDY (配列番号136)</p>	20

【 0 1 3 4 】

【表 2 - 3】

<p>H3.AP 以下の mAb: L1.LGF/L3. KW/H3.AP; L1.LGF/L3. PY/H3.AP; L1.LGF/L3 NY/H3.AP; L1.GDF/L3. KW/H3.AP; L1.GDF/L3 NY/H3.AP; P6APにつ いて。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISGSGGNTFYADSVKG (配列番号132) (Chothia) SGSGGN (配列番号 133) (Kabat)</p>	<p>VSPIAAPMDY (配列番号137)</p>	10
<p>H2.QR 以下の mAb: L3.PY/H2. QR;L3.PY/ L1.PS/H2. QR;L3.PY/ L1.AH/H2. QR;L3.PY/ L1.FF/H2.Q R;L3.PY/L1 .PH/H2.QR; および L3.PY/L3.K Y/H2.QRに ついて。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISGSGGNTFYADQRKG (配列番号138) (Chothia) SGSGGN (配列番号 133) (KABAT)</p>	<p>VSPIASGMDY (配列番号134)</p>	20
				30

【 0 1 3 5 】

【表 2 - 4】

<p>H2.DY 以下の mAb: L3.PY/H2.D Y; P6DY; L3.PY/L1.P S/H2.DY;L3 .PY/L1.AH/ H2.DY;L3.P Y/L1.FF/H2 .DY;L3.PY/ L3.KY/H2.D Y;および L3.PY/L3.K F/H2.DYに ついて。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AIDYSGGNTFYADSVKG (配 列番号139) (Chothia) DYSSGN (配列番号 140) (KABAT)</p>	<p>VSPIASGMDY (配列番号134)</p>	10
<p>H2.YQ 以下の mAb: L3.PY/H2.Y Q;L3.PY/L1 .PS/H2.YQ; L3.PY/L1.A H/H2.YQ;L 3.PY/L1.FF /H2.YQ;L3. PY/L3.KY/ H2.YQ;およ び L3.PY/L3.K F/H2.YQに ついて。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISYQGGNTFYADSVKG (配列番号141) (Chothia) SYQGGN (配列番号 142) (KABAT)</p>	<p>VSPIASGMDY (配列番号134)</p>	30

20

40

【 0 1 3 6 】

【表 2 - 5】

<p>H2.LT 以下の mAb: L3.PY/H2.L T;L3.PY/L1. PS/H2.LT;L 3.PY/L1.AH /H2.LT;L3. PY/L1.FF/H 2.LT;L3.PY/ L3.KY/H2.L T;および L3.PY/L3.K F/H2.LTに ついて。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISLTGGNTFYADSVKG (配 列番号143) (Chothia) SLTGGN (配列番号 144) (KABAT)</p>	<p>VSPIASGMDY (配列番号134)</p>	10
<p>H2.HA 以下の mAb: L3.PY/H2.H A;L3.PY/L1 .AH/H2.HA; L3.PY/L1.F F/H2.HA;L3 .PY/L1.PH/ H2.HA;およ び L3.PY/L3.K Y/H2.HAIに ついて。</p>	<p>SYAMT (配列番号 129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号 130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列 番号131) (拡張)</p>	<p>AISHAGGNTFYADSVKG (配 列番号145) (Chothia) SHAGGN (配列番号 146) (KABAT)</p>	<p>VSPIASGMDY (配列番号134)</p>	20
				30

【 0 1 3 7 】

【表 2 - 7】

<p>H3.AE 以下の mAb: L3.PY/H3.AE; L3.PY/L1.AH/H3.AE; L3.PY/L1.FF/H3.AE; L3.PY/L1.PH/H3.AE; および L3.PY/L3.KF/H3.AE について。</p>	<p>SYAMT (配列番号129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列番号131) (拡張)</p>	<p>AISGSGGNTFYADSVKG (配列番号132) (Chothia) SGSGGN (配列番号133) (Kabat)</p>	<p>VSPIAAEMDY (配列番号149)</p>	10
<p>H3.TAQ 以下の mAb: L3.PY/H3.TAQ; L3.PY/L1.PS/H3.TAQ; L3.PY/L1.AH/H3.TAQ; L3.PY/L1.FF/H3.TAQ; L3.PY/L1.PH/H3.TAQ; および L3.PY/L3.KF/H3.TAQ について。</p>	<p>SYAMT (配列番号129) (Kabat); GFTFGSY (配列番号130) (Chothia); GFTFGSYAMT (配列番号131) (拡張)</p>	<p>AISGSGGNTFYADSVKG (配列番号132) (Chothia) SGSGGN (配列番号133) (Kabat)</p>	<p>VSPIAAQMDY (配列番号135)</p>	20
<p>P5A2_VH VLおよび A02_Rd4_6nM_C03</p>	<p>SYAMN (配列番号150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列番号152) (拡張)</p>	<p>AISDSGGSTYYADSVKG (配列番号153) (Chothia) SDSGGS (配列番号154) (Kabat)</p>	<p>YWPMDI (配列番号155)</p>	40

【 0 1 3 9 】

【表 2 - 8】

COMBO_Rd4_0.6nM_C17;COMBO_Rd4_0.6nM_C14;COMBO_Rd4_0.6nM_C29; および COMBO_Rd4_0.6nM_C09	SYPMS (配列番号156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列番号157) (拡張)	AIGGSGGSLPYADSVKG (配列番号158) (Chothia) GGSGGS (配列番号159) (Kabat)	YWPMDI (配列番号155)	10
C01_Rd4_6nM_C04; C01_Rd4_0.6nM_C03; C01_Rd4_0.6nM_C06; COMBO_Rd4_0.6nM_C02; COMBO_Rd4_6nM_C21; C01_Rd4_6nM_C26;	SYPMS (配列番号156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列番号157) (拡張)	AIGGSGGSLPYADSVKG (配列番号158) (Chothia) GGSGGS (配列番号159) (Kabat)	YWPMDS (配列番号161)	20
				30
				40

【表 2 - 9】

COMBO_ Rd4_0.6n M_C19; C01_Rd4 _6nM_C2 4; C01_Rd4 _6nM_C2 0; C01_Rd4 _0.6nM_ C09; COMBO_ Rd4_0.6n M_C21; C01_Rd4 _0.6nM_ C04_C27 ; C01_Rd4 _0.6nM_ C16; C01_Rd4 _6nM_C1 0; COMBO_ Rd4_0.6n M_C20			
---	--	--	--

10

20

30

40

【 0 1 4 1 】

【表 2 - 1 0】

P5C1_V HVL (PC1)お よび COMBO_ Rd4_0.6n M_C30	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGSGGGSTYYADSVKG (配列番号162) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMSD (配列 番号161)	10
A02_Rd4 _0.6nM_ C06	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSAWYADSVKG (配列番号163) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	20
A02_Rd4 _0.6nM_ C09	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSAWYADSVKG (配列番号163) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	30
A02_Rd4 _0.6nM_ C16; A02_Rd4 _6nM_C1 6 (P5A16)	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDFGGSTYYADSVKG (配列番号165) (Chothia) SDFGGS (配列番号 166) (Kabat)	YWPMDI (配列番 号155)	40

【 0 1 4 2】

【表 2 - 1 1】

A02_Rd4 _6nM_C0 1	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AITASGGSTYYADSVKG (配列番号167) (Chothia) TASGGS (配列番号 168) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	10
A02_Rd4 _6nM_C2 6	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSTYYADSVKG (配列番号153) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	20
A02_Rd4 _6nM_C2 5	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSRWYADSVKG (配列番号169) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMTTP (配列番 号170)	30
A02_Rd4 _6nM_C2 2	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AVLDSGGSTYYADSVKG (配列番号171) (Chothia) LDSGGS (配列番号 172) (Kabat)	YWPMTTP (配列番 号170)	40

【表 2 - 1 2】

A02_Rd4 _6nM_C1 9	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSRWYADSVKG (配列番号169) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMSD (配列 番号173)	10
A02_Rd4 _0.6nM_ C03	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSKWYADSVKG (配列番号174) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	20
A02_Rd4 _6nM_C0 7	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AIGSGGSLPYADSVKG(配 列番号158) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMSD (配列 番号161)	30
A02_Rd4 _6nM_C2 3	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSGWYADSVKG (配列番号175) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	40

【表 2 - 1 3】

A02_Rd4 _0.6nM_ C18	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AVLDSSGGSTYYADSVKG (配列番号171) (Chothia) LDSGGS (配列番号 172) (Kabat)	YWPM SL (配列番 号164)	10
A02_Rd4 _6nM_C1 0	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSCWYADSVKG (配列番号176) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPM TP (配列番 号170)	20
A02_Rd4 _6nM_C0 5	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AIFASGGSTYYADSVKG (配列番号177) (Chothia) FASGGS (配列番号 178) (Kabat)	YWPM TP (配列番 号170)	20
A02_Rd4 _0.6nM_ C10	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISGWGGSLPYADSVKG (配列番号304) (Chothia) SGWGGS (配列番号 179) (Kabat)	YWPM DS (配列 番号161)	30
A02_Rd4 _6nM_C0 4	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AIMSSGGPLYADSVKG (配列番号180) (Chothia) MSSGGP (配列番号 181) (Kabat)	YWPM AL (配列番 号182)	40

【 0 1 4 5】

【表 2 - 1 4】

A02_Rd4 _0.6nM_ C26	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AILMSGGSTYYADSVKG (配列番号183) (Chothia) LMSGGS (配列番号 184) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	10
A02_Rd4 _0.6nM_ C13	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGYRYADSVKG (配列番号185) (Chothia) SDSGGY (配列番号 186) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	20
A02_Rd4 _0.6nM_ C01 (P5AC1)	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AILSSGGSTYYADSVKG (配列番号187) (Chothia) LSSGGS (配列番号 188) (Kabat)	YWPMDI (配列番 号155)	30
A02_Rd4 _6nM_C0 8	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AILDSGGSTYYADSVKG (配 列番号160) (Chothia) LDSGGS (配列番号 172) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号189)	40
C01_Rd4 _6nM_C1 2 (PC1C12)	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGSGGWSYYADSVKG (配列番号190) (Chothia) GGSGGW (配列番号 191) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号161)	

【 0 1 4 6】

【表 2 - 1 5】

C01_Rd4 _6nM_C0 9	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	ATVGSGGSIGYADSVKG (配列番号192) (Chothia) VGSGGS (配列番号 193) (Kabat)	YWPMDs (配列 番号161)	10
COMBO_ Rd4_0.6n M_C22 (COM22)	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGSRWYADSVKG (配列番号169) (Chothia) SDSGGS (配列番号 154) (Kabat)	YWPMDI (配列番 号155)	20
COMBO_ Rd4_0.6n M_C10	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGSGGSIHYADSVKG (配 列番号194) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMDs (配列 番号161)	30
COMBO_ Rd4_0.6n M_C04	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AHIGSGGSTYYADSVKG (配列番号195) (Chothia) IGSGGS (配列番号 196) (Kabat)	YWPMDs (配列 番号161)	40

【 0 1 4 7】

【表 2 - 1 6】

COMBO_ Rd4_0.6n M_C25	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGGSGGSTYYADSVKG (配列番号162) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMDP (配列 番号197)	10
COMBO_ Rd4_6nM _C21	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGGSGGSLPYADSVKG (配列番号158) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	20
COMBO_ Rd4_6nM _C11	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGGSGGSLGYADSVKG (配列番号198) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	30
COMBO_ Rd4_6nM _C09	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIFASGGSTYYADSVKG (配列番号177) (Chothia) FASGGS (配列番号 178) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	40

【 0 1 4 8】

【表 2 - 1 7】

COMBO_ Rd4_6nM _C08	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGGSGTWYYADSVKG (配列番号199) (Chothia) GGSGTW (配列番号 200) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	10
COMBO_ Rd4_0.6n M_C23	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	ALFGSGGSTYYADSVKG (配列番号201) (Chothia) FGSGGS (配列番号202) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	20
COMBO_ Rd4_0.6n M_C12	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AALGSGGSTYYADSVKG (配列番号203) (Chothia) LGSGGS (配列番号 204) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	20
COMBO_ Rd4_6nM _C07	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AIGGSGGSLPYADSVKG (配列番号158) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMAD (配列 番号205)	30
COMBO_ Rd4_6nM _C02	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AISDSGGFVYYADSVKG (配列番号206) (Chothia) SDSGGF (配列番号 207) (Kabat)	YWPMDS (配列 番号161)	40

【表 2 - 1 8】

COMBO_ Rd4_6nM _C05	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	AIGSGGGSTYYADSVKG (配列番号162) (Chothia) GGSGGS (配列番号 159) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	10
COMBO_ Rd4_6nM _C22	SYAMN (配列番号 150) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMN (配列 番号152) (拡張)	ACLDSGGSTYYADSVKG (配列番号208) (Chothia) LDSGGS (配列番号 172) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号161)	20
COMBO_ Rd4_6nM _C11	SYPMS (配列番号 156) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYPMS (配列 番号157) (拡張)	AALGSGGGSTYYADSVKG (配列番号203) (Chothia) LGSGGS (配列番号 204) (Kabat)	YWPMSL (配列番 号164)	30

【 0 1 5 0 】

【表 2 - 1 9】

重鎖コン センサス	<p>SYX₁MX₂(式中、X₁は、AまたはPであり、X₂は、T、N、またはS(Kabat)である)(配列番号301)</p> <p>GFTFX₁SY(式中、X₁は、GまたはS(Chothia)である)(配列番号302)</p> <p>GFTFX₁SYX₂MX₃(式中、X₁は、GまたはSであり、X₂は、AまたはPであり、X₃は、T、N、またはSである)(配列番号303)(拡張)</p>	<p>AX₁X₂X₃X₄GX₅X₆X₇X₈YADX₉X₁₀KG(式中、X₁は、I、V、T、H、L、A、またはCであり、X₂は、S、D、G、T、I、L、F、M、またはVであり、X₃は、G、Y、L、H、D、A、S、またはMであり、X₄は、S、Q、T、A、F、またはWであり、X₅は、GまたはTであり、X₆は、N、S、P、Y、W、またはFであり、X₇は、S、T、I、L、T、A、R、V、K、G、またはCであり、X₈は、F、Y、P、W、H、またはGであり、X₉は、V、R、またはLであり、X₁₀は、GまたはTである)(Chothia)(配列番号305)</p> <p>X₁X₂X₃X₄X₅X₆(式中、X₁は、S、V、I、D、G、T、L、F、またはMであり、X₂は、G、Y、L、H、D、A、S、またはMであり、X₃は、S、G、F、またはWであり、X₄は、GまたはSであり、X₅は、GまたはTであり、X₆は、N、S、P、Y、またはWである)(Kabat)(配列番号306)</p>	<p>VSPIX₁X₂X₃MDY(式中、X₁は、AまたはYであり、X₂は、AまたはSであり、X₃は、G、Q、L、P、またはEである)(配列番号307)</p> <p>YWPMX₁X₂(式中、X₁は、D、S、T、またはAであり、X₂は、I、S、L、P、またはDである)(配列番号308)</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--------------	--	--	--	---

【表 2 - 2 0】

P4G4	SYAMS (配列番号 381) (Kabat); GFTFSSY (配列番号 151) (Chothia); GFTFSSYAMS (配列 番号382) (拡張)	SASGGS (配列番号 383) (Kabat) AISASGGSTYYADSVKG (配 列番号384) (Chothia)	LSWSGAFDN (配 列番号385)
P1A11	SYAMS (配列番号 386) (Kabat); GFTFRSY (配列番号 387) GFTFRSYAMS (配列 番号388)	SGSGGS (配列番号 389) (Kabat) AISGSGGSTFYADSVKG (配 列番号390) (Chothia)	VGTSGAFGI (配 列番号391)

10

20

【 0 1 5 2】

【表 2 - 2 1】

軽鎖			
mAb	CDRL1	CDRL2	CDRL3
P6E01 以下の mAb: P6E01/P6 E01;およ び P6E01/H3. AQについ て。	RASQSVSSSYLA (配 列番号209)	GASSRAT (配列番号 210)	QHYGSPPSFT (配 列番号211)
L1.LGF/L3 .KW 以下の mAb: L1.LGF/L3 .KW/P6E0 1;L1.LGF/ L3.KW/H3. AL;L1.LGF /L3.KW/H3 .AP;およ び L1.LGF/L3 .KW/H3.A Qについ て。	RASQSLGSFYLA (配列番号212)	GASSRAT (配列番号 210)	KHYGWPPSFT (配 列番号213)

10

20

30

【 0 1 5 3 】

【表 2 - 2 2】

<p>L1.LGF/L3 .NY 以下の mAb: L1.LGF/L3 .NY/P6E0 1;L1.LGF/ L3.NY/H3. AL;L1.LGF /L3.NY/H3 .AP;およ び L1.LGF/L3 .NY/H3AQ につい て。</p>	<p>RASQSLGSFYLA (配列番号212)</p>	<p>GASSRAT (配列番号 210)</p>	<p>QHYNPPSFT (配 列番号214)</p>	10
<p>L1.GDF/L 3.NY 以下の mAb: L1.GDF/L 3.NY/P6E 01;L1.GD F/L3.NY/H 3.AL;L1.G DF/L3.NY/ H3.AP;お よび L1.GDF/L 3.NY/H3.A Qについ て。</p>	<p>RASQSVGDFYLA (配列番号215)</p>	<p>GASSRAT (配列番号 210)</p>	<p>QHYNPPSFT (配 列番号214)</p>	20
				30
				40

【 0 1 5 4 】

【表 2 - 2 3】

<p>L1.LGF/L3 .PY 以下の mAb: L1.LGF/L3 .PY/H3.AP ;および L1.LGF/L3 .PY/H3.A Qについ て。</p>	<p>RASQSLGSFYLA (配列番号212)</p>	<p>GASSRAT (配列番号 210)</p>	<p>QHYPYPPSFT (配列番号216)</p>	10
<p>L1.GDF/L 3.KW 以下の mAb: L1.GDF/L 3.KW/H3. AL;L1.GD F/L3.KW/ H3.AP;お よび L1.GDF/L 3.KW/H3. AQについ て。</p>	<p>RASQSVGDFYLA (配列番号215)</p>	<p>GASSRAT (配列番号 210)</p>	<p>KHYGWPPSFT (配 列番号213)</p>	20
				30

【 0 1 5 5 】

【表 2 - 2 4】

L1.GDF /L3.PY/H 3.AQ	RASQSVGDFYLA (配列番号215)	GASSRAT (配列番号 210)	QHYPYPPSFT (配 列番号216)	
L3.KW/P 6E01	RASQSVSSSYLA (配 列番号209)	GASSRAT (配列番号 210)	KHYGWPPSFT (配 列番号213)	10
L3.PY 以下の mAb: L3.PY/P6 E01;L3.PY /H2.QR;L3 .PY/H2.DY ;L3.PY/H2. YQ;L3.PY/ H2.LT;L3. PY/H2.HA; L3.PY/H2. QL;L3.PY/ H3.YA;L3. PY/H3.AE; L3.PY/H3. AQ;L3.PY/ H3.TAQに ついて。	RASQSVSSSYLA (配 列番号209)	GASSRAT (配列番号 210)	QHYPYPPSFT (配列番号216)	20
L3.NY/P 6E01	RASQSVSSSYLA (配 列番号209)	GASSRAT (配列番号 210)	QHYNPPSFT (配列番号214)	30

【 0 1 5 6 】

【表 2 - 2 8】

<p>L3.PY/L1. PH 以下の mAb: L3.PY/L1. PH/P6E01 ;L3.PY/L1. PH/H2.QR ;L3.PY/L1. PH/H2.HA ;L3.PY/L1. PH/H3.AE; L3.PY/L1. PH/H3.AQ ;および L3.PY/L1. PH/H3.TA Qについ て。</p>	<p>RASQSVSPHYLA (配列番号219)</p>	<p>GASSRAT (配列番号 210)</p>	<p>QHYPYPPSFT (配列番号216)</p>
---	-----------------------------------	-------------------------------	---------------------------------

10

20

【 0 1 6 0 】

【表 2 - 3 0】

<p>L3.PY/L3. KF 以下の mAb: L3.PY/L3. KF/H2.DY; L3.PY/L3. KF/H2.YQ; L3.PY/L3. KF/H2.LT; L3.PY/L3. KF/H2.QL; L3.PY/L3. KF/H3.YA; L3.PY/L3. KF/H3.AE; L3.PY/L3. KF/H3.AQ; および L3.PY/L3. KF/H3.TA Qについ て</p>	<p>RASQSVSSSYLA (配列番号209)</p>	<p>GASSRAT (配列番号 210)</p>	<p>KFYPPPSFT (配列 番号220)</p>	10
<p>P5A2_V HVL (P5A)</p>	<p>RASQSVSSSYLA (配列番号209)</p>	<p>DASIRAT (配列番号221)</p>	<p>QQYGSWPLT (配列 番号222)</p>	30
<p>A02_Rd 4_0.6nM _C06</p>	<p>RASQSVSVIYLA (配列番号223)</p>	<p>DASIRAT (配列番号221)</p>	<p>QQYQRWPLT (配列番号224)</p>	

【 0 1 6 2】

【表 2 - 3 1】

A02_Rd 4_0.6nM _C09;C OMBO_ Rd_0.6n M_C29; および COMBO _Rd4_0. 6nM_C2 1	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQSWPLT (配列番号225)	10
A02_Rd 4_6nM_ C16 (P5AC1 6)	RASQSVSDIYLA (配列番号226)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQWPLT (配列 番号227)	20
A02_Rd 4_6nM_ C03	RASQSVSNIYLA (配 列番号228)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQGWPLT (配列 番号229)	
A02_Rd 4_6nM_ C01	RASQSVSAYYLA (配列番号230)	DASIRAT (配列番号221)	QQYERWPLT (配列番号231)	30
A02_Rd 4_6nM_ C26	RASQSVSSIYLA (配列番号232)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQVWPLT (配列番号233)	
A02_Rd 4_6nM_ C25	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYLDWPLT (配列番号234)	
A02_Rd 4_6nM_ C22	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQVWPLT (配列番号233)	40

【表 2 - 3 2】

A02_Rd 4_6nM_ C19	RASQSVSVIYLA (配列番号223)	DASIRAT (配列番号221)	QQYLAWPLT (配列番号236)	
A02_Rd 4_0.6nM _C03	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYFTWPLT (配列番号237)	
A02_Rd 4_6nM_ C07	RASQSVSPYYLA (配列番号238)	DASIRAT (配列番号221)	QQYERWPLT (配列番号231)	10
A02_Rd 4_6nM_ C23	RASQSVSVEYLA (配列番号239)	DASIRAT (配列番号221)	QQYARWPLT (配列番号240)	
A02_Rd 4_0.6nM _C18	RASQSVSEIYLA (配列番号241)	DASIRAT (配列番号221)	QQYFGWPLT (配列番号242)	20
A02_Rd 4_6nM_ C10	RASQSVEMSYLA (配列番号243)	DASIRAT (配列番号221)	QQYAHWPLT (配列番号244)	
A02_Rd 4_6nM_ C05	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQRWPLT (配列番号224)	30
A02_Rd 4_0.6nM _C10	RASQSVSAQYLA (配列番号245)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQRWPLT (配列番号224)	
A02_Rd 4_6nM_ C04	RASQSVSAIYLA (配列番号235)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQVWPLT (配列番号233)	
A02_Rd 4_0.6nM _C26	GPSQSVSSSYLA (配列番号246)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQSWPLT (配列番号225)	40

【 0 1 6 4 】

【表 2 - 3 3】

A02_Rd 4_0.6nM _C13	RASQSVSSSYWA (配列番号247)	DASIRAT (配列番号221)	QQYESWPLT (配列番号248)	
A02_Rd 4_0.6nM _C01 (P5AC1)	RGGQSVSSSYLA (配列番号249)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQSWPLT (配列番号225)	10
A02_Rd 4_6nM_ C08	RASQSVSFIYLA (配列番号250)	DASIRAT (配列番号221)	QQYGSWPLT (配列 番号222)	
P5C1_V HVL (PC1)	RASQSVSSTYLA (配列番号251)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSTSPLT (配列番号253)	
C01_Rd 4_6nM_ C24	RASQSVSPEYLA (配列番号254)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSVWPLT (配列番号255)	20
C01_Rd 4_6nM_ C26	RASQSVSAIYLA (配列番号235)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSAWPLT (配列番号256)	
C01_Rd 4_6nM_ C10	RASQSVSSVYLA (配列番号257)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSTWPLT (配列番号258)	30
C01_Rd 4_0.6nM _C27	RASQSVSSTYLA (配列番号251)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSRWPLT (配列番号259)	
C01_Rd 4_6nM_ C20	RASQSVSPIYLA (配列番号260)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSAFPLT (配列番号261)	40

【 0 1 6 5 】

【表 2 - 3 4】

C01_Rd 4_6nM_ C12 (PC1C1 2)	WLSQSVSSTYLA (配列番号262)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSEWPLT (配列番号263)	
C01_Rd 4_0.6nM _C16	RASQSVSSTYLA (配列番号251)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSSWPLT (配列番号264)	10
C01_Rd 4_0.6nM _C09	RASQSVSSIFLA (配列番号265)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSAWPLT (配列番号256)	
C01_Rd 4_6nM_ C09	ACSQSVSSTYLA (配列番号266)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSAWPLT (配列番号256)	20
C01_Rd 4_0.6nM _C03	RASCDVSSTYLA (配列番号267)	DASSRAP (配列番号252)	QQYMRSPPLT (配列番号268)	
C01_Rd 4_0.6nM _C06	RASEAVPSTYLA (配列番号269)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSAFPLT (配列番号261)	
C01_Rd 4_0.6nM _C04	CSSQSVSSTYLA (配列番号270)	DASSRAP (配列番号252)	QQYSAFPLT (配列番号261)	30
COMBO _Rd4_0. 6nM_C2 2 (COM22)	RASVRVSSTYLA (配列番号271)	DASIRAT (配列番号221)	QQYMKWPLT (配列番号272)	40

【 0 1 6 6 】

【表 2 - 3 5】

COMBO _Rd4_6 nM_C21	RASQSVSAAyla (配列番号273)	DASIRAT (配列番号221)	QQYMCWPLT (配列番号274)	
COMBO _Rd4_6 nM_C10	RASQSVSSSYWG (配列番号275)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQCWPLT (配列番号276)	
COMBO _Rd4_0. 6nM_C0 4	RASQSVSSTyLA (配列番号251)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQSWPLT (配列番号225)	10
COMBO _Rd4_6 nM_C25	RASQSVSSPYLA (配 列番号277)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQSWPLT (配列番号225)	
COMBO _Rd4_6 nM_C11	RASQSVSPiYLA (配列番号260)	DASIRAT (配列番号221)	QQYKAWPLT (配列番号278)	20
COMBO _Rd4_0. 6nM_C2 0	RASQSVSYLYLA (配列番号279)	DASIRAT (配列番号221)	QQYMEWPLT (配列番号280)	
COMBO _Rd4_6 nM_C09	RASQSVSAQYLA (配列番号245)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQAWPLT (配列番号281)	30
COMBO _Rd4_6 nM_C08	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQKWPLT (配列番号282)	
COMBO _Rd4_0. 6nM_C1 9	RASQSVSAVYLA (配列番号283)	DASIRAT (配列番号221)	QQYRAWPLT (配列番号284)	40

【 0 1 6 7 】

【表 2 - 3 6】

COMBO _Rd4_0. 6nM_C0 2	RASIAVSSTYLA (配列番号285)	DASIRAT (配列番号221)	QQYMWPLT (配列番号286)	
COMBO _Rd4_0. 6nM_C2 3	RPRQSVSSSYLA (配列番号287)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQDWPLT (配列番号288)	10
COMBO _Rd4_0. 6nM_C0 9	RASQSVSSTYLA (配列番号251)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQEWPLT (配列番号289)	
COMBO _Rd4_6 nM_C12	RASQSVSASYLA (配列番号290)	DASIRAT (配列番号221)	QQYMSWPLT (配列番号291)	20
COMBO _Rd4_0. 6nM_C3 0	RASQSVSYMYLA (配列番号292)	DASIRAT (配列番号221)	QQYKSWPLT (配列番号293)	
COMBO _Rd4_0. 6nM_C1 4	RASQSVSAIYLA (配列番号235)	DASIRAT (配列番号221)	QQYYGWPLT (配列番号294)	30
COMBO _Rd4_6 nM_C07	RASQPISSSYLA (配列番号295)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQGWPLT (配列番号229)	
COMBO _Rd4_6 nM_C02	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYEFWPLT (配列番号296)	40

【 0 1 6 8 】

【表 2 - 3 7】

COMBO _Rd4_0. 6nM_C0 5	RASQSVSSTYLA (配列番号251)	DASIRAT (配列番号221)	QQYMSWPLT (配列番号291)	
COMBO _Rd4_0. 6nM_C1 7	RASQGISSTYLA (配列番号297)	DASIRAT (配列番号221)	QQYAYWPLT (配列番号298)	10
COMBO _Rd4_6 nM_C22	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	DASIRAT (配列番号221)	QQYQGWLPT (配列番号229)	
COMBO _Rd4_0. 6nM_C1 1	RASQSVSVRYLA (配列番号299)	DASIRAT (配列番号221)	QQYGSWPIT (配列番号300)	20

【 0 1 6 9 】

【表 2 - 3 9】

P4G4	RASQSVSSSYLA (配列番号209)	GASSRAY (配列番号392)	QHYGSPPLFT (配列番号393)
P1A11	RASQNVSSSYLA (配列番号379)	GASYRAT (配列番号395)	QHYGSPPSFT (配列番号211)
P6AP	RASQLGSFYLA (配列番号377)	GASSRAT (配列番号210)	QHYNPPPSFT (配列番号214)

10

【 0 1 7 1】

本発明は、CARの性質に著しく影響しない修飾を有する機能的に等価なCAR、ならびに活性および/または親和性が増強または低下したバリエーションを含めた、表1に示した本発明のバリエーションのCARおよびポリペプチドへの修飾を包含する。例えば、アミノ酸配列を突然変異させて、BCMAへの所望の結合親和性を有する抗体を得ることができる。ポリペプチドの修飾は、当技術分野で日常の行為であり、本明細書で詳細に記載する必要はない。修飾ポリペプチドの例としては、アミノ酸残基の保存的置換、機能活性を著しく有害に変化させない、もしくはポリペプチドのそのリガンドに対する親和性を成熟させる(増強する)アミノ酸の1個もしくは複数の欠失もしくは付加、または化学的類似体の使用を有するポリペプチドがある。

20

【 0 1 7 2】

アミノ酸配列挿入には、1残基~100またはそれ超の残基を含有するポリペプチドの長さの範囲のアミノおよび/またはカルボキシル末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例としては、N末端メチオニル残基を有する抗体、またはエピトープタグに融合した抗体がある。抗体分子の他の挿入バリエーションとしては、抗体のNまたはC末端への、酵素または血液循環中の抗体の半減期を増大させるポリペプチドの融合物がある。

【 0 1 7 3】

置換バリエーションは、抗体分子中の少なくとも1個のアミノ酸残基が除去され、異なる残基がその場所に挿入されている。置換突然変異誘発にとって最も興味深い部位としては、超可変領域があるが、FR変化も企図されている。保存的置換は、「保存的置換」の表題の下で表2.1に示されている。このような置換が生物活性を変化させる場合、表2.1に「例示的置換」と命名された、またはアミノ酸クラスへの言及において以下でさらに記載されるより実質的な変化を導入することができ、生成物をスクリーニングすることができる。

30

【 0 1 7 4】

【表 3】

表 2.1: アミノ酸置換

元の残基 (天然に存在する アミノ酸)	保存的置換	例示的な置換
Ala (A)	Val	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu	Glu; Asn
Cys (C)	Ser	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn	Asn; Glu
Glu (E)	Asp	Asp; Gln
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Arg	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン
Leu (L)	Ile	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Tyr	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Phe	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Leu	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン

【 0 1 7 5 】

一部の実施形態では、本発明は、BCMAに結合し、P6E01/P6E01、P6E01/H3、AQ、L1.LGF/L3.KW/P6E01; L1.LGF/L3.NY/P6E01、L1.GDF/L3.NY/P6E01、L1.LGF/L3.KW/H3、AL、L1.LGF/L3.KW/H3、AP、L1.LGF/L3.KW/H3、AQ、L1.LGF/L3.PY/H3、AP、L1.LGF/L3.PY/H3、AQ、L1.LGF/L3.NY/H3、AL、L1.LGF/L3.NY/H3、AP、L1.LGF/L3.NY/H3、AQ、L1.GDF/L3.KW/H3、AL、L1.GDF/L3.KW/H3、AP、L1.GDF/L3.KW/H3、AQ、L1.GDF/L3.PY/H3、AQ、L1.GDF/L3.NY/H3、AL、L1.GDF/L3.NY/H3、AP、L1.GDF/L3.NY/H3、AQ、L3.KW/P6E01、L3.PY/P6E01、L3.NY/P6E01、L3.PY/L1.PS/P6E01、L3.PY/L1.AH/P6E01、L3.PY/L1.FF/P6E01、L3.PY/L1.PH/P6E01、L3.PY/L3.KY/P6E01、L3.PY/L3.KF/P6E01、L3.PY/H2.QR、L3.PY/H2.DY、L

3 . P Y / H 2 . Y Q 、 L 3 . P Y / H 2 . L T 、 L 3 . P Y / H 2 . H A 、 L 3 . P Y / H 2 . Q L 、 L 3 . P Y / H 3 . Y A 、 L 3 . P Y / H 3 . A E 、 L 3 . P Y / H 3 . A Q 、 L 3 . P Y / H 3 . T A Q 、 L 3 . P Y / P 6 E 0 1 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 2 . Q R 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 2 . D Y 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 2 . Y Q 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 2 . L T 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 2 . H A 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 2 . Q L 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 3 . Y A 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 3 . A E 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 3 . A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . P S / H 3 . T A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 2 . Q R 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 2 . D Y 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 2 . Y Q 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 2 . L T 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 2 . H A 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 2 . Q L 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 3 . Y A 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 3 . A E 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 3 . A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . A H / H 3 . T A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 2 . Q R 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 2 . D Y 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 2 . Y Q 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 2 . L T 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 2 . H A 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 2 . Q L 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 3 . Y A 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 3 . A E 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 3 . A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . F F / H 3 . T A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . P H / H 2 . Q R 、 L 3 . P Y / L 1 . P H / H 2 . H A 、 L 3 . P Y / L 1 . P H / H 3 . A E 、 L 3 . P Y / L 1 . P H / H 3 . A Q 、 L 3 . P Y / L 1 . P H / H 3 . T A Q 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 2 . Q R 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 2 . D Y 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 2 . Y Q 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 2 . L T 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 2 . H A 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 2 . Q L 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 3 . Y A 、 L 3 . P Y / L 3 . K Y / H 3 . T A Q 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 2 . D Y 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 2 . Y Q 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 2 . L T 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 2 . Q L 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 3 . Y A 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 3 . A E 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 3 . A Q 、 L 3 . P Y / L 3 . K F / H 3 . T A Q 、 P 5 A 2 _ V H V L 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 6 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 9 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 6 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 3 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 1 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 6 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 5 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 2 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 9 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 3 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 7 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 3 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 1 8 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 0 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 5 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 1 0 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 4 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 6 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 1 3 、 A 0 2 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 1 、 A 0 2 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 8 、 P 5 C 1 _ V H V L 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 4 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 6 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 0 、 C 0 1 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 7 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 0 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 2 、 C 0 1 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 1 6 、 C 0 1 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 9 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 9 、 C 0 1 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 3 、 C 0 1 _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 6 、 C 0 1 _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 4 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 2 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 1 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 0 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 4 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 2 5 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 1 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 1 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 0 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 9 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 8 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 1 9 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 2 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 3 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 2 9 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 0 9 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 1 2 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 3 0 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 . 6 n M _ C 1 4 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 7 、 C O M B O _ R d 4 _ 6 n M _ C 0 2 、 C O M B O _ R d 4 _ 0 .

10

20

30

40

50

6 nM__C 0 5、COMBO__R d 4__0 . 6 nM__C 1 7、COMBO__R d 4__6 nM__C 2 2、COMBO__R d 4__0 . 6 nM__C 1 1、またはCOMBO__R d 4__0 . 6 nM__C 2 9を含めた本明細書に記載のCARとBCMAへの結合を競合する細胞外リガンド結合ドメインを含むCARを提供する。

【0176】

一部の実施形態では、本発明は、BCMAに特異的に結合するCARであって、CARは、配列番号33に示した配列を含むVH領域および/または配列番号34に示した配列を含むVL領域を含む、CARを提供する。一部の実施形態では、本発明は、BCMAに特異的に結合するCARであって、CARは、配列番号33、72、39、76、83、92、25もしくは8に示した配列を含むVH領域、および/または配列番号34、73、40、77、84、93、18もしくは80に示した配列を含むVL領域を含む、CARを提供する。一部の実施形態では、本発明は、CDR接触領域に基づくBCMA抗体に対する抗体のCDR部分を含むCARも提供する。CDR接触領域は、抗原について抗体に特異性を植え付ける抗体の領域である。一般に、CDR接触領域は、抗体の適切なループ構造を維持して特異的抗原を結合させるために束縛されているCDRおよびバーニアゾーン内に残基位置を含む。例えば、Makabeら、J. Biol. Chem.、283: 1156~1166、2007を参照。CDR接触領域の判定は、当技術分野の技術の十分範囲内である。

10

【0177】

BCMA(ヒトBCMA(例えば、(配列番号354)など)に対する本明細書に記載のBCMA特異的CARの結合親和性(K_D)は、約0.002~約6500nMでありうる。一部の実施形態では、結合親和性は、約6500nM、6000nM、5986nM、5567nM、5500nM、4500nM、4000nM、3500nM、3000nM、2500nM、2134nM、2000nM、1500nM、1000nM、750nM、500nM、400nM、300nM、250nM、200nM、193nM、100nM、90nM、50nM、45nM、40nM、35nM、30nM、25nM、20nM、19nM、18nM、17nM、16nM、15nM、10nM、8nM、7.5nM、7nM、6.5nM、6nM、5.5nM、5nM、4nM、3nM、2nM、1nM、0.5nM、0.3nM、0.1nM、0.01nM、または0.002nMのいずれかである。一部の実施形態では、結合親和性は、6500nM、6000nM、5500nM、5000nM、4000nM、3000nM、2000nM、1000nM、900nM、800nM、250nM、200nM、100nM、50nM、30nM、20nM、10nM、7.5nM、7nM、6.5nM、6nM、5nM、4.5nM、4nM、3.5nM、3nM、2.5nM、2nM、1.5nM、1nM、または0.5nMのいずれか未満である。

20

30

【0178】

本発明によるCARの細胞内シグナリングドメインは、細胞外リガンド結合ドメインが標的に結合し、免疫細胞の活性化および免疫応答をもたらした後、細胞内シグナリングを担う。細胞内シグナリングドメインは、CARが発現される免疫細胞の通常のエフェクター機能の少なくとも1つを活性化する能力を有する。例えば、T細胞のエフェクター機能は、細胞溶解性活性またはサイトカインの分泌を含めたヘルパー活性でありうる。

40

【0179】

一部の実施形態では、CARにおいて使用するための細胞内シグナリングドメインは、例えば、限定することなく、抗原受容体会合後にシグナル伝達を開始するように協調して作用するT細胞受容体および共受容体の細胞質配列、ならびにこれらの配列の任意の誘導体またはバリエーション、および同じ機能的能力を有する任意の合成配列でありうる。細胞内シグナリングドメインは、2つの別個のクラスの細胞質シグナリング配列：抗原依存性一次活性化を開始するものおよび抗原非依存性様式で作用して二次または共刺激シグナルをもたらすものを含む。一次細胞質シグナリング配列は、ITAMの免疫受容体チロシンベース活性化モチーフとして公知であるシグナリングモチーフを含みうる。ITAMは、s

50

y k / z a p 7 0 クラスチロシンキナーゼの結合部位として機能を果たす様々な受容体の細胞質内尾部中に見つかる明確に定義されたシグナリングモチーフである。本発明で利用される I T A M の例として、非限定的な例として、T C R 、 F c R 、 F c R 、 F c R 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 3 、 C D 5 、 C D 2 2 、 C D 7 9 a 、 C D 7 9 b 、 および C D 6 6 d に由来するものを挙げることができる。一部の実施形態では、C A R の細胞内シグナリングドメインは、配列番号 3 2 4 に示したアミノ酸配列と少なくとも約 7 0 % 、好ましくは少なくとも 8 0 % 、より好ましくは少なくとも 9 0 % 、9 5 % 、9 7 % 、または 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する C D 3 シグナリングドメインを含みうる。一部の実施形態では、本発明の C A R の細胞内シグナリングドメインは、共刺激分子のドメインを含む。

10

【 0 1 8 0 】

一部の実施形態では、本発明の C A R の細胞内シグナリングドメインは、4 1 B B (G e n B a n k : A A A 5 3 1 3 3 .) および C D 2 8 (N P _ 0 0 6 1 3 0 . 1) の断片からなる群から選択される共刺激分子の一部を含む。一部の実施形態では、本発明の C A R の細胞内シグナリングドメインは、配列番号 3 2 3 および配列番号 3 2 7 に示したアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 、好ましくは少なくとも 8 0 % 、より好ましくは少なくとも 9 0 % 、9 5 % 、9 7 % 、または 9 9 % の配列同一性を構成するアミノ酸配列を含む。

【 0 1 8 1 】

C A R は、細胞の表面膜上で発現される。よって、C A R は、膜貫通ドメインを含みうる。本明細書に開示の C A R の適当な膜貫通ドメインは、(a) 細胞、好ましくは免疫細胞、例えば、限定することなく、リンパ球細胞またはナチュラルキラー (N K) 細胞などの表面で発現される、ならびに (b) 免疫細胞の細胞応答を既定の標的細胞に向けるためにリガンド結合ドメインおよび細胞内シグナリングドメインと相互作用する能力を有する。膜貫通ドメインは、天然または合成源に由来しうる。膜貫通ドメインは、任意の膜結合型または膜貫通タンパク質に由来しうる。非限定的な例として、膜貫通ポリペプチドは、T 細胞受容体のサブユニット、例えば、 ζ 、 η 、 ϵ 、もしくは δ など、C D 3 複合体を構成するポリペプチド、I L - 2 受容体 p 5 5 (a 鎖) 、 p 7 5 (β 鎖) もしくは γ 鎖、F c 受容体のサブユニット鎖、特に、F c 受容体 I I I 、または C D タンパク質でありうる。代わりに、膜貫通ドメインは、合成であり得、主に疎水性残基、例えば、ロイシンおよびバリンなどを含みうる。一部の実施形態では、前記膜貫通ドメインは、ヒト C D 8 鎖 (例えば、N P _ 0 0 1 1 3 9 3 4 5 . 1) に由来する。膜貫通ドメインは、細胞外リガンド結合ドメインと前記膜貫通ドメインとの間にストークドメインをさらに含みうる。ストークドメインは、最大で 3 0 0 アミノ酸、好ましくは 1 0 ~ 1 0 0 アミノ酸、最も好ましくは 2 5 ~ 5 0 アミノ酸を含みうる。ストーク領域は、天然に存在する分子のすべてもしくは一部、例えば、C D 8 、C D 4 、もしくは C D 2 8 の細胞外領域のすべてもしくは一部など、または抗体定常領域のすべてもしくは一部に由来しうる。代わりに、ストークドメインは、天然に存在するストーク配列に対応する合成配列であり得、または完全に合成のストーク配列でありうる。一部の実施形態では、前記ストークドメインは、ヒト C D 8 鎖 (例えば、N P _ 0 0 1 1 3 9 3 4 5 . 1) の一部である。別の特定の実施形態では、前記膜貫通型およびヒンジドメインは、好ましくは配列番号 3 1 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 、好ましくは少なくとも 8 0 % 、より好ましくは少なくとも 9 0 % 、9 5 % 、9 7 % 、または 9 9 % の配列同一性を構成するヒト C D 8 鎖の一部を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示の C A R は、B C M A を特異的に結合させる細胞外リガンド結合ドメイン、C D 8 ヒトヒンジおよび膜貫通ドメイン、C D 3 シグナリングドメイン、ならびに 4 - 1 B B シグナリングドメインを含みうる。

20

30

40

【 0 1 8 2 】

表 3 は、本明細書に開示の C A R において使用することができるドメインの例示的な配列を提供する。

【 0 1 8 3 】

50

【表 4 - 1】

表 3:CAR コンポーネントの例示的な配列

ドメイン	アミノ酸配列	配列番号
CD8 α シグナルペプチド	MALPVTALLLPLALLLHAARP	318
Fc γ RIII α ヒンジ	GLAVSTISSFFPPGYQ	319
CD8 α ヒンジ	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG LDFACD	320
IgG1 ヒンジ	EPKSPDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIAR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	321
CD8 α 膜貫通型(TM)ドメイン	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC	322
41BB 細胞内シグナリングドメイン(ISD)	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEG GCEL	323
CD3 ζ 細胞内シグナリングドメイン(ISD)	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPENGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	324
Fc ϵ RI α -TM-IC (Fc ϵ RI α 鎖膜貫通型および細胞内ドメイン)	FFIPLLVVILFAVDTGLFISTQQQVTFLLKIKRTRKGFRLLN PHPKPNPKNN	325

10

20

30

40

【 0 1 8 4 】

【表 4 - 2】

ドメイン	アミノ酸配列	配列番号
FcεRIβ-ΔITAM (ITAM を含まない FcεRI β 鎖)	MDTESNRRANLALPQEPSSVPAFEVLEISPQEVSSGRLL KSASSPPLHTWLTVLKKEQEFLGVTQILTAMICLCFGTVV CSVLDISHIEGDIFSSFKAGYFPWGAIFFSISGMLSIIISERR NATYLVIRGSLGANTASSIAGGTGITILIINLKKSLAYIHIHSC QKFFETKCFMASFSTEIVMMLFLTILGLGSAVSLTICGA GEELKGNKVPE	326
41BB-IC (41BB 共刺激ドメイン)	KRGRKLLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCEL	327
CD28-IC (CD28 共刺激ドメイン)	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRS	328
FcεRIγ-SP (シグ ナルペプチド)	MIPAVVLLLLLLLVEQAAA	329
FcεRI γ-ΔITAM (ITAM を含まない FcεRI γ 鎖)	LGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLTYCRLKIQRKAAITSYEK S	330
GSG-P2A (GSG- P2A リボソーム スキップポリペ プチド)	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	331
GSG-T2A (GSG- T2A リボソーム スキップポリペ プチド)	GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP	332

【 0 1 8 5 】

標的抗原の下方調節または突然変異は一般に、がん細胞内で観察され、抗原喪失エスケープバリエーションを創製する。よって、腫瘍エスケープを相殺し、免疫細胞を標的に対してより特異的にするために、BCMA 特異的 CAR は、標的中の異なるエレメントを同時に結合させ、それによって免疫細胞活性化および機能を高めるための 1 つまたは複数の追加の細胞外リガンド結合ドメインを含むことができる。一実施形態では、細胞外リガンド結合ドメインは、同じ膜貫通ポリペプチド上に相前後して配置することができ、リンカーによって分離されてもよい。一部の実施形態では、前記異なる細胞外リガンド結合ドメインは、CAR を構成している異なる膜貫通ポリペプチド上に配置することができる。一部の実施形態では、本発明は、各 CAR が異なる細胞外リガンド結合ドメインを含む、CAR の集団に関する。特に、本発明は、免疫細胞を操作する方法であって、免疫細胞を準備す

10

20

30

40

50

ることと、細胞の表面において、各CARが異なる細胞外リガンド結合ドメインを含むCARの集団を発現させることとを含む、方法に関する。別の特定の実施形態では、本発明は、免疫細胞を操作する方法であって、免疫細胞を準備することと、それぞれのものが異なる細胞外リガンド結合ドメインを含むCARの集団を構成するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを細胞内に導入することとを含む、方法に関する。CARの集団とは、それぞれのものが異なる細胞外リガンド結合ドメインを含む、少なくとも2、3、4、5、6、またはそれ超のCARを意味する。本発明による異なる細胞外リガンド結合ドメインは、好ましくは、標的中の異なるエレメントを同時結合させ、それによって免疫細胞活性化および機能を高めることができる。本発明はまた、それぞれのものが異なる細胞外リガンド結合ドメインを含むCARの集団を含む単離免疫細胞に関する。

10

【0186】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載のCARおよびポリペプチドのいずれかをコードするポリヌクレオチドを提供する。ポリヌクレオチドは、当技術分野で公知の手順によって作製し、発現させることができる。

【0187】

別の態様では、本発明は、本発明の細胞のいずれかを含む組成物（医薬組成物など）を提供する。一部の実施形態では、組成物は、本明細書に記載のCARのいずれかをコードするポリヌクレオチドを含む細胞を含む。さらに他の実施形態では、組成物は、以下の配列番号367および配列番号368に示したポリヌクレオチドのいずれかまたは両方を含む：

20

P5A重鎖可変領域

GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGACTGGTGCAGC
 CTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTT
 CACCTTTCAGCAGCTACGCCATGAACCTGGGTGCGCCAGGCC
 CCTGGCAAAGGCCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCAGCGATA
 GCGGCGGCAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCG
 GTTCAACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTAC
 CTGCAGATGAACAAGCCTGCGGGCCGAGGACACC GCGTGT
 ACTACTGTGCCANATACTGGCCCATGGACATCTGGGGCCA
 GGGAAACCTTGGTCAACCGTCTCTCA（配列番号367）

30

P5A軽鎖可変領域

GAGATCGTGTGACACAGAGCCCTGGCACCCCTGAGCCTGT
 CTCAGGCGAAGAGGCCACCCTGTCTTGCAGAGCCAGCCA
 GAGCGTGTCCAGCAGCTACCTGGCCTGGTATCAGCAAAAG
 CCCGGCCAGGCTCCCGGCTGCTGATGTACGATGCCAGCA
 TCAGAGCCACC GGCAATCCCAGACAGATTTTCCGGCTCTGG
 CAGCGGCACC GACTTCAACCCTGACCATCAGCAGACTGGA
 ACCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGCA
 GCTGGCCCTGACATTTGGCCAGGGCACAAAGGTGGAGAT
 CAAA（配列番号368）

40

【0188】

他の実施形態では、組成物は、以下の配列番号369および配列番号370に示したポリヌクレオチドのいずれかまたは両方を含む：

P5AC1重鎖可変領域

GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGACTGGTGCAGC
 CTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTT
 CACCTTTCAGCAGCTACGCCATGAACCTGGGTGCGCCAGGCC
 CCTGGTAAAGGTTTGGGAATGGGTCTCTGCTATTCTGTCTG
 CTGGTGGTTCTACTTACTATGCCGATTTCTGTTAAGGGTAG
 ATTCACCAATTTCTAGAGACAACCTTAAGAACACCCTTGTAC

50

TTGCAAATGAACTCCTTGAGAGCTGAAGATACTGCTGTTT
ATTACTGTGCTAGATACTGGCCAATGGATAATTTGGGGTCA
AGGTACTCTGGTCAACCGTCTCCTCA (配列番号369)

P5AC1 軽鎖可変領域

GAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCCCTGAGCCCTGT
CTCCTGGGTGAAAGAGCTACTTTGTCTTGTAGAGGGGGTCA
ATCCGTTTCTCTCTTATTGCTTGGTATCAACAAAAA
CCAGGTCAAGCTCCAAGATTATTGATGTACGATGCTTCTA
TTAGAGCCACCGGTATTCCAGATAGATTTTCTGGTTCTGG
TTCCGGTACTGATTTCACTTTGACTATCTCTAGATTGGA
CCAGAAGATTTGCTGTTTACTACTGTCAACAATATCAGT
CTTGGCCAATTGACTTTTGGTCAAGGTACAAAGGTTGAAAT
CAAA (配列番号370)

10

【0189】

他の実施形態では、組成物は、以下の配列番号371および配列番号372に示したポリヌクレオチドのいずれかまたは両方を含む：

PC1 重鎖可変領域

GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGACTGGTGCAGC
CTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCGCCAGCGGCTT
CACCTTCAGCAGCTACCCCTATGAGCTGGGTGCGCCAGGCC
CCTGGCAAAGGACTGGAATGGGTGTCGCGCCATCGGAGGCT
CTGGCGGCAGCACCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCG
GTTCACCATCAGCCGGGACAAACAGCAAGAACACCCCTGTAC
CTGCAAATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGT
ACTACTGTGCCAGATACTGGCCCATGGACAGCTGGGGCCA
GGGAAC TTTGGTCAACCGTCTCCTCA (配列番号371)

20

PC1 軽鎖可変領域

GAGATCGTGCTGACACAGAGCCCTGGCACCCCTGAGCCCTGT
CTCCAGGCGAAAGAGCCACCCCTGTCTTGC AAAGCCAGCCA
GAGCGTGTCCAGCACATACCTGGCCTGGTATCAGCAAAAG
CCCGGCCAGGCTCCCCGGCTGCTGATCTACGATGCCTCTT
CTAGAGCCCCCTGGCATCCCCGACAGATTTCAGCGGCTCTGG
CAGCGGCACCGACTTCAACCCCTGACCATCAGCAGACTGGA
CCCGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACAGCA
CCAGCCCCCTGACCTTTGGCCAGGGCACAAAGGTTGGAGAT
CAAA (配列番号372)。

30

【0190】

他の実施形態では、組成物は、以下の配列番号373および配列番号374に示したポリヌクレオチドのいずれかまたは両方を含む：

PC1C12 重鎖可変領域

GAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGACTGGTGCAGC
CTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCGCCAGCGGCTT
CACCTTCAGCAGCTACCCCTATGAGCTGGGTGCGCCAGGCC
CCTGGTAAAGGTTTGGAAATGGGTCTTCTGCTATTGGTGGTT
CAGGTGGTTGGAGTTATTATGCCGATTCTGTTAAGGGTAG
ATTCACCATTTCTAGAGACA ACTCTAAGAACACCTTGTAC
TTGCAAATGAACTCCTTGAGAGCTGAAGATACTGCTGTTT
ATTACTGTGCTAGATACTGGCCAATGGATTCTTGGGGTCA
AGGTACTCTGGTCAACCGTCTCCTCA (配列番号373)

40

PC1C12 軽鎖可変領域

50

G A G A T C G T G C T G A C A C A G A G C C C T G G C A C C C T G A G C C T G T
 C T C C T G G T G A A A G A G C T A C T T T G T C T T G T T G G T T G T C T C A
 A T C T G T T T C C T C T A C T T A C T T G G C T T G G T A T C A A C A A A A A
 C C A G G T C A A G C T C C A A G A T T A T T G A T C T A C G A T G C T T C T T
 C T A G A G C A C C A G G T A T T C C A G A T A G A T T T T C T G G T T C T G G
 T T C C G G T A C T G A T T T C A C T T T G A C T A T C T C T A G A T T G G A A
 C C A G A A G A T T T C G C T G T T T A C T A C T G C C A A C A A T A C T C T G
 A G T G G C C A T T G A C T T T T G G T C A A G G T A C A A A G G T T G A A A T
 C A A A (配列番号 374)。

【0191】

他の実施形態では、組成物は、以下の配列番号 375 および配列番号 376 に示したポリヌクレオチドのいずれかまたは両方を含む：

COM 2 2 重鎖可変領域

G A G G T G C A G C T G C T G G A A T C T G G C G G A G G A C T G G T G C A G C
 C T G G C G G C T C T C T G A G A C T G T C T T G T G C C G C C A G C G G C T T
 C A C C T T C A G C A G C T A C G C C A T G A A C T G G G T G C G C C A G G C C
 C C T G G T A A A G G T T T G G A A T G G G T T T C T G C T A T T T C T G A T T
 C T G G T G G T T C T A G G T G G T A T G C C G A T T C T G T T A A G G G T A G
 A T T C A C C A T T T C T A G A G A C A A C T C T A A G A A C A C C T T G T A C
 T T G C A A A T G A A C T C C T T G A G A G C T G A A G A T A C T G C T G T T T
 A T T A C T G T A C G C G G T A C T G G C C A A T G G A T A T T T G G G G T C A
 A G G T A C T C T G G T C A C C G T C T C C T C A (配列番号 375)

COM 2 2 軽鎖可変領域

G A G A T C G T G C T G A C A C A G A G C C C T G G C A C C C T G A G C C T G T
 C T C C T G G T G A A A G A G C T A C T T T G T C T T G T T G G T T G T C T C A
 A T C T G T T T C C T C T A C T T A C T T G G C T T G G T A T C A A C A A A A A
 C C A G G T C A A G C T C C A A G A T T A T T G A T C T A C G A T G C T T C T T
 C T A G A G C A C C A G G T A T T C C A G A T A G A T T T T C T G G T T C T G G
 T T C C G G T A C T G A T T T C A C T T T G A C T A T C T C T A G A T T G G A A
 C C A G A A G A T T T C G C T G T T T A C T A C T G C C A A C A A T A C T C T G
 A G T G G C C A T T G A C T T T T G G T C A A G G T A C A A A G G T T G A A A T
 C A A A (配列番号 376)。

【0192】

発現ベクター、およびポリヌクレオチド組成物の投与は、本明細書でさらに記載されている。

【0193】

別の態様では、本発明は、本明細書に記載のポリヌクレオチドのいずれかを作製する方法を提供する。

【0194】

任意のこのような配列に相補的なポリヌクレオチドも、本発明によって包含されている。ポリヌクレオチドは、一本鎖（コードまたはアンチセンス）であっても二本鎖であってもよく、DNA（ゲノム、cDNA、もしくは合成）またはRNA分子でありうる。RNA分子としては、イントロンを含有し、1対1の様式でDNA分子に対応するhnRNA分子、およびイントロンを含有しないmRNAがある。追加のコードまたは非コード配列が本発明のポリヌクレオチド内に存在しうるが、その必要はなく、ポリヌクレオチドは、他の分子および/または支持材に連結されている場合があるが、その必要はない。

【0195】

ポリヌクレオチドは、天然配列（すなわち、抗体もしくはその部分をコードする内在性配列）を含み得、またはこのような配列のバリエーションを含みうる。ポリヌクレオチドバリエーションは、コードされるポリペプチドの免疫反応性が天然免疫反応性分子と比べて減少さ

10

20

30

40

50

れないような1個または複数の置換、付加、欠失、および/または挿入を含有する。コードされるポリペプチドの免疫反応性に対する効果は一般に、本明細書に記載した通りに査定されうる。バリエーションは、好ましくは、天然抗体またはその部分をコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも約70%の同一性、より好ましくは、少なくとも約80%の同一性、なおより好ましくは、少なくとも約90%の同一性、最も好ましくは、少なくとも約95%の同一性を呈する。

【0196】

2つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列は、2つの配列中のヌクレオチドまたはアミノ酸の配列が、以下に記載するように最大対応に関して整列されるとき同じである場合、「同一」とされる。2つの配列間の比較は、典型的には、比較ウィンドウにわたって配列を比較して配列類似性の局所領域を同定および比較することによって実施される。「比較ウィンドウ」は、本明細書では、少なくとも約20の連続した位置、通常30~約75、または40~約50のセグメントを指し、このウィンドウでは、配列が、同じ数の連続した位置の参照配列と、2つの配列が最適に整列された後比較されうる。

【0197】

比較のための配列の最適な整列は、デフォルトのパラメータを使用して、バイオインフォマティクスソフトウェア(DNA STAR, Inc., Madison, WI)のLasergene一式中のMegalignプログラムを使用することができる。このプログラムは、以下の参考文献: Dayhoff, M. O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationshipsに記載されたいくつかの整列スキームを具現化する。Dayhoff, M. O. (編) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC, 5巻、補遺3, 345~358頁; Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenesis, 626~645頁, Methods in Enzymology, 183巻, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D. G. および Sharp, P. M., 1989, CABIOS 5:151~153; Myers, E. W. および Muller W., 1988年, CABIOS, 4:11~17; Robinson, E. D., 1971, Comb. Theor., 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol., 4:406~425; Sneath, P. H. A. および Sokal, R. R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W. J. および Lipman, D. J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:726~730において。

【0198】

好ましくは、「配列同一性のパーセンテージ」は、少なくとも20の位置の比較のウィンドウにわたって2つの最適に整列された配列を比較することによって判定され、比較ウィンドウ中のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の部分は、2つの配列の最適な整列について、参照配列(付加または欠失を含まない)と比較して20パーセントまたはそれ未満、通常5~15パーセント、または10~12パーセントの付加または欠失(すなわち、ギャップ)を含みうる。パーセンテージは、同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が両配列中に存在する位置の数を判定してマッチした位置の数を得、マッチした位置の数を参照配列中の位置の総数(すなわち、ウィンドウサイズ)によって除し、結果に100を乗じて配列同一性のパーセンテージを得ることによって計算される。

【0199】

バリエーションも、または代わりに、天然遺伝子またはその部分もしくは相補体に実質的に

10

20

30

40

50

相同でありうる。このようなポリヌクレオチドバリエーションは、天然抗体をコードする天然に存在するDNA配列（または相補配列）に、中程度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズすることができる。

【0200】

適当な「中程度にストリンジェントな条件」は、 $5 \times$ SSC、0.5% SDS、1.0 mM EDTA (pH 8.0) の溶液中での予洗；50 ~ 65 °C、 $5 \times$ SSCで、一晩のハイブリダイジング；その後の、0.1% SDSを含有する $2 \times$ 、0.5 \times 、および0.2 \times SSCのそれぞれを用いた65 °Cで20分にわたる2回の洗浄を含む。

【0201】

本明細書では、「高度にストリンジェントな条件」または「高ストリンジェンシー条件」は、(1) 洗浄のために低イオン強度および高温、例えば、50 °Cで0.015 M塩化ナトリウム / 0.015 Mクエン酸ナトリウム / 0.1%ドデシル硫酸ナトリウムを使用し；(2) ハイブリダイゼーション中に、ホルムアミドなどの変性剤、例えば、42 °Cで、750 mM塩化ナトリウム、75 mMクエン酸ナトリウムとともに、pH 6.5の0.1%ウシ血清アルブミン / 0.1%フィコール / 0.1%ポリビニルピロリドン / 50 mMリン酸ナトリウム緩衝液を含む50% (v/v)ホルムアミドを使用し；または(3) 0.2 \times SSC (塩化ナトリウム / クエン酸ナトリウム) 中42 °Cでの、および55 °Cでの50%ホルムアミド中の洗浄、その後の55 °CでのEDTAを含有する0.1 \times SSCからなる高ストリンジェンシー洗浄を伴って、42 °Cで、50%ホルムアミド、 $5 \times$ SSC (0.75 M NaCl、0.075 Mクエン酸ナトリウム)、50 mMリン酸ナトリウム (pH 6.8)、0.1%ピロリン酸ナトリウム、 $5 \times$ デンハルト溶液、超音波処理したサケ精子DNA (50 μ g/ml)、0.1% SDS、および10%デキストラン硫酸を使用するものである。当業者は、プローブ長などの因子に対応する必要に応じて温度、イオン強度などをどのように調整するかを認識するであろう。

【0202】

遺伝コードの縮重の結果として、本明細書に記載のポリペプチドをコードする多くのヌクレオチド配列が存在することが当業者によって理解されるであろう。これらのポリヌクレオチドの一部は、任意の天然遺伝子のヌクレオチド配列と最小限の相同性を担持する。それにもかかわらず、コドン使用頻度の差異に起因して変動するポリヌクレオチドは、本発明によって具体的に企図されている。さらに、本明細書に提供されるポリヌクレオチド配列を含む遺伝子の対立遺伝子は、本発明の範囲内である。対立遺伝子は、ヌクレオチドの欠失、付加、および / または置換などの1個または複数の突然変異の結果として変更されている内在性遺伝子である。得られるmRNAおよびタンパク質は、変更された構造または機能を有しうるが、その必要はない。対立遺伝子は、標準技法（ハイブリダイゼーション、増幅、および / またはデータベース配列比較など）を使用して同定することができる。

【0203】

本発明のポリヌクレオチドは、化学合成、組換え法、またはPCRを使用して得ることができる。化学的ポリヌクレオチド合成の方法は、当技術分野で周知であり、本明細書で詳細に記載される必要はない。当業者は、本明細書で提供される配列および市販のDNAシンセサイザーを使用して所望のDNA配列を生成することができる。

【0204】

組換え法を使用してポリヌクレオチドを調製するために、本明細書でさらに論じられるように、所望の配列を含むポリヌクレオチドを適当なベクター中に挿入することができ、次にベクターを、複製および増幅のために適当な宿主細胞内に導入することができる。ポリヌクレオチドは、当技術分野で公知の任意の手段によって宿主細胞内に挿入されうる。細胞は、直接取込み、エンドサイトーシス、トランスフェクション、F-接合、または電気穿孔によって外因性ポリヌクレオチドを導入することによって形質転換される。導入されると、外因性ポリヌクレオチドは、非組込みベクター（プラスミドなど）として細胞内に維持され、または宿主細胞ゲノム内に一体化されうる。このように増幅されたポリヌク

10

20

30

40

50

レオチドは、当技術分野で周知の方法によって宿主細胞から単離することができる。例えば、Sambrookら、1989を参照。

【0205】

代わりに、PCRは、DNA配列の複製を可能にする。PCR技術は、当技術分野で周知であり、米国特許第4,683,195号、同第4,800,159号、同第4,754,065号、および同第4,683,202号、ならびにPCR: The Polymerase Chain Reaction、Mullisら編、Birkhäuser Press、Boston、1994に記載されている。

【0206】

RNAは、適切なベクター中の単離したDNAを使用し、それを適当な宿主細胞内に挿入することによって得ることができる。細胞が複製し、DNAがRNAへと転写されたとき、RNAを、例えば、Sambrookら、1989、上記に示されているように当業者に周知の方法を使用して単離することができる。

10

【0207】

適当なクローニングベクターは、標準技法に従って構築することができ、または当技術分野で利用可能な多数のクローニングベクターから選択することができる。選択されるクローニングベクターは、使用されるように意図された宿主細胞によって変動しうるが、有用なクローニングベクターは一般に、自己複製する能力を有することになり、特定の制限エンドヌクレアーゼの単一標的を有することができ、かつ/またはベクターを含有するクローンの選択において使用することができるマーカーの遺伝子を持つことができる。適当な例としては、プラスミドおよび細菌ウイルス、例えば、pUC18、pUC19、ブルーベクトル（例えば、pBS SK+）およびその誘導体、mp18、mp19、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、ファージDNA、ならびにpSA3およびpAT28などのシャトルベクターがある。これらおよび多くの他のクローニングベクターは、市販供給業者、例えば、BioRad、Stratagene、およびInvitrogenなどから入手可能である。

20

【0208】

発現ベクターは一般に、本発明によるポリヌクレオチドを含有する複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソームとして、または染色体DNAの一部部分として宿主細胞内で複製可能でなければならないことが暗示される。適当な発現ベクターとしては、それだけに限らないが、プラスミド、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルスを含めたウイルスベクター、コスミド、およびPCT公開第WO87/04462号に開示された発現ベクターがある。ベクターコンポーネントとして一般に、それだけに限らないが、以下：シグナル配列；複製起点；1種もしくは複数のマーカー遺伝子；適当な転写制御エレメント（プロモーター、エンハンサー、およびターミネーターなど）のうちの1種または複数を持つことができる。発現（すなわち、翻訳）のために、1種または複数の翻訳制御エレメント、例えば、リボソーム結合部位、翻訳開始部位、および停止コドンなども通常要求される。

30

【0209】

目的のポリヌクレオチドを含有するベクターは、電気穿孔、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、DEAE-デキストラン、または他の物質を使用するトランスフェクション；微粒子銃；リポフェクション；および感染（例えば、ベクターがワクシニアウイルスなどの感染因子である場合）を含めたいくつかの適切な手段のいずれかによって宿主細胞内に導入することができる。ベクターまたはポリヌクレオチドを導入する選択は、宿主細胞の特徴に依存することになることが多い。

40

【0210】

本明細書に開示のBCMA特異的CARをコードするポリヌクレオチドは、発現カセットまたは発現ベクター（例えば、細菌宿主細胞内に導入するためのプラスミド、または昆虫宿主細胞をトランスフェクトするためのバキュロウイルスベクターなどのウイルスベクター、または哺乳動物宿主細胞をトランスフェクトするためのプラスミドもしくはレンチ

50

ウイルスなどのウイルスベクター)内に存在しうる。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドまたはベクターは、リボソームスキップ配列をコードする核酸配列、例えば、限定することなく、2Aペプチドをコードする配列などを含みうる。ピコルナウイルスのアフトウイルス亜群中で同定された2Aペプチドは、コドンによってコードされる2個のアミノ酸間にペプチド結合を形成することなく、1つのコドンから次のコドンへのリボソーム「スキップ」を引き起こす(DonnellyおよびElliott、2001; Atkins、Willsら、2007; Doronina、Wuら、2008)を参照)。「コドン」とは、リボソームによって1個のアミノ酸残基に翻訳されるmRNA上(またはDNA分子のセンス鎖上)の3個のヌクレオチドを意味する。よって、2つのポリペプチドは、ポリペプチドが、インフレームである2Aオリゴペプチド配列によって分離されているとき、imRNA内の単一の連続したオープンリーディングフレームから合成することができる。このようなりボソームスキップ機構は、当技術分野で周知であり、単一のメッセンジャーRNAによってコードされるいくつかのタンパク質を発現させるために、いくつかのベクターによって使用されることが知られている。

【0211】

膜貫通ポリペプチドを宿主細胞の分泌経路内に向けるために、一部の実施形態では、分泌シグナル配列(リーダー配列、プレプロ配列、またはプレ配列としても公知)がポリヌクレオチド配列またはベクター配列中に提供される。分泌シグナル配列は、膜貫通型核酸配列に作動可能に連結されており、すなわち、2つの配列は、正しい読み枠内で連結されており、新しく合成されるポリペプチドを宿主細胞の分泌経路内に向けるように配置されている。分泌シグナル配列は一般に、目的のポリペプチドをコードする核酸配列の5'に配置されるが、ある特定の分泌シグナル配列は、目的の核酸配列中の他の場所に配置される場合がある(例えば、Welchら、米国特許第5,037,743号; Hollandら、米国特許第5,143,830号を参照)。一部の実施形態では、シグナルペプチドは、配列番号318または329に示したアミノ酸配列を含む。当業者は、遺伝コードの縮重を考慮して、相当な配列バリエーションがこれらのポリヌクレオチド分子の中で可能であることを認識するであろう。一部の実施形態では、本発明の核酸配列は、哺乳動物細胞内の発現、好ましくはヒト細胞内の発現のためにコドン最適化されている。コドン最適化は、所与の種の高度に発現される遺伝子内で一般に稀有であるコドンの、このような種の高度に発現される遺伝子内で一般に頻繁であるコドンによる目的の配列中の交換を指し、このようなコドンは、交換されているコドンと同様のアミノ酸をコードする。

【0212】

一部の実施形態では、本発明によるポリヌクレオチドは、配列番号1397からなる群から選択される核酸配列を含む。本発明は、配列番号1397からなる群から選択される核酸配列と少なくとも70%、好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%、95%、97%、または99%の配列同一性を有する核酸配列を含むポリヌクレオチドに関する。

【0213】

免疫細胞を操作する方法

免疫療法で使用するための免疫細胞を調製する方法が本明細書に提供されている。一部の実施形態では、本方法は、本発明によるCARを免疫細胞内に導入することと、細胞を増やすこととを含む。一部の実施形態では、本発明は、免疫細胞を操作する方法であって、細胞を準備することと、細胞の表面において、上述した少なくとも1種のCARを発現させることとを含む、方法に関する。免疫細胞を操作するための方法は、例えば、PCT特許出願公開第WO/2014/039523号、同第WO/2014/184741号、同第WO/2014/191128号、同第WO/2014/184744号、および同第WO/2014/184143号に記載されており、これらのそれぞれは、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。一部の実施形態では、方法は、細胞に上述したCARをコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドをトランスフェクトすることと、細胞内でポリヌクレオチドを発現させることとを含む。

【0214】

一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、細胞内での安定な発現のためにレンチウイルスベクター内に存在する。

【0215】

一部の実施形態では、方法は、例えば、限定することなく、TCRのコンポーネント、免疫抑制剤の標的、HLA遺伝子、および/または免疫チェックポイントタンパク質、例えば、PDCD1もしくはCTLA-4などを発現する少なくとも1種の遺伝子を不活化することによって細胞を遺伝的に修飾する工程をさらに含む。遺伝子を不活化することは、目的の遺伝子が機能タンパク質形態で発現されないことを意図する。一部の実施形態では、不活化される遺伝子は、例えば、限定することなく、TCR、TCR、CD52、GR、PD-1、およびCTLA-4からなる群から選択される。一部の実施形態では、方法は、選択的なDNA切断により遺伝子を選択的に不活化することができるレアカuttingエンドヌクレアーゼを細胞内に導入することによって1種または複数の遺伝子を不活化することを含む。一部の実施形態では、レアカuttingエンドヌクレアーゼは、例えば、転写アクチベーター様エフェクターヌクレアーゼ(TALE-ヌクレアーゼ)またはCas9エンドヌクレアーゼでありうる。

10

【0216】

一部の実施形態では、追加の触媒ドメインが、レアカuttingエンドヌクレアーゼとともに、標的遺伝子を不活化するその能力を増強するために使用される。例えば、追加の触媒ドメインは、DNA末端プロセシング酵素でありうる。DNA末端プロセシング酵素の非限定的な例としては、5'-3'エキソヌクレアーゼ、3'-5'エキソヌクレアーゼ、5'-3'アルカリエキソヌクレアーゼ、5'フラップエンドヌクレアーゼ、ヘリカーゼ、ホスファターゼ、加水分解酵素、および鋳型非依存性DNAポリメラーゼがある。このような触媒ドメインの非限定的な例は、hExoI(EXO1_HUMAN)、酵母ExoI(EXO1_YEAST)、大腸菌(E.coli)ExoI、ヒトTREX2、マウスTREX1、ヒトTREX1、ウシTREX1、ラットTREX1、TdT(ターミナルデオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ)ヒトDNA2、酵母DNA2(DNA2_YEAST)からなる群から選択されるタンパク質ドメインまたはタンパク質ドメインの触媒活性誘導体から構成される。一部の実施形態では、追加の触媒ドメインは、3'-5'-エキソヌクレアーゼ活性を有することができ、一部の実施形態では、前記追加の触媒ドメインは、TREX、より好ましくはTREX2触媒ドメインである(WO2012/058458)。一部の実施形態では、前記触媒ドメインは、単鎖TREXポリペプチドによってコードされる。追加の触媒ドメインは、ヌクレアーゼ融合タンパク質またはキメラタンパク質に融合されうる。一部の実施形態では、追加の触媒ドメインは、例えば、ペプチドリンカーを使用して融合される。

20

30

【0217】

一部の実施形態では、方法は、相同的組換えが標的核酸配列と外因性核酸との間で起こるように、標的核酸配列の部分に相同の少なくとも1つの配列を含む外因性核酸を細胞内に導入する工程をさらに含む。一部の実施形態では、前記外因性核酸は、それぞれ標的核酸配列の5'および3'の領域に相同である第1および第2の部分を含む。外因性核酸は、標的核酸配列の5'および3'の領域と相同性を含まない、第1と第2の部分との間に配置された第3の部分も含みうる。標的核酸配列の切断の後、相同的組換え事象が標的核酸配列と外因性核酸との間で刺激される。一部の実施形態では、少なくとも約50bp、約100bp超、または約200bp超の相同配列を、ドナーマトリックス内で使用することができる。外因性核酸は、例えば、限定することなく、約200bp~約6000bp、より好ましくは約1000bp~約2000bpでありうる。共有される核酸相同性は、ブレイクの部位の上流および下流にフランキングする領域内に位置しており、導入される核酸配列は、2本のアーム間に位置している。

40

【0218】

一部の実施形態では、核酸は、前記切断の上流の配列と相同性の第1の領域、TCR

50

、TCR、CD52、グルコルチコイド受容体(GR)、デオキシシチジンキナーゼ(DCK)、および例えば、プログラム死-1(PD-1)などの免疫チェックポイントタンパク質からなる群から選択される標的遺伝子を不活化する配列；ならびに切断の下流の配列と相同性の第2の領域を連続的に含む。ポリヌクレオチド導入工程は、レアカッティングエンドヌクレアーゼの導入または発現と同時に、その前、または後でありうる。ブレイク事象が起こった標的核酸配列の場所に応じて、このような外因性核酸は、例えば、外因性核酸が遺伝子のオープンリーディングフレーム内に位置しているとき、遺伝子をノックアウトするのに、または目的の新しい配列もしくは遺伝子を導入するのに使用することができる。このような外因性核酸を使用することによる配列挿入は、遺伝子の補正もしくは置き換えによって既存の標的遺伝子を修飾するのに(非限定的な例として対立遺伝子スワップ)、標的遺伝子の発現(非限定的な例としてプロモータースワップ)、標的遺伝子補正もしくは置き換えを上方もしくは下方調節するのに使用することができる。一部の実施形態では、TCR、TCR、CD52、GR、DCK、および免疫チェックポイントタンパク質からなる群から選択される遺伝子の不活化は、特異的TALEヌクレアーゼによって標的にされる正確な遺伝子位置で行うことができ、前記特異的TALEヌクレアーゼは、切断を触媒し、外因性核酸は、相同性の少なくとも1つの領域、および相同的組換えによって組み込まれているTCR、TCR、CD52、GR、DCK、免疫チェックポイントタンパク質からなる群から選択される1種の標的遺伝子を不活化する配列を連続的に含む。一部の実施形態では、いくつかの遺伝子を、それぞれいくつかのTALEヌクレアーゼを使用し、特定の遺伝子を不活化するための1種の規定された遺伝子およびいくつかの特異的なポリヌクレオチドを特異的に標的にすることによって連続的に、または同時に不活化することができる。

【0219】

一部の実施形態では、方法は、TCR、TCR、CD52、GR、DCK、および免疫チェックポイントタンパク質からなる群から選択される1種または複数の追加の遺伝子の不活化を含む。一部の実施形態では、遺伝子の不活化は、レアカッティングエンドヌクレアーゼが細胞ゲノムの標的配列中の切断を特異的に触媒するように、少なくとも1種のレアカッティングエンドヌクレアーゼを細胞内に導入し、任意選択で、切断の上流の配列と相同性の第1の領域、細胞のゲノム内に挿入される配列、および切断の下流の配列と相同性の第2の領域を連続的に含む外因性核酸を細胞内に導入することによって達成することができる。導入される外因性核酸は、遺伝子を不活化し、目的の少なくとも1種の組換えタンパク質をコードする少なくとも1種の外因性ポリヌクレオチド配列を組み込む。一部の実施形態では、外因性ポリヌクレオチド配列は、TCR、TCR、CD52、GR、DCK、および免疫チェックポイントタンパク質からなる群から選択されるタンパク質をコードする遺伝子内に組み込まれる。

【0220】

別の態様では、細胞を遺伝的に修飾する工程は、免疫抑制剤の標的を発現する少なくとも1種の遺伝子を不活化することによってT細胞を修飾することと、任意選択で免疫抑制剤の存在下で、細胞を増やすこととを含みうる。免疫抑制剤は、いくつかの作用機序のうちの1つによって免疫機能を抑制する作用物質である。免疫抑制剤は、免疫応答の程度および/または貪欲さを減少させることができる。免疫抑制剤の非限定的な例としては、カルシニューリン阻害剤、ラパマイシンの標的、インターロイキン-2-鎖ブロッカー、イノシンーリン酸デヒドロゲナーゼの阻害剤、ジヒドロ葉酸還元酵素の阻害剤、コルチコステロイド、および免疫抑制代謝拮抗剤がある。一部の細胞毒性免疫抑制剤は、DNA合成を阻害することによって作用する。他のものは、T細胞の活性化を通じて、またはヘルパー細胞の活性化を阻害することによって作用しうる。本発明による方法は、T細胞内の免疫抑制剤の標的を不活化することによって免疫療法のためのT細胞に免疫抑制耐性を付与することを可能にする。非限定的な例として、免疫抑制剤の標的は、免疫抑制剤の受容体、例えば、限定することなく、CD52、グルコルチコイド受容体(GR)、FKBPファミリー遺伝子メンバー、およびサイクロフィリンファミリー遺伝子メンバーなどであ

10

20

30

40

50

りうる。

【0221】

一部の実施形態では、本方法の遺伝的修飾は、レアカッピングエンドヌクレアーゼが1つの標的遺伝子内の切断を特異的に触媒し、それによって標的遺伝子を不活化するように、操作するために提供された細胞内で1種のレアカッピングエンドヌクレアーゼを発現させる。一部の実施形態では、細胞を操作する方法は、以下の工程：細胞培養物または血液試料などからT細胞を準備する工程、免疫抑制剤の標的を発現するT細胞内の遺伝子を選択する工程、免疫抑制剤の標的をコードする遺伝子をDNA切断によって、好ましくは二本鎖ブレイクによって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼをT細胞内に導入する工程、および任意選択で免疫抑制剤の存在下で、細胞を増やす工程のうちの少なくとも1つを含む。

10

【0222】

一部の実施形態では、方法は、細胞培養物または血液試料などからT細胞を準備することと、免疫抑制剤の標的を発現するT細胞内の遺伝子を選択することと、免疫抑制剤の標的をコードする遺伝子をDNA切断によって、好ましくは二本鎖ブレイクによって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼをコードする核酸をT細胞にトランスフェクトすることと、レアカッピングエンドヌクレアーゼをT細胞内に発現させることと、任意選択で免疫抑制剤の存在下で、細胞を増やすこととを含む。

【0223】

一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、CD52またはGRを特異的に標的にする。一部の実施形態では、不活化のために選択される遺伝子は、CD52をコードし、免疫抑制処置は、CD52抗原を標的にするヒト化抗体を含む。一部の実施形態では、不活化のために選択される遺伝子は、GRをコードし、免疫抑制処置は、デキサメタゾンなどのコルチコステロイドを含む。一部の実施形態では、不活化のために選択される遺伝子は、FKBPファミリー遺伝子メンバーまたはそのバリエーションであり、免疫抑制処置は、タクロリムスまたはフジマイシンとしても公知のFK506を含む。一部の実施形態では、FKBPファミリー遺伝子メンバーは、FKBP12またはそのバリエーションである。一部の実施形態では、不活化のために選択される遺伝子は、サイクロフィリンファミリー遺伝子メンバーまたはそのバリエーションであり、免疫抑制処置は、シクロスポリンを含む。

20

30

【0224】

一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、例えば、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、またはTALEヌクレアーゼ(TALEN)でありうる。一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、TALEヌクレアーゼである。

【0225】

免疫療法に適した、T細胞を操作する方法であって、少なくとも免疫チェックポイントタンパク質を不活化することによってT細胞を遺伝的に修飾することを含む、方法も本明細書に提供されている。一部の実施形態では、免疫チェックポイントタンパク質は、例えば、PD-1および/またはCTLA-4である。一部の実施形態では、細胞を遺伝的に修飾する方法は、少なくとも1種の免疫チェックポイントタンパク質を不活化することによってT細胞を修飾することと、細胞を増やすこととを含む。免疫チェックポイントタンパク質としては、それだけに限らないが、プログラム死1(PD-1、PDCD1またはCD279としても公知、受託番号：NM__005018)、細胞傷害性Tリンパ球抗原4(CTLA-4、CD152としても公知、GenBank受託番号AF414120.1)、LAG3(CD223としても公知、受託番号：NM__002286.5)、TIM3(HAVCR2としても公知、GenBank受託番号：JX049979.1)、BTLA(CD272としても公知、受託番号：NM__181780.3)、BY55(CD160としても公知、GenBank受託番号：CR541888.1)、TIGIT(VSTM3としても公知、受託番号：NM__173799)、B7H5(C10o

40

50

r f 5 4 としても公知、マウス *v i s t a* 遺伝子の相同体、受託番号：NM__022153.1)、L A I R 1 (C D 3 0 5 としても公知、GenBank 受託番号：CR542051.1)、S I G L E C 1 0 (GeneBank 受託番号：AY358337.1)、2 B 4 (C D 2 4 4 としても公知、受託番号：NM__001166664.1)があり、これらは、免疫細胞を直接的に阻害する。例えば、C T L A - 4 は、ある特定の C D 4 および C D 8 T 細胞上で発現される細胞表面タンパク質であり、抗原提示細胞上でそのリガンド (B 7 - 1 および B 7 - 2) によって会合されるとき、T 細胞活性化およびエフェクター機能が阻害される。

【0226】

一部の実施形態では、細胞を操作する前記方法は、以下の工程：細胞培養物または血液試料などから T 細胞を準備する工程、免疫チェックポイントタンパク質をコードする 1 種の遺伝子を DNA 切断によって、好ましくは二本鎖ブレイクによって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼを T 細胞内に導入する工程、および細胞を増やす工程のうちの少なくとも 1 つを含む。一部の実施形態では、方法は、細胞培養物または血液試料などから T 細胞を準備すること、免疫チェックポイントタンパク質をコードする遺伝子を DNA 切断によって、好ましくは二本鎖ブレイクによって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼをコードする核酸を前記 T 細胞にトランスフェクトすること、レアカッピングエンドヌクレアーゼを T 細胞内に発現させること、細胞を増やすこととを含む。一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、P D - 1、C T L A - 4、L A G 3、T i m 3、B T L A、B Y 5 5、T I G I T、B 7 H 5、L A I R 1、S I G L E C 1 0、2 B 4、T C R、および T C R からなる群から選択される遺伝子を特異的に標的にする。一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、または T A L E ヌクレアーゼでありうる。一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、T A L E ヌクレアーゼである。

【0227】

一部の実施形態では、本発明は、同種間の免疫療法に特に適している場合がある。このような実施形態では、細胞は、T 細胞内の T 細胞受容体 (T C R) のコンポーネントをコードする少なくとも 1 種の遺伝子を不活化すること、T 細胞を増やすこととを含む方法によって修飾されうる。一部の実施形態では、本方法の遺伝的修飾は、レアカッピングエンドヌクレアーゼが 1 つの標的遺伝子内の切断を特異的に触媒し、それによって標的遺伝子を不活化するように、操作するために提供された細胞内で 1 種のレアカッピングエンドヌクレアーゼを発現させることを利用する。一部の実施形態では、細胞を操作する前記方法は、以下の工程：細胞培養物または血液試料などから T 細胞を準備する工程、T 細胞受容体 (T C R) のコンポーネントをコードする少なくとも 1 種の遺伝子を DNA 切断によって、好ましくは二本鎖ブレイクによって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼを T 細胞内に導入する工程、および細胞を増やす工程のうちの少なくとも 1 つを含む。

【0228】

一部の実施形態では、方法は、細胞培養物または血液試料などから T 細胞を準備すること、T 細胞受容体 (T C R) のコンポーネントをコードする少なくとも 1 種の遺伝子を DNA 切断によって、好ましくは二本鎖ブレイクによって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼをコードする核酸を前記 T 細胞にトランスフェクトすること、レアカッピングエンドヌクレアーゼを T 細胞内に発現させること、自己の細胞表面上で T C R を発現しない形質転換 T 細胞を選別すること、細胞を増やすこととを含む。

【0229】

一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、メガヌクレアーゼ、ジンクフィンガーヌクレアーゼ、または T A L E ヌクレアーゼでありうる。一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、T A L E ヌクレアーゼである。一部の実

10

20

30

40

50

施形態では、T A L Eヌクレアーゼは、T C R またはT C R をコードする配列を認識および切断する。一部の実施形態では、T A L Eヌクレアーゼは、配列番号334、335、336、337、338、339、340、または341に示したアミノ酸配列から選択されるポリペプチド配列を含む。

T A L Eヌクレアーゼポリペプチド配列：

リピートTRAC__T01-L

LTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV
 VAIASNNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN
 GGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQA
 LETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQR
 LLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC
 QAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLT
 PEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVA
 IASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNG
 GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALE
 TVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLL
 PVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQA
 HGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE
 QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
 SNGGGRPAL E (配列番号334)

10

20

リピートTRAC__T01-R

LTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV
 VAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASH
 DGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQA
 LETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQR
 LLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC
 QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT
 PQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVA
 IASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGG
 GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALE
 TVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLL
 PVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQA
 HGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQ
 QVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
 SNGGGRPAL E (配列番号335)

30

リピートTRBC__T01-L

LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV
 VAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN
 NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQA
 LETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQR
 LLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLC
 QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT
 PEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVA
 IASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG
 GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALE
 TVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALL
 PVLCQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCQA
 HGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE
 QVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
 SNGGGRPAL E (配列番号336)

40

50

リピートTRBC__T01 - R

NPQRSTVWY LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ
 AHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTP
 QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAI
 ASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGG
 KQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALET
 VQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLP
 VLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAH
 GLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQ
 VVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS
 NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ
 ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ
 RLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPV
 LCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGL
 TPQQVVAIASNNGGGRPALE (配列番号337)

10

リピートTRBC__T02 - L

LTPQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQV
 VAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASH
 DGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQA
 LETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQR
 LLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC
 QAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT
 PQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVA
 IASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNG
 GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALE
 TVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLL
 PVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQA
 HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE
 QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
 SNGGGRPALE (配列番号338)

20

30

リピートTRBC__T02 - R

LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV
 VAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN
 NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQA
 LETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQR
 LLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLC
 QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT
 PEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVA
 IASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDG
 GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALE
 TVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLL
 PVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQA
 HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQ
 QVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA
 SNGGGRPALE

40

(配列番号339)

リピートCD52__T02 - L

LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQV
 VAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASH
 DGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQA

50

L E T V Q R L L P V L C Q A H G L T P E Q V V A I A S H D G G K Q A L E T V Q R
 L L P V L C Q A H G L T P E Q V V A I A S H D G G K Q A L E T V Q R L L P V L C
 Q A H G L T P Q Q V V A I A S N G G G K Q A L E T V Q R L L P V L C Q A H G L T
 P E Q V V A I A S N I G G K Q A L E T V Q A L L P V L C Q A H G L T P E Q V V A
 I A S H D G G K Q A L E T V Q R L L P V L C Q A H G L T P Q Q V V A I A S N G G
 G K Q A L E T V Q R L L P V L C Q A H G L T P E Q V V A I A S H D G G K Q A L E
 T V Q R L L P V L C Q A H G L T P E Q V V A I A S N I G G K Q A L E T V Q A L L
 P V L C Q A H G L T P E Q V V A I A S H D G G K Q A L E T V Q R L L P V L C Q A
 H G L T P E Q V V A I A S H D G G K Q A L E T V Q R L L P V L C Q A H G L T P E
 Q V V A I A S N I G G K Q A L E T V Q A L L P V L C Q A H G L T P Q Q V V A I A
 S N G G G R P A L E (配列番号 3 4 0)

10

リピートCD52__T02-R

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

20

(配列番号 3 4 1)

【 0 2 3 0 】

別の態様では、細胞を遺伝的に修飾する1つの別の工程は、pT (preTCR と
 しても公知) またはその機能性バリエーションをT細胞内に導入することと、任意選択でCD
 3複合体の刺激によって、細胞を増やすこととを含む、TCR 欠損T細胞を増やす方法
 でありうる。一部の実施形態では、方法は、a) CD3表面発現を支持するためにpT
 の少なくとも断片をコードする核酸を細胞にトランスフェクトすることと、b) 前記pT
 を細胞内に発現させることと、c) 任意選択でCD3複合体の刺激によって、細胞を増
 やすこととを含む。

30

【 0 2 3 1 】

免疫療法のためのT細胞を準備する方法であって、T細胞を増やすための方法の工程を
 含む、方法も提供されている。一部の実施形態では、pT ポリヌクレオチド配列は、ラン
 ダムに、または相対的組換えによって導入することができる。一部の実施形態では、挿
 入は、TCR 遺伝子の不活化と関連しうる。

40

【 0 2 3 2 】

pT の異なる機能性バリエーションを使用することができる。ペプチドの「機能性バリエ
 ーション」は、ペプチド全体またはその断片と実質的に同様の分子を指す。pT またはその
 機能性バリエーションの「断片」は、分子の任意のサブセット、すなわち、全長pT より短
 いペプチドを指す。一部の実施形態では、pT または機能性バリエーションは、例えば、全
 長pT またはC末端トランケート型pT バージョンでありうる。C末端トランケート
 型pT は、1個または複数の残基をC末端において欠く。非限定的な例として、C末端
 トランケート型pT バージョンは、タンパク質のC末端から18、48、62、78、
 92、110、または114個の残基を欠く。ペプチドのアミノ酸配列バリエーションは、ペ
 プチドをコードするDNA中の突然変異によって調製することができる。このような機能

50

性バリエーションは、例えば、アミノ酸配列内の残基からの欠失、またはこれらの挿入もしくは置換を含む。欠失、挿入、および置換の任意の組合せも、最終構築物に到達するために行うことができ、ただし、最終構築物は、所望の活性、特に、機能的CD3複合体の復活を有する。好適な実施形態では、少なくとも1種の突然変異が、二量体化に影響するように上述した異なるpTバージョン中に導入される。非限定的な例として、突然変異される残基は、ヒトpTタンパク質の少なくともW46R、D22A、K24A、R102A、もしくはR117Aであり得、またはpTファミリーもしくは相同体メンバーに対してCLUSTALW法を使用して位置を整列させることができる。好ましくは、上述したpTまたはそのバリエーションは、突然変異残基W46R、または突然変異残基D22A、K24A、R102A、およびR117Aを含む。一部の実施形態では、前記pTまたはバリエーションは、シグナル形質導入ドメイン、例えば、非限定的な例として、CD28、OX40、ICOS、CD27、CD137(4-1BB)、およびCD8などにも融合される。上述したpTまたはバリエーションの細胞外ドメインは、TCRタンパク質の断片、特に、TCRの膜貫通型および細胞内ドメインに融合することができる。pTバリエーションは、TCRの細胞内ドメインにも融合されうる。

10

【0233】

一部の実施形態では、pTバージョンは、細胞外リガンド結合ドメインに融合することができる。一部の実施形態では、pTまたはその機能性バリエーションは、可動性リンカーによって連結された標的抗原特異的モノクローナル抗体の軽および重可変断片を含む単鎖抗体断片(scFv)に融合される。

20

【0234】

用語「TCR欠損T細胞」は、機能的TCR鎖の発現を欠く単離T細胞を指す。これは、異なる手段によって、非限定的な例として、T細胞がその細胞表面でいずれの機能的TCRも発現しないようにT細胞を操作することによって、またはT細胞がその表面上でごく少量の機能的TCR鎖を産生するようにT細胞を操作することによって、またはTCR鎖の突然変異もしくはトランケート型を発現するようにT細胞を操作することによって、達成されうる。TCR欠損細胞は、CD3複合体によってもはや増やすことができない。よって、この問題を克服し、TCR欠損細胞の増殖を可能にするために、pTまたはその機能性バリエーションが細胞内に導入され、こうして機能的CD3複合体を復活させる。一部の実施形態では、方法は、T細胞受容体(TCR)の1種のコンポーネントをコードする1種の遺伝子をDNA切断によって選択的に不活化することができるレアカッピングエンドヌクレアーゼを前記T細胞内に導入することをさらに含む。一部の実施形態では、レアカッピングエンドヌクレアーゼは、TALEヌクレアーゼである。

30

【0235】

別の態様では、本明細書に記載の方法によって得られる操作されたT細胞は、二重特異性抗体と接触させることができる。例えば、T細胞は、患者に投与する前にex vivoで、または患者に投与した後にin vivoで二重特異性抗体と接触させることができる。二重特異性抗体は、操作された細胞を標的抗原に近接させるのを促進する別個の抗原性を有する2つの可変領域を含む。非限定的な例として、二重特異性抗体は、腫瘍マーカーおよびリンパ球抗原、例えば、限定することなく、CD3などに向けることができ、腫瘍に対して任意の循環T細胞をリダイレクトおよび活性化する潜在性を有する。

40

【0236】

一部の実施形態では、本発明によるポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、mRNAであり得、これは、例えば、電気穿孔によって細胞内に直接的に導入される。一部の実施形態では、cytoPulse技術を使用して、材料を細胞内に送達するために生細胞を一過性に透過化することができる。パラメータは、最小限の死亡率を伴った高トランスフェクション効率のための条件を決定するために改変することができる。

【0237】

T細胞をトランスフェクトする方法も本明細書に提供されている。一部の実施形態では、方法は、T細胞をRNAと接触させることと、(a)1センチメートル当たり約225

50

0 ~ 3000 V の電圧範囲を有する電気パルス；(b) 0.1 ms のパルス幅；(c) 工程(a)と(b)の電気パルス間の約0.2 ~ 10 ms のパルス間隔；(d) 約100 ms のパルス幅および工程(b)の電気パルスと工程(c)の第1の電気パルスとの間の約100 ms のパルス間隔を伴った約2250 ~ 3000 V の電圧範囲を有する電気パルス；ならびに(e) 約0.2 ms のパルス幅および4回の電気パルスのそれぞれの間の2 ms のパルス間隔を伴った約325 V の電圧を有する4回の電気パルスからなるアジャイルパルスシーケンスをT細胞に印加することを含む。一部の実施形態では、T細胞をトランスフェクトする方法であって、前記T細胞をRNAと接触させることと、(a) 1センチメートル当たり約2250、2300、2350、2400、2450、2500、2550、2400、2450、2500、2600、2700、2800、2900、または3000 V の電圧を有する電気パルス；(b) 0.1 ms のパルス幅；(c) 工程(a)と(b)の電気パルス間の約0.2、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10 ms のパルス間隔；(d) 100 ms のパルス幅および工程(b)の電気パルスと工程(c)の第1の電気パルスとの間の100 ms のパルス間隔を伴った約2250、2250、2300、2350、2400、2450、2500、2550、2400、2450、2500、2600、2700、2800、2900、または3000 V の電圧範囲を有する1回の電気パルス；ならびに(e) 約0.2 ms のパルス幅および4回の電気パルスのそれぞれの間の約2 ms のパルス間隔を伴った約325 V の電圧を有する4回の電気パルスを含むアジャイルパルスシーケンスをT細胞に印加することを含む、方法。上述した値の範囲内に含まれる任意の値が本願において開示されている。電気穿孔培地は、当技術分野で公知の任意の適当な培地でありうる。一部の実施形態では、電気穿孔培地は、約0.01 ~ 約1.0 ミリシーメンスにおよぶ範囲内の伝導性を有する。

【0238】

一部の実施形態では、非限定的な例として、RNAは、レアカuttingエンドヌクレアーゼ、半TALEヌクレアーゼなどのレアカuttingエンドヌクレアーゼの1種のモノマー、CAR、多鎖キメラ抗原受容体の少なくとも1種のコンポーネント、pT またはその機能性バリエーション、外因性核酸、および/または1つの追加の触媒ドメインをコードする。

【0239】

操作された免疫細胞

本発明は、本明細書に記載のCARポリヌクレオチドのいずれかを含む操作された免疫細胞も提供する。一部の実施形態では、CARは、プラスミドベクターを介して導入遺伝子として免疫細胞内に導入されうる。一部の実施形態では、プラスミドベクターは、例えば、ベクターを受け入れた細胞の同定および/または選択をもたらす選択マーカーも含有しうる。

【0240】

CARポリペプチドは、細胞内にCARポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを導入した後、細胞内で*in situ*で合成することができる。代わりに、CARポリペプチドは、細胞の外側で生成され、次いで細胞内に導入されてもよい。細胞内にポリヌクレオチド構築物を導入するための方法は、当技術分野で公知である。一部の実施形態では、安定形質転換法を使用して、ポリヌクレオチド構築物を細胞のゲノム内に組み込むことができる。他の実施形態では、一過性形質転換法を使用して、ポリヌクレオチド構築物を一過性に発現させることができ、ポリヌクレオチド構築物は、細胞のゲノム内に組み込まれない。他の実施形態では、ウイルス媒介法を使用することができる。ポリヌクレオチドは、任意の適当な手段、例えば、組換えウイルスベクター（例えば、レトロウイルス、アデノウイルス）、リポソームなどによって細胞内に導入されうる。一過性形質転換法としては、例えば、限定することなく、マイクロインジェクション、電気穿孔、または粒子ボンバードメントがある。ポリヌクレオチドは、ベクター、例えば、プラスミドベクターまたはウイルスベクターなどの中に入れられる場合がある。

【0241】

本明細書に提供される細胞を操作する上述した方法によって得られる単離細胞および細胞株も本明細書に提供されている。一部の実施形態では、単離細胞は、上述した少なくとも1種のCARを含む。一部の実施形態では、単離細胞は、各CARが異なる細胞外リガンド結合ドメインを含む、CARの集団を含む。

【0242】

上述した方法のいずれか1つに従って得られる単離免疫細胞も本明細書に提供されている。異種DNAを発現することができる任意の免疫細胞を、目的のCARを発現させる目的に使用することができる。一部の実施形態では、免疫細胞は、T細胞である。一部の実施形態では、免疫細胞は、例えば、限定することなく、幹細胞に由来しうる。幹細胞は、成体幹細胞、非ヒト胚性幹細胞、より特定すれば、非ヒト幹細胞、臍帯血幹細胞、前駆細胞、骨髄幹細胞、人工多能性幹細胞、全能性幹細胞、または造血幹細胞でありうる。代表的なヒト細胞は、CD34+細胞である。単離細胞はまた、樹状細胞、キラー樹状細胞、肥満細胞、NK細胞、B細胞、または炎症性Tリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、調節性Tリンパ球、もしくはヘルパーTリンパ球からなる群から選択されるT細胞でありうる。一部の実施形態では、細胞は、CD4+ Tリンパ球およびCD8+ Tリンパ球からなる群に由来しうる。

10

【0243】

エクспанションおよび遺伝的修飾の前に、細胞源は、様々な限定されない方法によって対象から得ることができる。細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染の部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織、および腫瘍を含めたいくつかの限定されない供給源から得ることができる。一部の実施形態では、入手可能な、かつ当業者に公知の任意の数のT細胞株を使用することができる。一部の実施形態では、細胞は、健康ドナー、がんと診断された患者、または感染症と診断された患者に由来しうる。一部の実施形態では、細胞は、異なる表現型特性を提示する細胞の混合集団の一部でありうる。

20

【0244】

上述した方法のいずれかに従って形質転換T細胞から得られる細胞株も本明細書に提供されている。免疫抑制処置に耐性の修飾細胞も本明細書に提供されている。一部の実施形態では、本発明による単離細胞は、CARをコードするポリヌクレオチドを含む。

【0245】

本発明の免疫細胞は、例えば、限定することなく、米国特許第6,352,694号；同第6,534,055号；同第6,905,680号；同第6,692,964号；同第5,858,358号；同第6,887,466号；同第6,905,681号；同第7,144,575号；同第7,067,318号；同第7,172,869号；同第7,232,566号；同第7,175,843号；同第5,883,223号；同第6,905,874号；同第6,797,514号；同第6,867,041号、および米国特許出願公開第20060121005号に一般に記載された方法を使用して、T細胞の遺伝的修飾の前または後に活性化および増やすことができる。T細胞は、*in vitro*または*in vivo*で増やすことができる。一般に、本発明のT細胞は、例えば、T細胞の表面上でCD3 TCR複合体および共刺激分子を刺激してT細胞の活性化シグナルを創製する作用物質との接触によって増やされうる。例えば、化学物質、例えば、カルシウムイオノフォアA23187、ホルポール12-ミリスレート13-アセテート(PMA)、または分裂促進レクチン様フィトヘマグルチニン(PHA)などを使用してT細胞の活性化シグナルを創製することができる。

30

40

【0246】

一部の実施形態では、T細胞集団は、例えば、抗CD3抗体もしくはその抗原結合断片、または表面上に固定化された抗CD2抗体との接触によって、あるいはカルシウムイオノフォアと併せたプロテインキナーゼCアクチベーター(例えば、プリオスタチン)との接触によって*in vitro*で刺激されうる。T細胞の表面上の集合分子の同時刺激のために、アクセサリ分子を結合させるリガンドが使用される。例えば、T細胞の集団を

50

、T細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、抗CD3抗体および抗CD28抗体と接触させることができる。T細胞培養に適切な条件には、血清（例えば、胎児ウシもしくはヒト血清）、インターロイキン-2（IL-2）、インスリン、IFN- γ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-2、IL-15、TGF β 、およびTNF、または当業者に公知の細胞を増殖するための任意の他の添加剤を含む、増殖および生存に必要な因子を含有しうる適切な培地（例えば、最小必須培地もしくはRPMI培地1640、またはX-vivo5（Lonza））が含まれる。細胞を増殖するための他の添加剤としては、それだけに限らないが、界面活性剤、プラズマネート、または還元剤、例えば、N-アセチル-システインおよび2-メルカプトエタノールなどがある。培地として、無血清の、あるいは適切な量の血清（もしくは血漿）、または規定されたセットのホルモン、ならびに/またはT細胞の増殖およびエクспанションに十分な量のサイトカインを補充された、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、およびビタミンが添加された、RPMI1640、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo1、およびX-Vivo20、Optimizerを挙げることができる。抗生物質、例えば、ペニシリンおよびストレプトマイシンは、実験培養においてのみ含められ、対象中に注入される細胞の培養において含められない。標的細胞は、増殖を支持するのに必要な条件、例えば、適切な温度（例えば、37 $^{\circ}$ C）および雰囲気（例えば、空気+5%CO₂）下で維持される。様々な刺激時間に曝露されたT細胞は、異なる特性を呈しうる。

【0247】

一部の実施形態では、本発明の細胞は、組織または細胞と共培養することによって増やされうる。細胞は、*in vivo*で、例えば、対象中に細胞を投与した後の対象の血液中で増やすこともできる。

【0248】

一部の実施形態では、本発明による単離細胞は、CD52、GR、PD-1、CTLA-4、LAG3、Tim3、BTLA、BY55、TIGIT、B7H5、LAIR1、SIGLEC10、2B4、HLA、TCR、およびTCR からなる群から選択される1種の不活化された遺伝子を含み、かつ/またはCAR、多鎖CAR、および/もしくはpT 導入遺伝子を発現する。一部の実施形態では、単離細胞は、多鎖CARを含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、本発明による単離細胞は、CD52およびGR、CD52およびTCR、CDR52およびTCR、GRおよびTCR、GRおよびTCR、TCR およびTCR、PD-1およびTCR、PD-1およびTCR、CTLA-4およびTCR、CTLA-4およびTCR、LAG3およびTCR、LAG3およびTCR、Tim3およびTCR、Tim3およびTCR、BTLAおよびTCR、BTLAおよびTCR、BY55およびTCR、BY55およびTCR、TIGITおよびTCR、TIGITおよびTCR、B7H5およびTCR、B7H5およびTCR、LAIR1およびTCR、LAIR1およびTCR、SIGLEC10およびTCR、SIGLEC10およびTCR、2B4およびTCR、2B4およびTCR からなる群から選択される2種の不活化された遺伝子を含み、かつ/またはCAR、多鎖CAR、およびpT 導入遺伝子を発現する。

【0249】

一部の実施形態では、TCRは、TCR 遺伝子および/またはTCR 遺伝子を不活化することによって、本発明による細胞内で機能的でないようにされている。一部の実施形態では、個体由来する修飾細胞を得るための方法であって、細胞は、主要組織適合複合体（MHC）シグナリング経路とは独立に増殖することができる、方法が提供されている。本方法によって得られやすい、MHCシグナリング経路とは独立に増殖しうる修飾細胞は、本発明の範囲内に包含される。本明細書に開示の修飾細胞は、宿主対移植片（HvG）拒絶反応および移植片対宿主疾患（GvHD）に対してそれを必要とする患者を処置するのに使用することができ、したがって、宿主対移植片（HvG）拒絶反応および移植片対宿主疾患（GvHD）に対してそれを必要とする患者を処置する方法であって、前記

10

20

30

40

50

患者に、不活化されたTCR および/またはTCR 遺伝子を含む有効量の修飾細胞を投与することによって前記患者を処置することを含む、方法は、本発明の範囲内である。

【0250】

一部の実施形態では、免疫細胞は、1種または複数の化学療法薬に対して耐性であるように操作されている。化学療法薬は、例えば、プリンヌクレオチド類似体(PNA)であり得、よって免疫細胞を養子免疫療法および化学療法を組み合わせるがん処置に適したものにす。例示的なPNAとしては、例えば、単独または組合せで、クロファラビン、フルダラビン、およびシタラビンがある。PNAは、デオキシシチジンキナーゼ(dCK)によって代謝されてモノ、ジ、およびトリリン酸PNAになる。これらのトリリン酸形態は、ATPとDNA合成を競合し、アポトーシス促進剤として作用し、トリヌクレオチド産生に
10
関与するリボヌクレオチドレダクターゼ(RNR)の強力な阻害剤である。不活化されたdCK遺伝子を含むBCMA特異的CAR-T細胞が本明細書に提供されている。一部の実施形態では、dCKノックアウト細胞は、例えば、mRNAの電気穿孔によりdCK遺伝子に向けられた特異的TALヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドを使用するT細胞のトランスフェクションによって作製される。dCKノックアウトBCMA特異的CAR-T細胞は、例えば、クロファラビンおよび/またはフルダラビンを含めたPNAに耐性であり、BCMA発現細胞に向けたT細胞の細胞傷害活性を維持する。

【0251】

一部の実施形態では、本発明の単離細胞または細胞株は、pT またはその機能性バリエーションを含みうる。一部の実施形態では、単離細胞または細胞株は、TCR 遺伝子
20
を不活化することによってさらに遺伝的に修飾することができる。

【0252】

一部の実施形態では、CAR-T細胞は、例えば、RQR8などの自殺ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれているWO2013153391Aを参照。ポリヌクレオチドを含むCAR-T細胞では、自殺ポリペプチドは、CAR-T細胞の表面で発現される。一部の実施形態では、自殺ポリペプチドは、配列番号342に示したアミノ酸配列を含む。

C P Y S N P S L C S G G G G S E L P T Q G T F S N V S T N V S P A K P T T T A C
P Y S N P S L C S G G G G S P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P
A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C
N H R N R R R V C K C P R P V V (配列番号342)

【0253】

自殺ポリペプチドは、アミノ末端でシグナルペプチドも含みうる。一部の実施形態では、自殺ポリペプチドは、配列番号400に示したアミノ酸配列を含む。

M G T S L L C W M A L C L L G A D H A D A C P Y S N P S L C S G G G G S E L P T
Q G T F S N V S T N V S P A K P T T T A C P Y S N P S L C S G G G G S P A P R P
P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I
W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C N H R N R R R V C K C P R P V V (配列
番号400)

【0254】

自殺ポリペプチドがCAR-T細胞の表面で発現される場合、リツキシマブがポリペプチドのRエピトープに結合すると、細胞の溶解が起こる。リツキシマブの1つを超える分子が、細胞表面で発現されるポリペプチド1つ当たり
40
に結合しうる。ポリペプチドの各Rエピトープは、リツキシマブの別個の分子を結合させることができる。BCMA特異的CAR-T細胞の欠失は、例えば、患者にリツキシマブを投与することによって、in vivoで起こりうる。導入された細胞を欠失させる決定は、例えば、容認できないレベルの毒性が検出されるときなど、導入された細胞に帰する、患者において検出されている望ましくない効果から生じうる。

【0255】

一部の実施形態では、CAR-T細胞は、特異的抗体によって認識される特異性を有す

10

20

30

40

50

る s c F v 内の選択されたエピトープを含む。例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれている、2016年1月25日に出願されたPCT出願「mAb - DRIVE N CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR SYSTEMS FOR SORTING / DEPLETING ENGINEERED IMMUNE CELLS」を参照。このようなエピトープは、CAR-T細胞の選別および/または枯渇を促進する。エピトープは、当技術分野で公知の任意の数のエピトープから選択することができる。一部の実施形態では、エピトープは、医療上の使用のために承認されたモノクローナル抗体の標的、例えば、限定することなく、リツキシマブによって認識されるCD20エピトープなどでありうる。一部の実施形態では、エピトープは、配列番号397に示したアミノ酸配列を含む。

10

C P Y S N P S L C (配列番号397)

【0256】

一部の実施形態では、エピトープは、CAR内に位置している。例えば、限定することなく、エピトープは、CARのs c F vとヒンジとの間に位置しうる。一部の実施形態では、リンカーによって分離された同じエピトープの2個の事例がCARにおいて使用されうる。例えば、配列番号398に示したアミノ酸配列を含むポリペプチドを、軽鎖可変領域とヒンジとの間に位置したCAR内で使用することができる。

G S G G G G S C P Y S N P S L C S G G G G S C P Y S N P S L C S G G G G S (配列番号398)

【0257】

20

一部の実施形態では、エピトープ特異的抗体を細胞傷害性薬とコンジュゲートすることができる。補体系のコンポーネントが移植された操作された抗体を使用することによってCDC細胞傷害性を促すことも可能である。一部の実施形態では、CAR-T細胞の活性化は、エピトープを認識する抗体を使用して細胞を枯渇させることによってモジュレートすることができる。

【0258】

治療用途

上述した方法によって得られる単離細胞、またはこのような単離細胞に由来する細胞株は、医薬として使用することができる。一部の実施形態では、このような医薬は、がんを処置するのに使用されうる。一部の実施形態では、がんは、多発性骨髄腫、悪性形質細胞新生物、ホジキンリンパ腫、結節性リンパ球優位型ホジキンリンパ腫、カーレル病および骨髄腫症、形質細胞白血病、形質細胞腫、B細胞前リンパ球性白血病、有毛細胞白血病、B細胞非ホジキンリンパ腫(NHL)、急性骨髄性白血病(AML)、慢性リンパ球性白血病(CLL)、急性リンパ球性白血病(ALL)、慢性骨髄性白血病(CML)、濾胞性リンパ腫、パーキットリンパ腫、辺縁帯リンパ腫、マンツル細胞リンパ腫、大細胞リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、骨髄性白血病、ワルデンストレームマクログロブリン血症、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、粘膜関連リンパ組織リンパ腫、小細胞リンパ球性リンパ腫、縦隔(胸腺)原発大細胞型B細胞リンパ腫、リンパ形質細胞性リンパ腫、結節辺縁帯B細胞リンパ腫、脾臓辺縁帯リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性滲出液リンパ腫、リンパ腫様肉芽腫症、T細胞/組織球豊富型大細胞型B細胞リンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫、原発性皮膚びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(脚型)、高齢者のEBV陽性びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、炎症に関連したびまん性大細胞型B細胞リンパ腫、ALK陽性大細胞型B細胞リンパ腫、形質芽球性リンパ腫、HHV8関連多中心性カストルマン病において生じる大細胞型B細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫とパーキットリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫と古典的ホジキンリンパ腫との間の中間の特徴を有する未分類のB細胞リンパ腫、または他のB細胞関連リンパ腫を含めたB細胞関連がんでありうる。

30

40

【0259】

一部の実施形態では、本発明による単離細胞、または単離細胞に由来する細胞株は、そ

50

れを必要とする患者におけるがんを処置するための医薬の製造において使用することができる。

【0260】

患者を処置するための方法も本明細書に提供されている。一部の実施形態では、方法は、必要とする患者に本発明の免疫細胞を提供することを含む。一部の実施形態では、方法は、必要とする患者に本発明の形質転換免疫細胞を投与する工程を含む。

【0261】

一部の実施形態では、本発明のT細胞は、ロバストな *in vivo* T細胞エクспанションを起こすことができ、延長期間 (extended amount of time) にわたって持続しう

10

【0262】

本発明の処置の方法は、寛解的、治癒的、または予防的でありうる。本発明の方法は、自己免疫療法の一部または同種免疫療法処置の一部でありうる。本発明は、同種間の免疫療法に特に適している。ドナー由来のT細胞を、標準プロトコールを使用して形質転換して非アロ反応性細胞にし、必要に応じて複製し、それによって1人または数人の患者に投与されうるCAR-T細胞を生成することができる。このようなCAR-T細胞療法は、「既製の」治療製品として利用可能にすることができる。

【0263】

開示した方法を用いて使用されうる細胞は、先のセクションに記載されている。処置は、例えば、がんと診断された患者を処置するのに使用することができる。処置されうるがんとしては、例えば、限定することなく、上記に列挙したがんのいずれも含めたBリンパ球を伴うがんがある。本発明のCARおよびCAR-T細胞で処置されるがんのタイプとしては、それだけに限らないが、ある特定の白血病またはリンパ悪性腫瘍がある。成人腫瘍/がんおよび小児腫瘍/がんも含まれる。一部の実施形態では、処置は、抗体療法、化学療法、サイトカイン療法、樹状細胞療法、遺伝子療法、ホルモン療法、レーザー光療法、および放射線療法からなる群から選択されるがんに対する1つまたは複数の療法と組み合わせたものでありうる。

20

【0264】

一部の実施形態では、処置は、免疫抑制処置を経ている患者に投与することができる。実際に、本発明は、好ましくは、少なくとも1種の免疫抑制剤に、このような免疫抑制剤の受容体をコードする遺伝子の不活化に起因して耐性にされた細胞または細胞の集団を利用する。この態様では、免疫抑制処置は、患者内で本発明によるT細胞の選択およびエクспанションを助けるはずである。本発明による細胞または細胞の集団の投与は、エアロゾル吸入、注射、経口摂取、輸血、インプラントーション、またはトランスプラントーションによるものを含めた任意の好都合な様式で実行することができる。本明細書に記載の組成物は、患者に、皮下、皮内、腫瘍内、節内、髄内、筋肉内に、静脈内もしくはリンパ管内注射によって、または腹腔内に投与されうる。一実施形態では、本発明の細胞組成物は、好ましくは、静脈内注射によって投与される。

30

【0265】

一部の実施形態では、細胞または細胞の集団の投与は、例えば、範囲内の細胞数のすべての整数値を含めた体重1kg当たり約 10^4 ~約 10^9 細胞の投与を含みうる。一部の実施形態では、細胞または細胞の集団の投与は、範囲内の細胞数のすべての整数値を含めた体重1kg当たり約 10^5 ~約 10^6 細胞の投与を含みうる。細胞または細胞の集団は、1回または複数回の用量で投与することができる。一部の実施形態では、前記有効量の細胞を単回用量として投与することができる。一部の実施形態では、前記有効量の細胞は、ある時間にわたって1回を超える用量として投与されうる。投与のタイミングは、管理医師の判断の範囲内であり、患者の臨床状態に依存する。細胞または細胞の集団は、任意の供給源、例えば、血液銀行またはドナーなどから得ることができる。個々のニーズは変動するが、特定の疾患または状態について所与の細胞型の有効量の最適な範囲を判定することは、当技術分野の技術の範囲内である。有効量は、治療的または予防的利益をもたら

40

50

す量を意味する。投与される投与量は、レシピエントの年齢、健康、および体重、もしあれば同時の処置の種類、処置の頻度、ならびに望まれる効果の特質に依存することになる。一部の実施形態では、有効量の細胞またはこれらの細胞を含む組成物が非経口的に投与される。一部の実施形態では、投与は、静脈内投与でありうる。一部の実施形態では、投与は、腫瘍内に注射によって直接的に行うことができる。

【0266】

本発明の一部の実施形態では、細胞は、それだけに限らないが、作用物質を用いた処置、例えば、モノクローナル抗体療法、CCR2アンタゴニスト（例えば、INC-8761）、抗ウイルス療法、シドフォビル、およびインターロイキン-2、シタラピン（ARA-Cとしても公知）、またはMS患者のためのナタリズマブ処置、または乾癬患者のためのエファリズマブ処置、またはPML患者のための他の処理などを含めた任意の数の妥当な処置モダリティーと併せて（例えば、前に、同時に、後に）患者に投与される。一部の実施形態では、BCMA特異的CAR-T細胞は、以下：抗PD-1抗体（例えば、ニボルマブ、ペンブロリズマブ、もしくはPF-06801591）、抗PD-L1抗体（例えば、アベルマブ、アテゾリズマブ、もしくはデュルバルマブ）、抗OX40抗体（例えば、PF-04518600）、抗4-1BB抗体（例えば、PF-05082566）、抗MCSF抗体（例えば、PD-0360324）、抗GITR抗体、および/または抗TIGIT抗体のうちの1種または複数と併せて患者に投与される。一部の実施形態では、配列番号396に示したアミノ酸配列を含むBCMA特異的CARが、抗PD-L1抗体アベルマブと併せて患者に投与される。さらなる実施形態では、本発明のT細胞は、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキセート、ミコフェノレート、およびFK506など、抗体、またはCAMPATH、抗CD3抗体、もしくは他の抗体療法などの他の免疫除去剤、サイトキシン、フルダリピン、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、FR901228、サイトカイン、ならびに/または照射など組み合わせて使用されうる。これらの薬物は、カルシウム依存性ホスファターゼカルシニユリンを阻害し（シクロスポリンおよびFK506）、または増殖因子誘導シグナリングに重要であるp70S6キナーゼを阻害する（ラパマイシン）（Henderson, Nayaら、1991；Liu, Albersら1992；Bierer, Hollanderら、1993）。さらなる実施形態では、本発明の細胞組成物は、骨髄移植、化学療法剤、例えば、フルダラピン、外部ビーム照射療法（XRT）、シクロホスファミド、またはOKT3もしくはCAMPATHなどの抗体などを使用するT細胞除去療法と併せて（例えば、前に、同時、または後に）患者に投与され、一部の実施形態では、本発明の細胞組成物は、B細胞除去療法、例えば、CD20と反応する作用物質、例えば、リツキサンなどの後に投与される。例えば、一実施形態では、対象は、高用量化学療法を用いた標準的な処置、その後の末梢血幹細胞トランスプランテーションを経ることができる。ある特定の実施形態では、トランスプラントの後、対象は、本発明の増やされた免疫細胞の注入を受ける。一部の実施形態では、増やされた細胞は、手術の前または後に投与される。

【0267】

キット

本発明は、本方法で使用するためのキットも提供する。本発明のキットは、本明細書に記載のBCMA特異的CARをコードするポリヌクレオチド、またはBCMA特異的CARをコードするポリヌクレオチドを含む操作された免疫細胞を含む1つまたは複数の容器、および本明細書に記載の本発明の方法のいずれかに従って使用するための指示書を含む。一般に、これらの指示書は、上述した治療的処置のための操作された免疫細胞の投与の記述を含む。

【0268】

本明細書に記載の操作された免疫細胞の使用に関する指示書は一般に、意図された処置のための投与量、投薬スケジュール、および投与経路に関する情報を含む。容器は、単用量、バルクパッケージ（例えば、複数回用量パッケージ）、またはサブユニット用量で

ありうる。本発明のキットに供給される指示書は、典型的には、ラベルまたは添付文書（例えば、キットに含まれる紙シート）上の書面による指示書であるが、機械可読な指示書（例えば、磁気または光記憶ディスクに収容される指示書）も許容できる。

【0269】

本発明のキットは、適当な包装内に存在する。適当な包装としては、それだけに限らないが、バイアル、瓶、広口瓶、フレキシブル包装（例えば、密封マイラーまたはビニール袋）などがある。特定のデバイス、例えば、吸入器、経鼻投与デバイス（例えば、アトマイザ）、またはミニポンプなどのインフュージョンデバイスなどと組み合わせて使用するためのパッケージも企図されている。キットは、滅菌したアクセスポートを有しうる（例えば、容器は、皮下注射針によって穿孔可能な栓を有する静脈注射用溶液バッグまたはバイアルでありうる）。容器も、滅菌したアクセスポートを有しうる（例えば、容器は、皮下注射針によって穿孔可能な栓を有する静脈注射用溶液バッグまたはバイアルでありうる）。組成物中の少なくとも1種の活性剤は、BCMA抗体である。容器は、第2の医薬活性剤をさらに含む。

10

【0270】

キットは、追加のコンポーネント、例えば、緩衝液および解釈情報などを提供してもよい。通常、キットは、容器および容器上のまたは容器に付随したラベルまたは添付文書を含む。

【0271】

以下の実施例は、例示的な目的のみのために提供されており、決して本発明の範囲を限定するように意図されていない。実際に、本明細書に示し、記載したものに加えて、本発明の様々な改変が、上記の記述から当業者に明らかとなり、添付の特許請求の範囲内に入る。

20

【0272】

本発明の代表的な材料は、2016年2月9日にアメリカンタイプカルチャーコレクション(ATCC)において寄託された。ATCC受託番号PTA-122834を有する生物学的寄託物は、BCMA特異的CARをコードするポリヌクレオチドを含むベクターである。寄託は、特許手続上の微生物の寄託の国際承認に関するブダペスト条約の条項とその下の規制(the provisions of the Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purpose of Patent Procedure and Regulations thereunder)(ブダペスト条約)の下で行われた。これは、寄託の日付から30年間の寄託物の生存培養の維持を保証する。寄託物は、ブダペスト条約の条項の下で、かつPfizer, Inc.とATCCとの間の同意を条件として、ATCCによって利用可能にされることになり、この同意は、関係する米国特許の発行の後、またはいずれか早くなる任意の米国もしくは外国特許出願が公衆に公開された後、公衆に寄託物の培養物の子孫の永続的かつ非制限的利用可能性を保証し、米国特許法第122条およびそれに準じた長官規則(886OG638を特に参照して連邦規則法典第37巻第1.14条を含む)に従って権利を与えられていると米国特許商標庁長官によって判定された者への子孫の利用可能性を保証するものである。

30

40

【0273】

本願の代理人は、寄託中の材料の培養物が、適当な条件下で培養されたときに、死に、または失われ、または破壊された場合、材料を、別の同じものと通知時に即座に置き換えることに同意した。寄託した材料の利用可能性は、任意の政府の権限下でその特許法に従って与えられた権利に違反して本発明を実施するライセンスとして解釈されるべきでない。

【実施例】

【0274】

(実施例1)

50

25 および/または37 におけるBCMA/ヒトIgG相互作用の動態および親和性の判定

本実施例は、25 および37 における様々な抗BCMA抗体の動態および親和性を判定する。

【0275】

すべての実験は、Bio-Rad Proteon XPR36表面プラズモン共鳴バイオセンサー(Bio-Rad、Hercules、CA)で実施した。抗BCMA抗体のアレイを、Abdicheら、Anal. Biochem.、411、139~151(2011)に記載されたものと同様にBio-Rad GLCセンサーチップ上でアミンカップリング法を使用して調製した。固定化についての分析温度は、25 であり、ランニング緩衝液は、HBS-T+(10mM HEPES、150mM NaCl、0.05% Tween-20、pH7.4)であった。1mM ECDおよび0.25mM NHSの混合物を30μL/分の流量で3分間注入することによって分析物(水平)方向にチャンネルを活性化した。IgGを、10mMアセテート pH4.5緩衝液中20μg/mLで、30μL/分で1.5分間リガンド(垂直)方向にこれらを注入することによって活性化されたスポット上に固定化した。活性化された表面は、1Mエタノールアミン、pH8.5を30μL/分で3分間分析物方向に注入することによってブロックした。

10

【0276】

BCMA結合分析の分析温度は、1mg/mL BSAを補充したHBS-T+のランニング緩衝液中37 または25 であった。速度論的滴定法をAbdicheらに記載されたように相互作用分析に使用した。ヒトBCMA(huBCMA)またはカニクイザルBCMA(cyBCMA)分析物を、低~高濃度の一連の注入を使用して分析物方向に注入した。使用した濃度は、0.08nM、0.4nM、2nM、10nM、および50nM(5倍希釈係数および50nMのトップ濃度を用いた5メンバーシリーズ)であった。所与の分析物希釈液の会合時間は、2分であった。50nM BCMA注入直後に、解離を2時間モニターした。BCMA分析物注入の前に、緩衝液をBCMA分析物サイクルにおける同じ会合および解離時間を使用して5回注入して、二重参照目的(Myszka、J. Mol. Recognit.、12、279~284(1999)に記載された二重参照)のための緩衝液ブランクセンサーグラムを準備した。

20

30

【0277】

センサーグラムを二重参照し、BIAevaluationソフトウェアバージョン4.1.1(GE Lifesciences、Piscataway、NJ)中の質量輸送速度論的滴定(mass transport kinetic titration)モデルを用いて1:1ラングミュアにフィッティングした。本発明の様々な抗BCMA抗体の動態および親和性パラメータを表4A~4Cに示す。表4A~4Cに示した抗体は、同じ名称を有する表1に示したCARと同じVHおよびVL領域を共有する。

【0278】

【表5】

表4A

40

試料	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	$t_{1/2}$ (分)	K_D (pM)
A02_Rd4_6nM_C01	1.2E+06	2.8E-05	411	24
A02_Rd4_6nM_C16	1.1E+06	6.2E-05	187	59
Combo_Rd4_0.6nM_C29	6.6E+06	1.4E-04	83	21
L3PY/H3TAQ	2.6E+06	1.4E-04	84	53

【0279】

【表 6 - 1】

表4B

抗体	25°Cにおける ka (1/Ms) huBCMA	25°Cにおける kd (1/s) huBCMA	25°Cにおける huBCMA に対する T _{1/2} (分)	25°Cにおける huBCMA に対する KD (nM)
P6E01/P6E01	1.04E+06	4.15E-03	2.8	4.0
P6E01/H3.AQ	8.35E+05	3.45E-04	33.53	0.41
L1.LGF/L3.KW/P6E01	8.31E+05	7.55E-03	1.53	9.08
L1.LGF/L3.NY/P6E01	1.33E+06	4.40E-03	2.63	3.32
L1.GDF/L3.NY/P6E01	1.60E+06	5.92E-03	1.95	3.70
L1.LGF/L3.KW/H3.AL	4.28E+05	1.23E-03	9.40	2.87
L1.LGF/L3.KW/H3.AP	9.28E+05	2.27E-03	5.10	2.44
L1.LGF/L3.KW/H3.AQ	5.24E+05	9.56E-04	12.09	1.82
L1.LGF/L3.PY/H3.AP	4.57E+05	9.69E-04	11.92	2.12
L1.LGF/L3.PY/H3.AQ	9.31E+05	8.86E-04	13.04	0.95
L1.LGF/L3.NY/H3.AL	7.63E+05	9.70E-04	11.91	1.27
L1.LGF/L3.NY/H3.AP	9.36E+05	5.33E-04	21.67	0.57
L1.LGF/L3.NY/H3.AQ	6.66E+05	2.99E-04	38.61	0.45
L1.GDF/L3.KW/H3.AL	4.45E+05	3.90E-03	2.96	8.76
L1.GDF/L3.KW/H3.AP	1.17E+06	4.61E-03	2.51	3.93
L1.GDF/L3.KW/H3.AQ	7.97E+05	3.48E-03	3.32	4.37
L1.GDF/L3.PY/H3.AQ	1.42E+06	1.35E-02	0.86	9.49
L1.GDF/L3.NY/H3.AL	9.07E+05	4.03E-03	2.87	4.44
L1.GDF/L3.NY/H3.AP	1.41E+06	1.41E-03	8.21	1.00
L1.GDF/L3.NY/H3.AQ	9.84E+05	7.22E-04	16.00	0.73
L3.KW/P6E01	7.40E+05	3.15E-04	36.66	0.43
L3.PY/P6E01	7.12E+05	2.28E-04	50.74	0.32
L3.NY/P6E01	8.76E+05	3.84E-04	30.08	0.44
抗体	37°Cにおける ka (1/Ms) huBCMA	37°Cにおける kd (1/s) huBCMA	37°Cにおける huBCMA に対する T _{1/2} (分)	37°Cにおける huBCMA に対する KD (nM)
L3.PY/L1.PS/P6E01	2.49E+06	1.13E-03	10.21	0.45
L3.PY/L1.AH/P6E01	2.55E+06	1.26E-03	9.19	0.49
L3.PY/L1.FF/P6E01	2.39E+06	1.41E-03	8.18	0.59
L3.PY/L1.PH/P6E01	2.81E+06	9.13E-04	12.65	0.32
L3.PY/L3.KY/P6E01	3.18E+06	1.09E-03	10.65	0.34
L3.PY/L3.KF/P6E01	2.88E+06	2.08E-03	5.56	0.72
L3.PY/H2.QR	2.56E+06	1.19E-03	9.75	0.46
L3.PY/H2.DY	2.60E+06	1.38E-03	8.37	0.53
L3.PY/H2.YQ	2.58E+06	1.56E-03	7.41	0.60
L3.PY/H2.LT	2.40E+06	1.29E-03	8.95	0.54
L3.PY/H2.HA	2.43E+06	1.47E-03	7.89	0.60
L3.PY/H2.QL	2.64E+06	2.18E-03	5.31	0.82
L3.PY/H3.YA	3.15E+06	1.18E-03	9.82	0.37
L3.PY/H3.AE	3.29E+06	1.39E-03	8.32	0.42
L3.PY/H3.AQ	3.08E+06	1.73E-03	6.69	0.56
L3.PY/H3.TAQ	3.08E+06	1.14E-03	10.13	0.37
L3.PY/P6E01	2.65E+06	1.96E-03	5.91	0.74

10

20

30

40

【 0 2 8 0 】

【表 6 - 2】

L3.PY/L1.PS/H2.QR	3.97E+06	1.03E-01	0.11	25.85
L3.PY/L1.PS/H2.DY	3.22E+06	3.61E-03	3.20	1.12
L3.PY/L1.PS/H2.YQ	3.35E+06	4.30E-03	2.69	1.28
L3.PY/L1.PS/H2.LT	3.40E+06	4.65E-03	2.49	1.37
L3.PY/L1.PS/H2.HA	3.30E+06	1.06E-02	1.09	3.21
L3.PY/L1.PS/H2.QL	1.52E+07	3.14E-01	0.04	20.64
L3.PY/L1.PS/H3.YA	3.07E+06	9.05E-03	1.28	2.95
L3.PY/L1.PS/H3.AE	3.14E+06	1.46E-03	7.93	0.46
L3.PY/L1.PS/H3.AQ	3.26E+06	1.79E-03	6.46	0.55
L3.PY/L1.PS/H3.TAQ	3.25E+06	2.46E-03	4.70	0.76
L3.PY/L1.AH/H2.QR	3.13E+06	1.81E-03	6.39	0.58
L3.PY/L1.AH/H2.DY	3.05E+06	1.52E-03	7.62	0.50
L3.PY/L1.AH/H2.YQ	2.42E+06	1.93E-03	6.00	0.80
L3.PY/L1.AH/H2.LT	3.16E+06	1.23E-03	9.38	0.39
L3.PY/L1.AH/H2.HA	3.33E+06	1.81E-03	6.37	0.54
L3.PY/L1.AH/H2.QL	3.04E+06	1.60E-03	7.22	0.53
L3.PY/L1.AH/H3.YA	3.00E+06	1.50E-03	7.73	0.50
L3.PY/L1.AH/H3.AE	3.32E+06	1.73E-03	6.70	0.52
L3.PY/L1.AH/H3.AQ	3.03E+06	1.97E-03	5.85	0.65
L3.PY/L1.AH/H3.TAQ	3.27E+06	1.19E-03	9.68	0.37
L3.PY/L1.FF/H2.QR	3.47E+06	1.77E-03	6.54	0.51
L3.PY/L1.FF/H2.DY	4.14E+06	2.71E-03	4.27	0.65
L3.PY/L1.FF/H2.YQ	3.32E+06	1.52E-03	7.61	0.46
L3.PY/L1.FF/H2.LT	3.30E+06	1.67E-03	6.92	0.51
L3.PY/L1.FF/H2.HA	3.49E+06	2.19E-03	5.29	0.63
L3.PY/L1.FF/H2.QL	3.48E+06	1.40E-03	8.28	0.40
L3.PY/L1.FF/H3.YA	3.50E+06	1.80E-03	6.41	0.51
L3.PY/L1.FF/H3.AE	3.82E+06	2.63E-03	4.39	0.69
L3.PY/L1.FF/H3.AQ	3.32E+06	1.54E-03	7.51	0.46
L3.PY/L1.FF/H3.TAQ	3.52E+06	1.89E-03	6.12	0.54
L3.PY/L1.PH/H2.QR	3.69E+06	2.36E-03	4.89	0.64
L3.PY/L1.PH/H2.HA	2.37E+06	1.16E-03	9.99	0.49
L3.PY/L1.PH/H3.AE	3.68E+06	1.34E-03	8.61	0.36
L3.PY/L1.PH/H3.AQ	3.08E+06	1.59E-03	7.27	0.52
L3.PY/L1.PH/H3.TAQ	3.58E+06	2.13E-03	5.43	0.59
L3.PY/L3.KY/H2.QR	2.95E+06	9.90E-04	11.67	0.34
L3.PY/L3.KY/H2.DY	3.19E+06	6.42E-04	18.00	0.20
L3.PY/L3.KY/H2.YQ	2.14E+06	1.65E-03	7.02	0.77
L3.PY/L3.KY/H2.LT	2.92E+06	9.06E-04	12.75	0.31
L3.PY/L3.KY/H2.HA	3.29E+06	1.63E-03	7.10	0.49
L3.PY/L3.KY/H2.QL	3.65E+06	2.08E-03	5.56	0.57
L3.PY/L3.KY/H3.YA	3.30E+06	9.12E-04	12.67	0.28
L3.PY/L3.KY/H3.TAQ	2.79E+06	6.49E-04	17.79	0.23
L3.PY/L3.KF/H2.DY	2.74E+06	1.82E-03	6.35	0.67
L3.PY/L3.KF/H2.YQ	1.96E+06	2.23E-03	5.18	1.14
L3.PY/L3.KF/H2.LT	2.75E+06	1.91E-03	6.05	0.69
L3.PY/L3.KF/H2.QL	2.07E+06	1.25E-03	9.26	0.60
L3.PY/L3.KF/H3.YA	3.12E+06	1.47E-03	7.85	0.47
L3.PY/L3.KF/H3.AE	3.07E+06	1.55E-03	7.44	0.51
L3.PY/L3.KF/H3.AQ	3.48E+06	2.27E-03	5.09	0.65
L3.PY/L3.KF/H3.TAQ	2.82E+06	1.62E-03	7.12	0.58

10

20

30

40

【表 6 - 3】

抗体	25°Cにおける ka (1/Ms) cyBCMA	25°Cにおける kd (1/s) cyBCMA	25°Cにおける cyBCMA に対する T½ (分)	25°Cにおける cyBCMA に対する KD (nM)
P6E01/P6E01		7.02E-02	0.16	115.4
P6E01/H3.AQ	1.08E+06	7.40E-03	1.6	6.9
L1.LGF/L3.KW/P6E01	4.55E+05	1.95E-02	0.6	42.8
L1.LGF/L3.NY/P6E01	9.20E+05	1.05E-02	1.1	11.4
L1.GDF/L3.NY/P6E01	1.20E+06	7.67E-03	1.5	6.4
L1.LGF/L3.KW/H3.AL	2.90E+05	1.21E-02	1.0	41.8
L1.LGF/L3.KW/H3.AP	5.54E+05	1.54E-02	0.7	27.8
L1.LGF/L3.KW/H3.AQ	5.27E+05	3.55E-03	3.3	6.7
L1.LGF/L3.PY/H3.AP	3.64E+05	1.30E-02	0.9	35.8
L1.LGF/L3.PY/H3.AQ	1.00E+06	4.77E-03	2.4	4.8
L1.LGF/L3.NY/H3.AL	6.35E+05	1.48E-02	0.8	23.2
L1.LGF/L3.NY/H3.AP	8.30E+05	5.57E-03	2.1	6.7
L1.LGF/L3.NY/H3.AQ	7.51E+05	1.48E-03	7.8	2.0
L1.GDF/L3.KW/H3.AL	3.18E+05	1.80E-02	0.6	56.7
L1.GDF/L3.KW/H3.AP	8.14E+05	2.03E-02	0.6	24.9
L1.GDF/L3.KW/H3.AQ	8.02E+05	5.65E-03	2.0	7.0
L1.GDF/L3.PY/H3.AQ	1.55E+06	1.66E-02	0.7	10.7
L1.GDF/L3.NY/H3.AL	9.00E+05	2.19E-02	0.5	24.3
L1.GDF/L3.NY/H3.AP	1.36E+06	7.02E-03	1.6	5.2
L1.GDF/L3.NY/H3.AQ	1.18E+06	1.36E-03	8.5	1.2
L3.KW/P6E01	7.63E+05	2.57E-03	4.5	3.4
L3.PY/P6E01	8.55E+05	2.93E-03	3.9	3.4
L3.NY/P6E01	1.01E+06	2.87E-03	4.0	2.8
抗体	37°Cにおける ka (1/Ms) cyBCMA	37°Cにおける kd (1/s) cyBCMA	37°Cにおける cyBCMA に対する T½ (分)	37°Cにおける cyBCMA に対する KD (nM)
L3.PY/L1.PS/P6E01	2.17E+06	6.06E-03	1.91	2.79
L3.PY/L1.AH/P6E01	2.16E+06	5.72E-03	2.02	2.65
L3.PY/L1.FF/P6E01	2.45E+06	5.91E-03	1.96	2.41
L3.PY/L1.PH/P6E01	2.17E+06	7.89E-03	1.46	3.63
L3.PY/L3.KY/P6E01	2.27E+06	5.02E-03	2.30	2.21
L3.PY/L3.KF/P6E01	2.39E+06	8.30E-03	1.39	3.48
L3.PY/H2.QR	2.18E+06	6.58E-03	1.76	3.02
L3.PY/H2.DY	2.24E+06	6.18E-03	1.87	2.76
L3.PY/H2.YQ	2.46E+06	6.21E-03	1.86	2.53
L3.PY/H2.LT	2.09E+06	7.57E-03	1.53	3.63
L3.PY/H2.HA	1.99E+06	7.55E-03	1.53	3.79
L3.PY/H2.QL	2.05E+06	1.26E-02	0.91	6.16
L3.PY/H3.YA	2.87E+06	5.40E-03	2.14	1.88
L3.PY/H3.AE	2.82E+06	5.04E-03	2.29	1.79
L3.PY/H3.AQ	2.77E+06	5.39E-03	2.14	1.94
L3.PY/H3.TAQ	2.57E+06	4.37E-03	2.64	1.70
L3.PY/P6E01	2.20E+06	1.31E-02	0.88	5.96

【 0 2 8 2 】

【表 6 - 4】

L3.PY/L1.PS/H2.QR	5.25E+05	6.70E-04	17.23	1.28
L3.PY/L1.PS/H2.DY	1.90E+06	3.78E-03	3.06	1.99
L3.PY/L1.PS/H2.YQ	2.00E+06	3.74E-03	3.09	1.87
L3.PY/L1.PS/H2.LT	2.17E+06	4.11E-03	2.81	1.89
L3.PY/L1.PS/H2.HA	1.45E+06	2.69E-03	4.30	1.86
L3.PY/L1.PS/H2.QL	6.57E+05	6.36E-04	18.17	0.97
L3.PY/L1.PS/H3.YA	1.77E+06	9.98E-03	1.16	5.65
L3.PY/L1.PS/H3.AE	2.46E+06	4.13E-03	2.80	1.68
L3.PY/L1.PS/H3.AQ	2.52E+06	4.33E-03	2.67	1.72
L3.PY/L1.PS/H3.TAQ	2.58E+06	5.52E-03	2.09	2.14
L3.PY/L1.AH/H2.QR	2.20E+06	4.91E-03	2.35	2.23
L3.PY/L1.AH/H2.DY	2.32E+06	4.51E-03	2.56	1.95
L3.PY/L1.AH/H2.YQ	1.58E+06	4.31E-03	2.68	2.74
L3.PY/L1.AH/H2.LT	2.19E+06	2.96E-03	3.91	1.35
L3.PY/L1.AH/H2.HA	2.58E+06	4.39E-03	2.63	1.70
L3.PY/L1.AH/H2.QL	2.62E+06	9.55E-03	1.21	3.65
L3.PY/L1.AH/H3.YA	2.37E+06	5.26E-03	2.20	2.22
L3.PY/L1.AH/H3.AE	2.25E+06	3.56E-03	3.25	1.58
L3.PY/L1.AH/H3.AQ	2.24E+06	3.99E-03	2.90	1.78
L3.PY/L1.AH/H3.TAQ	2.28E+06	3.02E-03	3.83	1.32
L3.PY/L1.FF/H2.QR	2.55E+06	4.21E-03	2.75	1.65
L3.PY/L1.FF/H2.DY	2.66E+06	5.00E-03	2.31	1.88
L3.PY/L1.FF/H2.YQ	2.19E+06	3.26E-03	3.55	1.49
L3.PY/L1.FF/H2.LT	2.19E+06	3.41E-03	3.38	1.56
L3.PY/L1.FF/H2.HA	2.33E+06	4.17E-03	2.77	1.79
L3.PY/L1.FF/H2.QL	2.36E+06	4.49E-03	2.57	1.91
L3.PY/L1.FF/H3.YA	2.46E+06	4.16E-03	2.77	1.69
L3.PY/L1.FF/H3.AE	2.85E+06	5.01E-03	2.31	1.76
L3.PY/L1.FF/H3.AQ	2.18E+06	3.29E-03	3.51	1.51
L3.PY/L1.FF/H3.TAQ	2.32E+06	3.76E-03	3.07	1.62
L3.PY/L1.PH/H2.QR	2.42E+06	4.36E-03	2.65	1.80
L3.PY/L1.PH/H2.HA	1.61E+06	5.53E-03	2.09	3.44
L3.PY/L1.PH/H3.AE	2.61E+06	2.02E-03	5.72	0.77
L3.PY/L1.PH/H3.AQ	2.28E+06	3.41E-03	3.39	1.50
L3.PY/L1.PH/H3.TAQ	2.51E+06	3.20E-03	3.61	1.28
L3.PY/L3.KY/H2.QR	2.05E+06	7.74E-03	1.49	3.78
L3.PY/L3.KY/H2.DY	1.96E+06	2.43E-03	4.75	1.24
L3.PY/L3.KY/H2.YQ	1.27E+06	2.58E-03	4.47	2.04
L3.PY/L3.KY/H2.LT	1.82E+06	2.32E-03	4.98	1.27
L3.PY/L3.KY/H2.HA	2.28E+06	3.18E-03	3.63	1.40
L3.PY/L3.KY/H2.QL	2.75E+06	4.09E-03	2.83	1.49
L3.PY/L3.KY/H3.YA	1.84E+06	4.28E-03	2.70	2.33
L3.PY/L3.KY/H3.TAQ	1.81E+06	1.92E-03	6.03	1.06
L3.PY/L3.KF/H2.DY	2.08E+06	3.68E-03	3.14	1.77
L3.PY/L3.KF/H2.YQ	1.41E+06	5.01E-03	2.30	3.55
L3.PY/L3.KF/H2.LT	1.91E+06	4.13E-03	2.80	2.16
L3.PY/L3.KF/H2.QL	1.42E+06	3.10E-03	3.73	2.18
L3.PY/L3.KF/H3.YA	2.10E+06	7.96E-03	1.45	3.78
L3.PY/L3.KF/H3.AE	1.85E+06	5.64E-03	2.05	3.05
L3.PY/L3.KF/H3.AQ	2.55E+06	2.38E-03	4.85	0.93
L3.PY/L3.KF/H3.TAQ	2.01E+06	1.91E-03	6.05	0.95

10

20

30

40

【 0 2 8 3 】

【表 7 - 1】

表 4C

抗体	ヒト BCMA			カニクイザル BCMA		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
P5A2_VHVL (P5A)	6.96E+06	3.87E-02	5567	1.61E+06	1.64E-02	10230
A02_Rd4_0.6nM_C06	3.49E+06	7.37E-05	21	1.81E+06	1.05E-04	58
A02_Rd4_0.6nM_C09	5.50E+06	9.75E-05	18	2.13E+06	1.74E-04	82
A02_Rd4_6nM_C16 (P5AC16)	1.56E+06	1.41E-04	90	1.34E+06	1.58E-04	118
A02_Rd4_6nM_C03	1.69E+06	1.26E-04	75	1.17E+06	1.85E-04	158
A02_Rd4_6nM_C01	3.11E+06	9.20E-05	30	1.45E+06	5.83E-04	401
A02_Rd4_6nM_C26	4.26E+06	1.39E-04	33	2.21E+06	4.48E-04	203
A02_Rd4_6nM_C25	2.75E+06	1.80E-04	65	1.50E+06	3.30E-04	220
A02_Rd4_6nM_C22	3.38E+06	1.82E-04	54	1.84E+06	3.24E-04	176
A02_Rd4_6nM_C19	3.00E+06	1.48E-04	49	2.54E+06	6.61E-04	260
A02_Rd4_0.6nM_C03	4.27E+06	1.82E-04	43	2.12E+06	4.26E-04	201
A02_Rd4_6nM_C07	1.48E+06	1.89E-04	128	6.91E+05	7.86E-04	1138
A02_Rd4_6nM_C23	1.22E+07	2.55E-04	21	2.63E+06	4.14E-04	157
A02_Rd4_0.6nM_C18	4.73E+06	2.29E-04	48	3.24E+06	6.39E-04	197
A02_Rd4_6nM_C10	4.51E+06	3.15E-04	70	1.90E+06	8.98E-04	472
A02_Rd4_6nM_C05	3.10E+06	3.08E-04	99	1.36E+06	1.29E-03	950
A02_Rd4_0.6nM_C10	2.30E+06	2.96E-04	129	8.83E+05	1.63E-03	1842
A02_Rd4_6nM_C04	4.47E+06	6.03E-04	135	2.18E+06	8.31E-04	381
A02_Rd4_0.6nM_C26	7.26E+06	4.43E-04	61	2.71E+06	2.56E-03	941
A02_Rd4_0.6nM_C13	8.53E+06	5.66E-04	66	2.29E+06	1.28E-03	560
A02_Rd4_0.6nM_C01 (P5AC1)	4.74E+06	9.15E-04	193	2.39E+06	1.57E-03	655
A02_Rd4_6nM_C08	3.92E+06	7.38E-04	188	2.23E+06	1.13E-02	5072
P5C1_VHVL (PC1)	1.16E+07	6.92E-02	5986	3.53E+06	5.38E-02	15231

10

20

30

40

【 0 2 8 4 】

【表 7 - 2】

抗体	ヒト BCMA			カニクイザル BCMA		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
C01_Rd4_6nM_C24	7.47E+06	3.48E-03	467	3.17E+06	8.91E-04	281
C01_Rd4_6nM_C26	1.50E+07	1.36E-03	90	4.75E+06	1.99E-03	419
C01_Rd4_6nM_C02	1.61E+07	1.44E-03	89	5.12E+06	2.18E-03	426
C01_Rd4_6nM_C10	1.31E+07	2.12E-03	162	4.44E+06	2.19E-03	493
C01_Rd4_0.6nM_C27	1.23E+07	3.74E-03	303	3.34E+06	2.85E-03	852
C01_Rd4_6nM_C20	6.02E+06	2.76E-03	459	3.60E+06	6.25E-03	1737
C01_Rd4_6nM_C12	1.21E+07	6.49E-03	535	4.51E+06	3.70E-03	820
C01_Rd4_0.6nM_C16	1.55E+07	6.30E-03	407	4.95E+06	4.64E-03	939
C01_Rd4_0.6nM_C09	1.51E+07	8.25E-03	545	5.28E+06	9.36E-03	1773
C01_Rd4_6nM_C09	1.58E+07	1.28E-02	811	3.73E+06	8.68E-03	2328
C01_Rd4_0.6nM_C03	1.55E+07	1.50E-02	964	4.72E+06	1.19E-02	2528
C01_Rd4_0.6nM_C06	1.82E+07	1.54E-02	847	6.22E+06	1.21E-02	1948
C01_Rd4_6nM_C04	2.33E+07	4.97E-02	2134	6.34E+06	3.27E-02	5156
COMBO_Rd4_0.6nM_C22	1.97E+06	7.15E-05	36	1.34E+06	6.66E-05	50
COMBO_Rd4_6nM_C21	1.17E+07	7.34E-05	6	3.17E+06	2.48E-04	78
COMBO_Rd4_6nM_C10	5.47E+06	9.72E-05	18	1.52E+06	1.60E-04	105
COMBO_Rd4_0.6nM_C04	1.07E+07	1.58E-04	15	3.52E+06	1.37E-04	39
COMBO_Rd4_6nM_C25	7.98E+06	1.13E-04	14	2.85E+06	2.26E-04	79
COMBO_Rd4_0.6nM_C21	1.34E+07	1.15E-04	9	3.63E+06	3.04E-04	84
COMBO_Rd4_6nM_C11	6.74E+06	1.24E-04	18	2.64E+06	4.12E-04	156
COMBO_Rd4_0.6nM_C20	7.65E+06	1.46E-04	19	3.09E+06	2.84E-04	92
COMBO_Rd4_6nM_C09	8.85E+06	1.43E-04	16	2.37E+06	3.18E-04	134
COMBO_Rd4_6nM_C08	8.99E+06	1.69E-04	19	3.06E+06	4.28E-04	140
COMBO_Rd4_0.6nM_C19	7.86E+06	1.55E-04	20	2.92E+06	9.79E-04	336
COMBO_Rd4_0.6nM_C02	8.57E+06	1.85E-04	22	3.01E+06	4.94E-04	164
COMBO_Rd4_0.6nM_C23	7.39E+06	2.10E-04	28	2.81E+06	5.31E-04	189
COMBO_Rd4_0.6nM_C29	1.47E+07	2.77E-04	19	4.00E+06	3.36E-04	84
COMBO_Rd4_0.6nM_C09	1.04E+07	3.19E-04	31	3.77E+06	3.46E-04	92

10

20

30

40

【 0 2 8 5 】

【表 7 - 3】

抗体	ヒト BCMA			カニクイザル BCMA		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
COMBO_Rd4_6nM_C12 (PC1C12)	1.38E+07	2.70E-04	20	3.29E+06	4.86E-04	148
COMBO_Rd4_0.6nM_C30	4.35E+06	2.82E-04	65	1.68E+06	8.08E-04	481
COMBO_Rd4_0.6nM_C14	8.66E+06	3.28E-04	38	3.48E+06	6.45E-04	185
COMBO_Rd4_6nM_C07	1.05E+07	3.71E-04	35	3.94E+06	9.34E-04	237
COMBO_Rd4_6nM_C02	1.05E+06	4.43E-04	422	7.95E+05	1.36E-03	1714
COMBO_Rd4_0.6nM_C05	4.32E+06	4.97E-04	115	1.94E+06	1.72E-03	886
COMBO_Rd4_0.6nM_C17	8.68E+06	8.01E-04	92	3.06E+06	1.01E-03	330
COMBO_Rd4_6nM_C22 (COM22)	3.03E+06	7.75E-04	256	1.70E+06	1.65E-03	972
COMBO_Rd4_0.6nM_C11	5.11E+06	1.06E-03	207	2.20E+06	4.23E-03	1924

10

20

【 0 2 8 6 】

(実施例 2)

BCMA 特異的 CAR - T 細胞

本実施例は、BCMA 陽性 (BCMA+) 腫瘍細胞に対する BCMA 特異的 CAR - T 細胞の機能活性を実証する。

【 0 2 8 7 】

生成したすべての BCMA 特異的 CAR 分子の中で、8 種を、BCMA に対する親和性、ヒト BCMA およびカニクイザル BCMA に対する交差反応性、ならびにエピトープに基づいてさらなる活性試験のために選択した。試験した CAR 分子は、P5A、P5AC1、P5AC16、PC1、PC1C12、COM22、P6DY、および P6AP を含んでいた。3 つの異なる構造を設計した。バージョン 1 (v1) は、Fc RIII ヒンジを含み、バージョン 2 (v2) は、CD8 ヒンジを含み、バージョン 3 (v3) は、IgG1 ヒンジを含む。表 5 に示したキメラ抗原受容体 (CAR) を調製し、BCMA+ 細胞に向けたこれらの脱顆粒活性について使用および査定した。脱顆粒活性は、ヒト T 細胞における各 CAR の一過性発現の際に判定した。

30

【 0 2 8 8 】

【表 8 - 2】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント
P5A-V3	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEW VSAISDSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDIWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGER ATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLMYDA SIRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSWPLTFGQGTKVEIKEPKSPDKTHTCPPC PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKLSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR(配列番号 345)	CD8α シグナルペプ チド; P5A2_VHVL VH ; GS リンカー; P5A2_VHVL VL; IgG1 ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD
		10
		20
		30

【 0 2 9 0 】

【表 8 - 3】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント	
P5AC1-V1	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEW VSAILsSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARYWPMDIWGQGTLTVSSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGERAT LSCRGGQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLMYDASI RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYQSWPLTFGQGTKVEIKGLAVSTISSFFPPGYQ IYWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFS RSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKR RGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALH MQALPPR (配列番号 346)	CD8α シグナルペプチド; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VH (配列番号 72); GS リンカー; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VL (配列番号 73); FcγRIIIα ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	10 20
P5AC1-V2	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEW VSAILsSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARYWPMDIWGQGTLTVSSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGERAT LSCRGGQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLMYDASI RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYQSWPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAP LAGTCGVLLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGM KGERRRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR (配列番号 347)	CD8α シグナルペプチド; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VH; GS リンカー; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VL; CD8α ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	30 40

【表 8 - 4】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント
P5AC1-V2.1	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEW VSAILSSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDIWGQGTLLTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGER ATLSCRGGQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLMYD ASIRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVY YCQQYQSWPLTFGQGTKVEIKGSGGGGSCPYSN PSLCSGGGGSCPYSNPSLCSGGGGSTTPAPRPP TPAPTIAEQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR (配列番号 396)	CD8 α シグナルペプチド; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VH; GS リンカー; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VL; リツキシマブエピトープ; CD8 α ヒンジ; CD8 α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3 ζ ISD

10

20

【 0 2 9 2 】

【表 8 - 5】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント	
P5AC1-V3_	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEW VSAILsSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARYWPMDIWGQGTLVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGERAT LSCRGGQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLMYDASI RATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYYC QQYQSWPLTFGQGTKVEIKEPKSPDKTHTCPPCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (配列番号 348)	CD8α シグナルペプチド; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VH; GS リンカー; A02_Rd4_0.6nM_C0 1 VL; IgG1 ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	10 20 30

【 0 2 9 3 】

【表 8 - 8】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント
PC1-V1	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEW VSAIGSGGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDSWGQGLTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGER ATLSCRASQSVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS SRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYSTSPLTFGQGTKVEIKGLAVSTISSFFPPGY QIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR (配列番号 352)	CD8α シグナルペプチド; P5C1_VHVL VH (配列番号 76); GS リンカー; P5C1_VHVL VL (配列番号 77); FcγRIIIα ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD
PC1-V2	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEW VSAIGSGGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDSWGQGLTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGER ATLSCRASQSVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS SRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYSTSPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAP LAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSRSADA PAYQQGQNQLYNELNLRREEYDVLDKRRGRDP EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR (配列番号 353)	CD8α シグナルペプチド; P5C1_VHVL VH; GS リンカー; P5C1_VHVL VL; CD8α ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD

【表 8 - 9】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント
PC1-V3	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEW VSAIGSGGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDSWGQGTLLTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGER ATLSCRASQSVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS SRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFAVYY CQQYSTSPLTFGQGTKVEIKEPKSPDKTHTCPPCP APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQ KLSLSPGKIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLRRE EYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQ KDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTAT KDTYDALHMQALPPR (配列番号 354)	CD8α シグナルペプ チド; P5C1_VHVL VH; GS リンカー; P5C1_VHVL VL; IgG1 ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD
		10
		20
		30

【 0 2 9 7 】

【表 8 - 1 0】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント	
PC1C1 2-V1	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEW VSAIGgSGGWSYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDSWGQGLTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGER ATLSCWLSQSVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDA SSRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYSEWPLTFGQGTKVEIKGLAVSTISSFFPPGY QIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVK FSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDK RRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA YSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDAL HMQALPPR (配列番号 355)	CD8α シグナルペプ チド; C01_Rd4_6nM_C12 VH (配列番号 83); GS リンカー; C01_Rd4_6nM_C12 VL (配列番号 84); FcγRIIIα ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	10 20
PC1C1 2-V2	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEW VSAIGgSGGWSYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARYWPMDSWGQGLTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGER ATLSCWLSQSVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLIYDA SSRAPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYSEWPLTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTI ASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWA PLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSAD APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRD PEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR (配列番号 356)	CD8α シグナルペプ チド; C01_Rd4_6nM_C12 VH; GS リンカー; C01_Rd4_6nM_C12 VL; CD8α ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	30 40

【表 8 - 1 3】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント
COM22 -V3_	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEW VSAISdSGGSRWYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCTRYWPMDIWGQGLTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSPGER ATLSCRASVRVSSTYLAWYQQKPGQAPRLLMYDA SIRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYMKWPLTFGQGTKVEIKEPKSPDKTHTCPPC PAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKR GRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR (配列番号 360)	CD8α シグナルペプ チド; COMBO_Rd4_0.6nM _C22 VH; GS リンカー; COMBO_Rd4_0.6nM _C22 VL; IgG1 ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD
		10
		20
		30

【 0 3 0 1】

【表 8 - 1 5】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント	
P6DY- V3_	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLEW VSAIDYSGGNTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVSPIASGMDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLVSLSP GERATLSCRASQSVSSSYPSWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQHYPYPPSFTFGGQTKVEIKEPKSPDKTHT CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDGLMIARTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF PEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNEL NLGRREEYDVLKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR (配列番号 363)	CD8α シグナルペプ チド; L3.PY/H2.DY VH; GS リンカー; L3.PY/L1.PS/P6E01 VL; IgG1 ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	10 20 30

【 0 3 0 3】

【表 8 - 1 6】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント	
P6AP-V1	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGNTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVSPIAAPMDYWQGGLVLT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLVSLSP GERATLSCRASQLGSFYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQHYNYPPSFTFGQGTKVEIKGLAVSTISSFFP PGYQIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLL YIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTY DALHMQA (配列番号 364)	CD8α シグナルペプチド; P6AP-V1 VH (配列番号 8); GS リンカー; P6AP-V1 VL (配列番号 80) FcγRIIIα ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	10 20
P6AP-V2	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGNTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVSPIAAPMDYWQGGLVLT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLVSLSP GERATLSCRASQLGSFYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQHYNYPPSFTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTP APTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDI YIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRR GRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPR (配列番号 365)	CD8α シグナルペプチド; L1.LGF/L3.KW/H3.A P VH; GS リンカー; P6AP-V1 VL; CD8α ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD	30 40

【表 8 - 17】

CAR	CAR アミノ酸配列	コンポーネント
P6AP-V3_	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLEW VSAISGSGGNTFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVSPIAAPMDYWQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSP GERATLSCRASQLGSFYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLISRLEPEDFA VYYCQHYNPPSFTFGQGTKVEIKEPKSPDKTHTC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIARTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGKIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE EEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPENGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQUALPPR (配列番号 366)	CD8α シグナルペプチド; L1.LGF/L3.KW/H3.A P VH; GS リンカー; P6AP-V1 VL; IgG1 ヒンジ; CD8α TM ドメイン; 41BB ISD; CD3ζ ISD
		10
		20
		30

【0305】

活性アッセイのために、13人の健康ドナー（ドナー1～13）由来のT細胞を得た。簡単に言えば、T細胞を、パフィーコート試料から精製し、CD3/CD28ビーズを使用して活性化した。細胞に、活性化後D11/12において異なるCAR分子をコードするmRNAを一過性にトランスフェクトした。CAR活性は、(a)BCMAを発現する細胞（MM1S、KMS12BM、およびL363）、または(b)BCMAタンパク質を発現しない細胞（K562）とともに共培養したときのこれらの脱顆粒能力、インターフェロン-（IFN）放出、および細胞傷害活性を測定することによって査定した。CARを発現しないT細胞のベースライン活性を判定するために、モックトランスフェクトT細胞（緩衝液中のT細胞）も各アッセイについて含めた。

40

【0306】

CAR検出は、ヒトBCMAタンパク質の細胞外ドメインをマウスIgG1由来Fc断片に融合させた融合タンパク質を使用して行った。細胞表面におけるCARの、融合タンパク質のBCMA部分との結合を、抗FcPE-コンジュゲート抗体を用いて検出し、フローサイトメトリーによって分析した。

【0307】

材料および方法
初代T細胞培養

50

T細胞を、EFS (Etablissement Francais du Sang、Paris、フランス) によって提供されたバフィーコート試料から、フィコール勾配密集培地 (density medium) (Ficoll Paque PLUS / GE Healthcare Life Sciences) を使用して精製した。PBM C層を回収し、T細胞を、市販のT細胞濃縮キット (Stem Cell Technologies) を使用して精製した。精製T細胞を、20 ng / mLヒトIL - 2 (Miltenyi Biotech)、5%ヒト血清 (Sera Laboratories)、およびビーズ:細胞比が1:1のDynabeads Human T活性化因子CD3 / CD28 (Life Technologies) を補充したX - Vivo (商標) - 15培地 (Lonza) 中で活性化した。活性化後、細胞を、20 ng / mLヒトIL - 2 (Miltenyi Biotec) および5%ヒト血清 (Sera Laboratories) を補充したX - Vivo (商標) - 15培地 (Lonza) 中で増殖させ、維持した。

10

【0308】

CAR mRNAトランスフェクション

トランスフェクションを、T細胞精製および活性化後4/5日目または11/12日目に行った。細胞500万個に、異なるCAR構築物をコードするmRNA 15 μgをトランスフェクトした。CAR mRNAは、mMESSAGE mMACHINE T7キット (Life Technologies) を使用して生成し、RNeasy Mini Spin Columns (Qiagen) を使用して精製した。トランスフェクションは、Pulse Agile (商標) Cytopulse技術を使用して、最終体積200 μlの「Cytoporatation buffer T」(BTX Harvard Apparatus) 中で、0.4 cmギャップキュベット内で3000 V / mの2回の0.1 msパルス、その後325 V / cmの4回の0.2 msパルスを印加することによって行った。細胞をX - Vivo (商標) - 15培地 (Lonza) で直ちに希釈し、5% CO₂とともに37 °Cでインキュベートした。Miltenyi Biotec製IL - 2を電気穿孔の2時間後に20 ng / mLで添加した。

20

【0309】

脱顆粒アッセイ (CD107a動員)

T細胞を、BCMAタンパク質を発現するまたは発現しない等量の細胞と一緒に96ウェルプレート (50,000細胞/ウェル) 中でインキュベートした。共培養を、最終体積100 μlのX - Vivo (商標) - 15培地 (Lonza) 中で、5% CO₂とともに37 °Cで6時間維持した。CD107a染色を、1 μg / mlの抗CD49d (BD Pharmingen)、1 μg / mlの抗CD28 (Miltenyi Biotec)、および1xモネンシン溶液 (eBioscience) と一緒に、共培養の開始時に蛍光性抗CD107a抗体 (コンジュゲートされたAPC、Miltenyi Biotec製) を添加することによって、細胞刺激中に行った。6時間のインキュベーション期間後、細胞を、fixable viability dye (eFluor 780、eBioscience製) および蛍光色素コンジュゲート抗CD8 (コンジュゲートされたPE、Miltenyi Biotec) で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。脱顆粒活性を、CD8+ / CD107a+細胞の%として、かつCD8+細胞の中のCD107a染色について平均蛍光強度シグナル (MFI) を判定することによって判定した。脱顆粒アッセイは、mRNAトランスフェクションの24時間後に実行した。結果を以下の表6A~9Hおよび9A~9Cに要約する。表では、第2の列 (標識された「CAR - T細胞」) は、トランスフェクトT細胞内で発現されているBCMA特異的CARを示す。

30

40

【0310】

細胞上のCD107a発現は、抗原特異的活性化のマーカーである。BCMA特異的CARを発現するCD8+ T細胞上のCD107aのパーセントおよびMFIは、BCMA高 (H929)、中 (MM1S)、および低 (KMS12BM、L363) 発現細胞とと

50

もにインキュベートしたとき増大するが、BCMA陰性細胞(K562およびダウディ)とともにインキュベートしたとき増大しない(表6A~9Hおよび9A~9C)。CD107a発現レベルは、BCMAと接触したモックトランスフェクトT細胞で増大しなかった。よって、BCMA特異的CAR-T細胞は、BCMA発現細胞の存在下で活性化されるが、BCMAを発現しない細胞の存在下で活性化されない。

【0311】

これらの結果は、BCMA特異的CARを発現するT細胞は、BCMA発現細胞とともにインキュベートされたとき活性化され、活性化は、抗原特異的であることを実証する。

【0312】

IFN 放出アッセイ

T細胞を、(a)BCMAを発現する細胞(MM1S、KMS12BM、およびL363)、または(b)BCMAタンパク質を発現しない細胞(K562)と一緒に、96ウェルプレート(50,000細胞/ウェル)中でインキュベートした。共培養を、最終体積100 μ lのX-Vivo(商標)-15培地(Lonza)中で、5%CO₂とともに37 $^{\circ}$ Cで24時間維持した。このインキュベーション期間の後、プレートを1500rpmで5分間遠心し、上清を新しいプレートに回収した。細胞培養物上清中のIFN検出を、ELISAアッセイ(Human IFN Quantikine ELISA Kit、R&D Systems製)によって行った。IFN放出アッセイは、mRNAトランスフェクションの24時間後に細胞共培養を開始することによって実行した。結果を以下の表8A~8Dおよび10に要約する。

【0313】

表8A~8Dおよび10に示したように、BCMA特異的CARを発現するCD8⁺T細胞は、中BCMA発現細胞(MM1S)または低BCMA発現細胞(KMS12BM、L363)とともにインキュベートされたときIFN γ を産生する。対照的に、BCMA特異的CARを発現するCD8⁺T細胞は、BCMA陰性細胞(K562)とともにインキュベートされたときごくわずかなIFN γ を産生する。

【0314】

これらの結果は、BCMA特異的CARを発現するT細胞は、BCMA発現細胞とともにインキュベートされたとき活性化され、活性化は、抗原特異的であることを実証する。

【0315】

- 細胞傷害性アッセイ

T細胞を、同じウェル中で10,000標的細胞(BCMAを発現する)および10,000対照(BCMA^{neg})細胞と一緒に、96ウェルプレート(50,000細胞/ウェル)中でインキュベートした。標的および対照細胞を蛍光細胞内色素(CFSEまたはCell Trace Violet、Life Technologies製)で標識した後、これらをCAR⁺T細胞とともに共培養した。共培養物を、5%CO₂とともに37 $^{\circ}$ Cで4時間インキュベートした。このインキュベーション期間後、細胞を、fixable viability dye(eFluor 780、eBioscience製)で標識し、フローサイトメトリーによって分析した。各細胞集団(標的細胞またはBCMA^{neg}対照細胞)の生存能を判定し、特異的細胞溶解の%を計算した。細胞傷害性アッセイをmRNAトランスフェクションの48時間後に実行した。結果を以下の表7A~7Hに要約する。表では、細胞傷害性データは、パーセント生存細胞として示されており、次いで生BCMA陽性細胞/生BCMA陰性細胞の比として計算されている。細胞溶解は、100-モックトランスフェクトT細胞として計算されている。

【0316】

表7A~7Hに示したように、BCMA特異的CARを発現するT細胞は、中BCMA発現細胞(MM1S)または低BCMA発現細胞(L363)とともにインキュベートされたとき殺傷活性を呈する。対照的に、BCMA特異的CARを発現するCD8⁺T細胞は、BCMA陰性細胞(K562)とともにインキュベートされたとき殺傷活性を呈さない。

10

20

30

40

50

【 0 3 1 7 】

要約すると、表 5 に示した選択された B C M A 特異的 C A R を発現する T 細胞は、B C M A 発現細胞と接触すると選択的に活性化される。B C M A 特異的 C A R のすべてのバージョンが B C M A 特異的活性化を呈したが、C D 8 ヒンジ (v 2) を含む B C M A 特異的 C A R は、F c R I I I (v 1) ヒンジまたは I g G 1 (v 3) ヒンジを含む B C M A 特異的 C A R と比較して増大した活性化レベルを呈した。

【 0 3 1 8 】

【表 9】

表 6A:脱顆粒アッセイ結果、ドナー1

			MFI	% CD107a+ (CD8+中)	
ドナー 1	モックトラ ンスフェク ト T 細胞	T 細胞	410	2.45	
		PMA/Iono	4038	76.1	
		MM1S	547	6.78	
		K562	610	7.55	
	P6DY	v1	T 細胞	588	5.19
			PMA/Iono	3758	75.1
			MM1S	850	14.9
			K562	829	9.76
		v2	T 細胞	756	6.86
			PMA/Iono	4103	75.5
			MM1S	3872	75.4
			K562	1130	20.7
		v3	T 細胞	707	7.71
			PMA/Iono	4336	78.7
			MM1S	3665	72.6
			K562	612	7.7
	P6AP	v1	T 細胞	604	4.61
			PMA/Iono	3526	72.8
			MM1S	1847	46.4
			K562	503	4.28
v2		T 細胞	1380	27.8	
		PMA/Iono	2504	58	
		MM1S	5299	83.9	
		K562	949	14.6	
v3		T 細胞	856	12.6	
		PMA/Iono	2500	58.9	
		MM1S	3638	73	
		K562	718	9.15	

10

20

30

40

【 0 3 1 9 】

【表 10】

表 6B:脱顆粒アッセイ結果、ドナー2

				MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
ドナー 2	モックトランス フェクト T細胞		T細胞	270	1.66	
			PMA/Iono	3872	88.3	
			MM1S	499	11	
			K562	492	8.78	
	P5A	v1		T細胞	423	7.2
				PMA/Iono	6034	96.3
				MM1S	2670	77.6
				K562	648	16.6
		v2		T細胞	428	7.14
				PMA/Iono	4420	90.7
				MM1S	5019	91.8
				K562	620	13.8
		v3		T細胞	451	8.87
				PMA/Iono	4835	93.2
				MM1S	4191	88.5
				K562	607	14.1
	P5A_C1	v1		T細胞	315	4.12
				PMA/Iono	3567	85.8
				MM1S	2193	68.6
				K562	537	10.1
		v2		T細胞	413	7.46
				PMA/Iono	4423	91.1
				MM1S	4575	90.6
				K562	660	17.2
		v3		T細胞	429	7.82
				PMA/Iono	4442	93.5
				MM1S	3710	84.4
				K562	597	13.9
P5A_C16	v1		T細胞	424	7.95	
			PMA/Iono	4325	91.1	
			MM1S	1858	61.6	
			K562	636	14.9	
	v2		T細胞	401	5.69	
			PMA/Iono	3007	80	
			MM1S	4228	87.9	
			K562	696	17.6	
	v3		T細胞	372	5.25	
			PMA/Iono	3611	86.6	
			MM1S	3372	83.6	
			K562	476	7.72	

10

20

30

40

【表 1 1】

表 6C:脱顆粒アッセイ結果、ドナー3

				MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
ドナー 3	モックトラン スフェクト T細胞		T細胞	338	3.61	
			PMA/Iono	7111	98.1	
			MM1S	464	9.44	
			K562	533	9.73	
	PC1	v1		T細胞	454	6.67
				PMA/Iono	5226	96.5
				MM1S	2178	75.6
				K562	753	22.3
		v2		T細胞	507	13
				PMA/Iono	4743	95.2
				MM1S	759	25.5
				K562	649	15.5
		v3		T細胞	463	6.84
				PMA/Iono	7092	98.1
				MM1S	2857	87.2
				K562	665	15
	PC1C12	v1		T細胞	373	3.35
				PMA/Iono	6214	97.2
				MM1S	1960	68.2
				K562	513	7.61
		v2		T細胞	579	11.5
				PMA/Iono	6341	97.5
				MM1S	4478	95.1
				K562	680	15
		v3		T細胞	533	10.1
				PMA/Iono	5785	97.4
				MM1S	3739	91
				K562	648	13.2
	COM22	v1		T細胞	354	2.74
				PMA/Iono	5894	96.7
				MM1S	2219	76.1
				K562	445	5.62
v2			T細胞	401	6.52	
			PMA/Iono	5802	94.6	
			MM1S	2372	79.2	
			K562	534	8.9	
v3			T細胞	501	10.4	
			PMA/Iono	6387	97.6	
			MM1S	2780	85.9	
			K562	648	13.8	

【表 1 2】

表 6D:脱顆粒アッセイ結果、ドナー4

			MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
ドナー 4 (v3 のみ)	モックト ランスフ ェクト T細胞	T細胞	248	2.64	10
		PMA/Iono	5750	94.9	
		MM1S	363	8.89	
		K562	368	6.86	
	P5A	T細胞	335	3.82	
		PMA/Iono	6025	93	
		MM1S	3150	86.7	
		K562	418	9.91	
	P5AC1	T細胞	505	22.1	20
		PMA/Iono	6950	98.3	
		MM1S	2975	84.7	
		K562	575	23.3	
	P5AC16	T細胞	368	6.2	
		PMA/Iono	5775	97.7	
		MM1S	3675	86.8	
		K562	420	9.73	
	PC1	T細胞	403	9.05	
		PMA/Iono	6975	97.8	
		MM1S	4625	93	
		K562	543	15.8	
	PC1C12	T細胞	485	12.9	30
		PMA/Iono	6400	96.5	
		MM1S	3575	90.4	
		K562	585	18.9	
	COM22	T細胞	535	20.5	
		PMA/Iono	7250	98.3	
		MM1S	3725	91.4	
		K562	533	16.9	
	P6DY	T細胞	313	3.08	40
		PMA/Iono	5125	94.3	
		MM1S	2435	79.9	
		K562	438	10.4	
P6AP	T細胞	430	10.4		
	PMA/Iono	6100	94.2		
	MM1S	3800	91.7		
	K562	478	14.6		

【表 1 3 - 1】

表 6E:脱顆粒アッセイ結果、ドナー5

			% CD107a+ (CD8+中)	MFI CD107a+	
ドナー 5 (v3 のみ)	CAR- BCMA- P5A	L363	47	917	10
		MM1S	65.3	1713	
		K562	3.65	247	
		T 細胞	1.71	199	
		PMA/iono	98.6	4797	
	CAR- BCMA- P5AC1	L363	50.6	1117	20
		MM1S	65.5	1753	
		K562	5.29	265	
		T 細胞	1.93	213	
		PMA/iono	99.1	5755	
	CAR- BCMA- P5AC16	L363	57.2	1392	30
		MM1S	73.9	2520	
		K562	4.13	273	
		T 細胞	2.57	232	
		PMA/iono	98.1	5120	
	CAR- BCMA- PC1	L363	71.9	2167	40
		MM1S	82.9	2987	
		K562	4.5	316	
		T 細胞	2.47	273	
		PMA/iono	98.5	5556	
	CAR- BCMA- PC1C12	L363	57.8	1492	
		MM1S	71.5	2094	
		K562	3.72	313	
		T 細胞	2.53	272	
PMA/iono		98.2	4480		
CAR- BCMA- COM22	L363	61.3	1574		
	MM1S	78.1	2602		
	K562	5.84	296		
	T 細胞	5.26	284		
	PMA/iono	98.3	4434		
CAR- BCMA- P6DY	L363	43.4	859		
	MM1S	63.6	1624		
	K562	3.99	256		
	T 細胞	1.95	228		
	PMA/iono	98.1	4075		

【表 1 3 - 2】

	CAR- BCMA- P6AP	L363	63.4	1745
		MM1S	77.8	2461
		K562	4.81	310
		T 細胞	4.74	300
		PMA/iono	98.9	32
	モックト ランスフ ェクト T 細胞	L363	2.54	200
		MM1S	5.19	233
		K562	4.02	201
		T 細胞	1.95	192
		PMA/iono	97.7	3216

10

【 0 3 2 4 】

20

【表 1 4 - 1】

表 6F:脱顆粒アッセイ結果、ドナー6

			MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
ドナー 6	BCMA_BC30_v3 (18)	T細胞単独	121	1.04	10
		T細胞 PMA IONO	5253	87.4	
		T細胞 K562	230	3.21	
		T細胞 MM1S	1321	50.4	
		T細胞 L363	986	41.8	
	CAR_BCMA_P5AC1_v2	T細胞単独	150	1.07	20
		T細胞 PMA IONO	4701	83.2	
		T細胞 K562	256	5.5	
		T細胞 MM1S	2193	63.8	
		T細胞 L363	1400	50.9	
	CAR_BCMA_P5AC1_v3	T細胞単独	166	0.96	20
		T細胞 PMA IONO	4518	80.2	
		T細胞 K562	301	6.87	
		T細胞 MM1S	1101	40.7	
		T細胞 L363	728	29.8	
	CAR_BCMA_PC1_v3	T細胞単独	217	1.63	30
		T細胞 PMA IONO	4711	82.4	
		T細胞 K562	329	6.36	
		T細胞 MM1S	2083	60.3	
		T細胞 L363	1500	52.1	
	CAR_BCMA_PC1C12_v2	T細胞単独	209	2.01	30
		T細胞 PMA IONO	5401	87.8	
		T細胞 K562	332	7.7	
		T細胞 MM1S	2588	68.4	
		T細胞 L363	1976	59.5	
CAR_BCMA_PC1C12_v3	T細胞単独	162	1.72	40	
	T細胞 PMA IONO	5299	85.3		
	T細胞 K562	266	6.25		
	T細胞 MM1S	669	28.8		
	T細胞 L363	414	18.6		

【表 15 - 1】

表 6G:脱顆粒アッセイ結果、ドナー7

			MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
ドナー 7	モックトランス フェクトT細胞	T細胞単独	68.3	1.55	10
		T細胞 PMA IONO	3097	94.6	
		T細胞 MM1S	118	7.15	
		T細胞 L363	90.3	2.63	
		T細胞 K562	144	3.4	
		T細胞 ダウディ	117	1.93	
	BCMA_BC30_v3 (18)	T細胞単独	69.7	2.69	20
		T細胞 PMA IONO	2864	94.9	
		T細胞 MM1S	1630	68.9	
		T細胞 L363	529	43.8	
		T細胞 K562	125	3.85	
		T細胞 ダウディ	426	38.5	
	P5AC1_v2	T細胞単独	111	3.67	30
		T細胞 PMA IONO	2859	95.6	
		T細胞 MM1S	2305	71.5	
		T細胞 L363	877	53.1	
		T細胞 K562	166	8.54	
		T細胞 ダウディ	770	51.5	
	P5AC1_v3	T細胞単独	70.8	1.04	40
		T細胞 PMA IONO	2740	94.6	
		T細胞 MM1S	526	43.3	
		T細胞 L363	209	20.4	
		T細胞 K562	118	8.32	
		T細胞 ダウディ	450	35.9	
PC1_v3	T細胞単独	61	1.37		
	T細胞 PMA IONO	2786	94.6		
	T細胞 MM1S	1027	56.3		
	T細胞 L363	314	29.9		
	T細胞 K562	140	12.1		
	T細胞 ダウディ	536	39.6		

【 0 3 2 7 】

【表 1 5 - 2】

	PC1C12_v2	T 細胞単独	98	5.95		
		T 細胞 PMA IONO	3493	95.3		
		T 細胞 MM1S	1917	73.7		
		T 細胞 L363	939	56.2		
		T 細胞 K562	192	11.5		
		T 細胞 ダウディ	1485	64.6		
	PC1C12_v3	T 細胞単独	84.2	2.28		10
		T 細胞 PMA IONO	3017	95.2		
		T 細胞 MM1S	342	28.2		
		T 細胞 L363	145	8.72		
		T 細胞 K562	186	7.53		
		T 細胞 ダウディ	223	11.8		
	COM22_v3	T 細胞単独	93.6	5.32		20
		T 細胞 PMA IONO	2989	96.3		
		T 細胞 MM1S	540	40		
		T 細胞 L363	154	12.5		
		T 細胞 K562	138	8.29		
		T 細胞 ダウディ	93.5	3.99		
	P6AP_v2	T 細胞単独	164	13.7		30
		T 細胞 PMA IONO	3303	95.9		
		T 細胞 MM1S	2755	76		
		T 細胞 L363	859	50.3		
		T 細胞 K562	287	15.8		
		T 細胞 ダウディ	1263	58.2		
P6AP_v3	T 細胞単独	114	10.5	40		
	T 細胞 PMA IONO	3084	94.5			
	T 細胞 MM1S	849	51.6			
	T 細胞 L363	380	30.9			
	T 細胞 K562	211	8.46			
	T 細胞 ダウディ	678	42.7			

【 0 3 2 8 】

【表 16 - 1】

表 6H:脱顆粒アッセイ結果、ドナー8

			MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)
ドナー 8	モックトランスフ ェクトT細胞	T細胞単独	154	0.67
		T細胞 PMA IONO	3777	66.2
		T細胞 MM1S	229	2.16
		T細胞 L363	166	1.51
		T細胞 K562	220	2.08
	BCMA_BC30_v3 (18)	T細胞単独	210	1.05
		T細胞 PMA IONO	4302	70.6
		T細胞 MM1S	1661	42
		T細胞 L363	1049	26.5
		T細胞 K562	262	3.46
	P5AC1_v2	T細胞単独	207	0.86
		T細胞 PMA IONO	4298	71.5
		T細胞 MM1S	1648	40.8
		T細胞 L363	1099	26.5
		T細胞 K562	232	1.72
	P5AC1_v3	T細胞単独	187	0.84
		T細胞 PMA IONO	3989	68.8
		T細胞 MM1S	766	21.2
		T細胞 L363	521	14.2
		T細胞 K562	258	2.05
	PC1_v3	T細胞単独	242	1.23
		T細胞 PMA IONO	4256	70.6
		T細胞 MM1S	1046	23.1
		T細胞 L363	1183	27.4
		T細胞 K562	283	2.97
PC1C12_v2	T細胞単独	257	1.87	
	T細胞 PMA IONO	3487	60.2	
	T細胞 MM1S	2463	51.2	
	T細胞 L363	1657	35.4	
	T細胞 K562	314	4.05	

10

20

30

40

【表 16 - 2】

	PC1C12_v3	T細胞単独	166	0.86	10
		T細胞 PMA IONO	4238	69.1	
		T細胞 MM1S	641	17.3	
		T細胞 L363	507	14.2	
		T細胞 K562	296	3.52	
	COM22_v3	T細胞単独	283	2.55	
		T細胞 PMA IONO	4800	75.9	
		T細胞 MM1S	1035	27.9	
		T細胞 L363	704	22.7	
		T細胞 K562	334	4.82	
	P6AP_v2	T細胞単独	545	8.33	
		T細胞 PMA IONO	4362	68.6	
		T細胞 MM1S	2273	46.7	
		T細胞 L363	1671	34.7	
		T細胞 K562	629	9.71	
	P6AP_v3	T細胞単独	360	3.87	
		T細胞 PMA IONO	3584	61.5	
		T細胞 MM1S	1553	34.5	
		T細胞 L363	1045	23	
		T細胞 K562	595	7.4	

【0330】

【表 17】

表 7A:細胞傷害性データ、ドナー6

	CAR	生存能(平均)			
		L363	K562	MM1S	K562
ドナー 6	BC30_v3	22.93	89.90	16.30	88.43
	P5AC1_v2	27.27	90.07	21.47	90.17
	P5AC1_v3	36.03	89.30	19.80	88.50
	PC1_v3	19.03	88.23	13.57	87.50
	PC1C12_v2	19.60	86.13	14.67	84.67
	PC1C12_v3	55.50	89.33	41.33	88.67
	COM22_v3	42.00	90.33	25.67	88.30
	P6AP_v2	29.40	80.27	21.07	82.10
	P6AP_v3	48.53	85.20	25.57	81.30
	モック トランスフェク トT細胞	90.90	88.20	91.77	86.30

【 0 3 3 1 】

【表 1 8】

表 7B:細胞傷害性データ、ドナー6

	CAR	BCMA+/BCMA-		モックトランスフェクト T細胞に対する比		細胞溶解	
		L363	MM1S	L363	MM1S	L363	MM1S
		ドナー 6	BC30_v3	25.51	18.43	0.24752108	0.17333946
	P5AC1_v2	30.27	23.81	0.29374647	0.22389502	70.6	77.6
	P5AC1_v3	40.35	22.37	0.39152336	0.21040098	60.8	79.0
	PC1_v3	21.57	15.50	0.2093085	0.14581122	79.1	85.4
	PC1C12_v2	22.76	17.32	0.22079514	0.1629089	77.9	83.7
	PC1C12_v3	62.13	46.62	0.60281513	0.4383953	39.7	56.2
	COM22_v3	46.49	29.07	0.45113441	0.27335977	54.9	72.7
	P6AP_v2	36.63	25.66	0.35539949	0.24131177	64.5	75.9
	P6AP_v3	56.96	31.45	0.55272006	0.29573955	44.7	70.4
	モックトランスフェクトT細胞	103.06	106.33	1	1	0.0	0.0

10

20

【 0 3 3 2 】

【表 1 9】

表 7C:細胞傷害性データ、ドナー7

	CAR	生存能(平均)			
		L363	K562	MM1S	K562
ドナー 7	モックトランスフェクトT細胞	92.53	92.80	90.70	92.33
	BC30_v3	46.00	90.40	34.00	89.83
	P5AC1_v2	50.50	90.73	35.17	89.40
	P5AC1_v3	60.20	89.97	43.03	89.53
	PC1_v3	49.43	89.67	37.33	88.97
	PC1C12_v2	40.23	88.50	22.53	87.53
	PC1C12_v3	81.03	91.30	71.70	89.83
	COM22_v3	67.87	90.00	52.97	89.20
	P6AP_v2	57.33	89.93	32.87	87.10
	P6AP_v3	66.37	91.60	46.35	94.00

30

40

【 0 3 3 3 】

【表 2 0】

表 7D:細胞傷害性データ、ドナー7

	CAR	BCMA+/BCMA-		モックトランスフェクト T細胞に対する比		細胞溶解	
		L363	MM1S	L363	MM1S	L363	MM1S
ドナー 7	モックトランスフェクトT細胞	99.71	98.23	1	1	0.0	0.0
	BC30_v3	50.88	37.85	0.51031598	0.38529434	49.0	61.5
	P5AC1_v2	55.66	39.34	0.55818001	0.40044688	44.2	60.0
	P5AC1_v3	66.91	48.06	0.67106507	0.48929577	32.9	51.1
	PC1_v3	55.13	41.96	0.55288988	0.4271896	44.7	57.3
	PC1C12_v2	45.46	25.74	0.45592406	0.26206149	54.4	73.8
	PC1C12_v3	88.76	79.81	0.89010798	0.81251777	11.0	18.7
	COM22_v3	75.41	59.38	0.7562472	0.60448985	24.4	39.6
	P6AP_v2	63.75	37.73	0.63934647	0.38413929	36.1	61.6
	P6AP_v3	72.45	49.31	0.7266149	0.50196463	27.3	49.8

10

20

【 0 3 3 4 】

【表 2 1】

表 7E:細胞傷害性データ、ドナー8

	CAR	生存能(平均)			
		L363	K562	MM1S	K562
ドナー 8	モックトランスフェクトT細胞	93.97	91.13	95.97	88.07
	BC30_v3	67.97	86.80	46.40	78.87
	P5AC1_v2	69.80	85.37	47.13	79.17
	P5AC1_v3	77.90	88.77	62.70	84.40
	PC1_v3	61.67	86.60	41.67	78.97
	PC1C12_v2	62.43	85.27	35.27	78.20
	PC1C12_v3	85.17	85.27	78.87	77.77
	COM22_v3	76.70	87.87	56.40	84.50
	P6AP_v2	77.23	84.90	61.47	83.47
	P6AP_v3	83.23	85.67	72.57	84.63
	細胞株	95.20	94.97	96.97	94.20

30

40

【 0 3 3 5 】

【表 2 2】

表 7F:細胞傷害性データ、ドナー8

	CAR	BCMA+/BCMA-		モックトランスフェクト T細胞に対する比		細胞溶解	
		L363	MM1S	L363	MM1S	L363	MM1S
ドナー 8	モックトランスフェクトT細胞	1.03	0.95	1	1	0.0	0.0
	BC30_v3	0.78	0.59	0.75941589	0.61953757	24.1	38.0
	P5AC1_v2	0.82	0.60	0.79299515	0.62694429	20.7	37.3
	P5AC1_v3	0.88	0.74	0.85112036	0.78229085	14.9	21.8
	PC1_v3	0.71	0.53	0.69061501	0.5556331	30.9	44.4
	PC1C12_v2	0.73	0.45	0.7101346	0.47489852	29.0	52.5
	PC1C12_v3	1.00	1.01	0.96871004	1.06793091	3.1	-6.8
	COM22_v3	0.87	0.67	0.84659295	0.70285469	15.3	29.7
	P6AP_v2	0.91	0.74	0.88226799	0.77547847	11.8	22.5
	P6AP_v3	0.97	0.86	0.94229927	0.9028984	5.8	9.7
	細胞株	1.00	1.03	0.97223038	1.08396365	2.8	-8.4

10

20

【 0 3 3 6】

【表 2 3】

表 7G:細胞傷害性データ、ドナー9

	CAR	生存能(平均)			
		L363	K562	MM1S	K562
ドナー 9	モックトランスフェクトT細胞	86.3	87.8	69.6	86.5
	BC30_v3	27.1	86.6	16.0	86.6
	P5AC1_v2	31.9	87.9	21.0	87.2
	P5AC1_v3	46.9	85.1	36.3	84.0
	PC1_v3	27.8	85.3	25.4	85.0
	PC1C12_v2	29.3	88.7	15.0	86.0
	COM22_v3	49.0	88.8	35.7	87.5
	P6AP_v2	41.4	85.7	22.8	84.0
	P6AP_v3	56.4	84.3	44.9	84.4
	細胞株	92.3	91.7	83.5	91.8

30

40

【 0 3 3 7】

【表 2 4】

表 7H:細胞傷害性データ、ドナー9

ドナー	CAR	BCMA+/BCMA-		モックトランスフェクト T細胞に対する比		細胞溶解	
		L363	MM1S	L363	MM1S	L363	MM1S
9	モック トランス フェクト T細胞	0.98216319	0.80469954	1	1	0	0
	BC30_v3	0.31331794	0.18444359	0.31900802	0.22920802	68.10	77.08
	P5AC1_v2	0.3631539	0.24111578	0.36974905	0.29963455	63.03	70.04
	P5AC1_v3	0.55133229	0.43231441	0.56134489	0.53723706	43.87	46.28
	PC1_v3	0.32551778	0.29831439	0.33142942	0.37071525	66.86	62.93
	PC1C12_v2	0.3298272	0.17473847	0.3358171	0.21714748	66.42	78.29
	COM22_v3	0.55159475	0.40746382	0.56161212	0.50635523	43.84	49.36
	P6AP_v2	0.48289269	0.27092424	0.49166238	0.33667751	50.83	66.33
	P6AP_v3	0.66903915	0.53199052	0.68118939	0.66110454	31.88	33.89
	細胞株	1.00690909	0.90889292	1.02519531	1.1294811	-2.52	-12.95

10

20

【 0 3 3 8 】

【表 2 5 - 1】

表 8A:IFN γ 産生(pg/mL)、ドナー6

ドナー6		
CAR		pg/ml
モックトランス フェクトT細胞	T細胞単独	155.1
BCMA_BC30_v3 (18)		654.71
P5AC1_v2		174.035
P5AC1_v3		61.215
PC1_v3		255.045
PC1C12_v2		481.595
PC1C12_v3		463.08
COM22_v3		2996.305
P6AP_v2		1294.055
P6AP_v3		500.435
モックトランス フェクトT細胞		T細胞 PMA IONO
BCMA_BC30_v3 (18)	49368.7	
P5AC1_v2	49102.7	
P5AC1_v3	66837.7	
PC1_v3	70798.2	
PC1C12_v2	56402.2	
PC1C12_v3	121954.7	
COM22_v3	125878.7	
P6AP_v2	73577.2	
P6AP_v3	51242.7	
モックトランス フェクトT細胞	T細胞 K562	
BCMA_BC30_v3 (18)		265.565
P5AC1_v2		-10.05
P5AC1_v3		36.475
PC1_v3		-74.04
PC1C12_v2		344.72
PC1C12_v3		583.99
COM22_v3		610.97
P6AP_v2		40.66
P6AP_v3		36.775

【 0 3 3 9 】

【表 2 5 - 2】

モックトランス フェクト T 細胞	T 細胞 MM1S	660.33	10
BCMA_BC30_v3 (18)		8004.42	
P5AC1_v2		5667.72	
P5AC1_v3		2619.735	
PC1_v3		6152.67	
PC1C12_v2		8526.27	
PC1C12_v3		1405.945	
COM22_v3		3330.27	
P6AP_v2		5436.27	
P6AP_v3		3881.115	
モックトランス フェクト T 細胞		T 細胞 L363	
BCMA_BC30_v3 (18)	6363.72		
P5AC1_v2	3116.725		
P5AC1_v3	2720.52		
PC1_v3	6661.97		
PC1C12_v2	9478.72		
PC1C12_v3	1707.885		
COM22_v3	2397.83		
P6AP_v2	5911.97		
P6AP_v3	3470.38		

【 0 3 4 0 】

【表 2 6 - 1】

表 8B: IFN γ 産生(pg/mL)、ドナー7

ドナー7		
CAR		pg/ml
モックトランス フェクトT細胞	T細胞単独	-3.1
BCMA_BC30_v3 (18)		64.1
P5AC1_v2		-18.0
P5AC1_v3		-73.0
PC1_v3		6.1
PC1C12_v2		156.5
PC1C12_v3		100.1
COM22_v3		182.9
P6AP_v2		564.7
P6AP_v3		107.0
モックトランス フェクトT細胞		T細胞 PMA IONO
BCMA_BC30_v3 (18)	32725.3	
P5AC1_v2	27476.6	
P5AC1_v3	13100.5	
PC1_v3	40824.4	
PC1C12_v2	39884.0	
PC1C12_v3	30245.2	
COM22_v3	62690.4	
P6AP_v2	69923.2	
P6AP_v3	88578.4	
モックトランス フェクトT細胞	T細胞 MM1S	
BCMA_BC30_v3 (18)		4662.6
P5AC1_v2		3420.3
P5AC1_v3		1173.7
PC1_v3		2478.5
PC1C12_v2		5314.6
PC1C12_v3		809.9
COM22_v3		1344.6
P6AP_v2		3020.3
P6AP_v3		2166.7

【 0 3 4 1 】

【表 2 6 - 2】

モックトランス フェクトT細胞	T細胞 L363	15.6	10
BCMA_BC30_v3 (18)		2360.2	
P5AC1_v2		2576.3	
P5AC1_v3		582.7	
PC1_v3		1723.3	
PC1C12_v2		2962.9	
PC1C12_v3		136.6	
COM22_v3		467.4	
P6AP_v2		2081.4	
P6AP_v3		1119.0	
モックトランス フェクトT細胞		T細胞 K562	
BCMA_BC30_v3 (18)	-127.2		
P5AC1_v2	-124.4		
P5AC1_v3	-47.9		
PC1_v3	-93.6		
PC1C12_v2	21.8		
PC1C12_v3	-55.4		
COM22_v3	-36.1		
P6AP_v2	83.8		
P6AP_v3	83.8		
モックトランス フェクトT細胞	T細胞 ダウディ		335.1
BCMA_BC30_v3 (18)		7794.8	
P5AC1_v2		8093.7	
P5AC1_v3		3870.6	
PC1_v3		6068.9	
PC1C12_v2		10190.2	
PC1C12_v3		1638.8	
COM22_v3		4287.6	
P6AP_v2		6971.6	
P6AP_v3		5280.0	

【 0 3 4 2 】

【表 27 - 1】

表 8C:IFN- γ 産生(pg/mL)、ドナー8

ドナー8		
CAR		pg/ml
モックトランス フェクトT細胞	T細胞単独	-697.44
BCMA_BC30_v3 (18)		-660.92
P5AC1_v2		-603.38
P5AC1_v3		-543.44
PC1_v3		-552.22
PC1C12_v2		-399.26
PC1C12_v3		-652.73
COM22_v3		-530.09
P6AP_v2		17.24
P6AP_v3		-289.82
モックトランス フェクトT細胞		T細胞 PMA IONO
BCMA_BC30_v3 (18)	53311.73	
P5AC1_v2	57732.14	
P5AC1_v3	52577.56	
PC1_v3	48925.48	
PC1C12_v2	38310.06	
PC1C12_v3	71881.73	
COM22_v3	61941.73	
P6AP_v2	82339.64	
P6AP_v3	63337.14	
モックトランス フェクトT細胞	T細胞 MM1S	
BCMA_BC30_v3 (18)		2976.34
P5AC1_v2		2727.71
P5AC1_v3		769.05
PC1_v3		2682.98
PC1C12_v2		5019.05
PC1C12_v3		-198.04
COM22_v3		1155.19
P6AP_v2		2945.65
P6AP_v3		671.21

【 0 3 4 3 】

【表 27 - 2】

モックトランス フェクト T 細胞	T 細胞 L363	-664.74	10
BCMA_BC30_v3 (18)		2934.77	
P5AC1_v2		2342.50	
P5AC1_v3		579.85	
PC1_v3		2232.65	
PC1C12_v2		3676.59	
PC1C12_v3		-303.86	
COM22_v3		695.72	
P6AP_v2		1612.74	
P6AP_v3		311.07	
モックトランス フェクト T 細胞		T 細胞 K562	
BCMA_BC30_v3 (18)	-583.71		
P5AC1_v2	-631.02		
P5AC1_v3	-650.83		
PC1_v3	-615.50		
PC1C12_v2	-501.18		
PC1C12_v3	-615.17		
COM22_v3	-596.02		
P6AP_v2	-393.94		
P6AP_v3	-476.71		

【 0 3 4 4 】

【表 2 8 - 1】

表 8D:IFN- γ 産生(pg/mL)、ドナー9

ドナー9		
CAR		pg/ml
モックトランスフェクトT細胞	T細胞単独	93.2
BCMA_BC30_v3 (18)		1225.2
P5AC1_v2		1344.5
P5AC1_v3		632.3
PC1_v3		2745.7
PC1C12_v2		48.1
COM22_v3		2656.5
P6AP_v2		566.5
P6AP_v3		-335.8
モックトランスフェクトT細胞		T細胞 PMA IONO
BCMA_BC30_v3 (18)	12312.2	
P5AC1_v2	10607.5	
P5AC1_v3	12014.7	
PC1_v3	12829.9	
PC1C12_v2	13829.5	
COM22_v3	13489.5	
P6AP_v2	13182.1	
P6AP_v3	13506.3	
モックトランスフェクトT細胞	T細胞 MM1S	
BCMA_BC30_v3 (18)		2376.8
P5AC1_v2		-359.5
P5AC1_v3		97.8
PC1_v3		290.1
PC1C12_v2		752.7
COM22_v3		-601.0
P6AP_v2		-304.1
P6AP_v3		-394.9
モックトランスフェクトT細胞		T細胞 L363
BCMA_BC30_v3 (18)	3000.2	
P5AC1_v2	2314.0	
P5AC1_v3	1646.4	
PC1_v3	-15.4	
PC1C12_v2	2796.5	
COM22_v3	320.6	
P6AP_v2	-163.0	
P6AP_v3	-233.9	

【表 2 8 - 2】

モックトランスフェクト T 細胞	T 細胞 K562	-227.9
BCMA_BC30_v3 (18)		2027.5
P5AC1_v2		3928.4
P5AC1_v3		300.2
PC1_v3		74.9
PC1C12_v2		1835.7
COM22_v3		45.0
P6AP_v2		51.4
P6AP_v3		158.3

【 0 3 4 6 】

【表 29 - 1】

表 9A:脱顆粒アッセイ結果、ドナー10

ドナー10		MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
LT 単独	モックトランスフェクトT細胞	82.2	1.95	10
	26859 P5AC1-V2	83.8	1.47	
	26868 PC1C12-V2	94.2	3.21	
	26871 COM22-V2	107	5.96	
PMA Iono	モックトランスフェクトT細胞	5933	99	20
	26859 P5AC1-V2	5863	99	
	26868 PC1C12-V2	6366	99.4	
	26871 COM22-V2	6149	99	
MM1S	モックトランスフェクトT細胞	211	16.5	30
	26859 P5AC1-V2	1377	74.4	
	26868 PC1C12-V2	1760	79.1	
	26871 COM22-V2	1470	76.5	
H929	モックトランスフェクトT細胞	141	6.09	40
	26859 P5AC1-V2	1026	65.4	
	26868 PC1C12-V2	1262	71.1	
	26871 COM22-V2	784	59.2	
L363	モックトランスフェクトT細胞	153	6.48	40
	26859 P5AC1-V2	793	60.1	
	26868 PC1C12-V2	1054	67.3	
	26871 COM22-V2	827	61.7	

【表 2 9 - 2】

MM1S GFP LUC	モックトラン スフェクト T 細胞	187	9.88
	26859 P5AC1- V2	1228	70.5
	26868 PC1C12- V2	1476	74.9
	26871 COM22- V2	1095	68.5
H929 GFP LUC	モックトラン スフェクト T 細胞	153	9.48
	26859 P5AC1- V2	1648	77.8
	26868 PC1C12- V2	1960	84
	26871 COM22- V2	1029	69.4
L363 GFP LUC	モックトラン スフェクト T 細胞	104	3.06
	26859 P5AC1- V2	753	60.7
	26868 PC1C12- V2	873	64.6
	26871 COM22- V2	766	61.1
KMS12BM GFP LUC	モックトラン スフェクト T 細胞	91.3	2.67
	26859 P5AC1- V2	945	67.2
	26868 PC1C12- V2	1192	71.2
	26871 COM22- V2	961	67.2
K562	モックトラン スフェクト T 細胞	127	6.06
	26859 P5AC1- V2	136	9.1
	26868 PC1C12- V2	119	9.49
	26871 COM22- V2	135	9.55

10

20

30

40

【 0 3 4 8 】

【表 30 - 1】

表 9B:脱顆粒アッセイ結果、ドナー11

ドナー11		MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)
LT 単独	モックトランスフェクト T細胞	69.9	0.57
	26859 P5AC1-V2	68.3	0.62
	26868 PC1C12-V2	67.2	0.88
	26871 COM22-V2	80.9	3.95
PMA Iono	モックトランスフェクト T細胞	5511	91.7
	26859 P5AC1-V2	5360	97.4
	26868 PC1C12-V2	4741	96.1
	26871 COM22-V2	5066	95.7
KMS12BM GFP LUC	モックトランスフェクト T細胞	77.8	1.81
	26859 P5AC1-V2	1304	68.3
	26868 PC1C12-V2	650	45.5
	26871 COM22-V2	986	62.5
H929 GFP LUC	モックトランスフェクト T細胞	73	1.04
	26859 P5AC1-V2	738	49.6
	26868 PC1C12-V2	428	30.9
	26871 COM22-V2	468	35.5
MM1S	モックトランスフェクト T細胞	121	2.67
	26859 P5AC1-V2	854	52
	26868 PC1C12-V2	399	26.4
	26871 COM22-V2	486	33.4

10

20

30

40

【表 3 0 - 2】

K562	モックトランスフェクト T細胞	125	3.08
	26859 P5AC1- V2	140	3.35
	26868 PC1C12- V2	123	1.84
	26871 COM22- V2	161	4.11

【 0 3 5 0 】

【表 3 1 - 1】

表 9C:脱顆粒アッセイ結果、ドナー12

ドナー11		MFI CD107a+	% CD107a+ (CD8+中)	
LT 単独	モックトラン スフェクト T細胞	69.9	0.57	10
	26859 P5AC1- V2	68.3	0.62	
	26868 PC1C12- V2	67.2	0.88	
	26871 COM22- V2	80.9	3.95	
PMA Iono	モックトラン スフェクト T細胞	5511	91.7	20
	26859 P5AC1- V2	5360	97.4	
	26868 PC1C12- V2	4741	96.1	
	26871 COM22- V2	5066	95.7	
KMS12BM GFP LUC	モックトラン スフェクト T細胞	77.8	1.81	30
	26859 P5AC1- V2	1304	68.3	
	26868 PC1C12- V2	650	45.5	
	26871 COM22- V2	986	62.5	
H929 GFP LUC	モックトラン スフェクト T細胞	73	1.04	40
	26859 P5AC1- V2	738	49.6	
	26868 PC1C12- V2	428	30.9	
	26871 COM22- V2	468	35.5	
MM1S	モックトラン スフェクト T細胞	121	2.67	40
	26859 P5AC1- V2	854	52	
	26868 PC1C12- V2	399	26.4	
	26871 COM22- V2	486	33.4	

【表 3 1 - 2】

K562	モックトランスフェクト T細胞	125	3.08
	26859 P5AC1-V2	140	3.35
	26868 PC1C12-V2	123	1.84
	26871 COM22-V2	161	4.11

【 0 3 5 2 】

【表 3 2 - 1】

表 10: IFN ガンマ放出アッセイ結果、ドナー10

ドナー10		
モックトランスフェクト T 細胞	T 細胞 単独	871.8 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		1466.2 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		1172.2 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		1873.1 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	MM1S LucGFP	1436.5 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		12208.4 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		13695.3 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		10784.1 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	MM1S	5329.0 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		6060.3 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		6776.1 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		7827.0 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	H929 LucGFP	754.2 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		16589.9 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		15989.7 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		14410.4 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	H929	809.8 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		18072.7 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		17948.1 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		14437.3 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	L363 LucGFP	1184.5 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		11556.9 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		13254.5 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		11384.1 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	L363	1777.3 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		15685.1 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		14929.1 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		14995.7 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	L363 LucGFP	1184.5 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		11556.9 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		13254.5 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		11384.1 pg/mL
モックトランスフェクト T 細胞	KMS12BM LucGFP	1283.2 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		9073.3 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		10060.6 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		10687.2 pg/mL

10

20

30

40

【表 3 2 - 2】

モックトランスフェクト T 細胞	K562	691.6 pg/mL
pCLS26859 CAR_BCMA_P5AC1_v2		684.1 pg/mL
pCLS26868 CAR_BCMA_PC1C12_v2		904.2 pg/mL
pCLS26871 CAR_BCMA_COM22_v2		969.0 pg/mL

【 0 3 5 4 】

(実施例 3)

BCMA 特異的 CAR - T 細胞は、MM1 . S 腫瘍モデルにおいて腫瘍退縮を誘導する
本実施例は、MM1 . S 腫瘍モデルを使用して BCMA 特異的 CAR - T 細胞を用いた腫瘍の処置を例示する。

10

【 0 3 5 5 】

BCMA 特異的 CAR - T 細胞の *in vivo* 効力スタディを、ルシフェラーゼおよび GFP を発現する MM1 . S 正所性モデルを用いて実施した。500 万個の MM1 . S Luc2 AGFP 細胞を、生後 6 ~ 8 週の雌 Nod / Scid / IL2Rg - / - (NSG) 動物中に尾静脈を通じて静脈内注射した。D - ルシフェリン (Regis Technologies, Morton Grove, IL) を腹腔内注射し (15 mg / mL で動物 1 匹当たり 200 μ L)、その後イソフルオランで麻酔し、引き続いて全身生物発光イメージング (BLI) を行って、全身腫瘍組織量のモニタリングを可能にする。腫瘍細胞によって発現されるルシフェラーゼとルシフェリンとの相互作用によって放出される生物発光シグナルを、IVIS Spectrum CT (Perkin Elmer, MA) を使用してイメージングによって捕捉し、Living Image 4.4 (Caliper Life Sciences, Alameda, CA) を使用してトータルフラックス (光子 / 秒) として定量化した。

20

【 0 3 5 6 】

3 種の異なる BCMA 特異的 CAR - T 細胞を本スタディで使用した。T 細胞は、BCMA 特異的 CAR 構築物 P5AC1 - V2、PC1C12 - V2、または COM22 - V2 を発現する (上記表 5 を参照)。非形質導入対照 T 細胞を陰性対照として使用した。すべての T 細胞を TCR 欠損であるように操作した。

30

【 0 3 5 7 】

トータルフラックスがすべての動物について 45 E 6 の平均に到達したとき (腫瘍インプラント後 20 日目)、動物を 4 つの群にランダム化した。単回用量のヒト BCMA 特異的 CAR - T 細胞または非形質導入対照 T 細胞をボラス尾静脈注射によって投与した。動物が後肢麻痺または 20 % の体重の減少、MM1 . S 正所性モデルのエンドポイントを呈したとき、動物を殺した。

【 0 3 5 8 】

本スタディの結果を図 1 に要約する。図 1 では、トータルフラックス [p / s] が腫瘍進行を表す。BCMA 特異的 CAR - T 細胞 (三角形、菱形、正方形) での処置は、陰性対照 (円) と比較してより低いトータルフラックスをもたらした。よって、BCMA 特異的 CAR - T 細胞での処置は、陰性対照と比較して腫瘍進行を阻害した。

40

【 0 3 5 9 】

これらの結果は、BCMA 特異的 CAR - T 細胞が腫瘍退縮を誘導するのに有効であることを実証する。

【 0 3 6 0 】

(実施例 4)

BCMA 特異的 CAR - T 細胞での多発性骨髄腫の処置

本実施例は、Molp8 正所性モデルを使用して BCMA 特異的 CAR - T 細胞を用いた多発性骨髄腫の処置を例示する。

50

【0361】

BCMA特異的CAR-T細胞の*in vivo*効力スタディを、ルシフェラーゼおよびGFPを発現するMolp8正所性モデルを用いて実施した。200万個のMolp8Luc2AGFP細胞を、生後6~8週の雌NSG動物中に尾静脈を通じて静脈内注射した。D-ルシフェリン(Regis Technologies, Morton Grove, IL)を腹腔内注射し(15mg/mLで動物1匹当たり200 μ L)、その後イソフルオランで麻酔し、引き続いて全身生物発光イメージング(BLI)を行って、全身腫瘍組織量のモニタリングを可能にする。腫瘍細胞によって発現されるルシフェラーゼとルシフェリンとの相互作用によって放出される生物発光シグナルを、IVIS Spectrum CT(Perkin Elmer, MA)を使用してイメージングによって捕捉し、Living Image 4.4(Caliper Life Sciences, Alameda, CA)を使用してトータルフラックス(光子/秒)として定量化した。

10

【0362】

トータルフラックスがすべての動物について30E6の平均に到達したとき(腫瘍インプラント後8日目)、動物を3つの群にランダム化した。各群に、以下の細胞:1)対照として使用した非形質導入T細胞TCR KO(「TCR KO」)、2)P5AC1-V2.1を発現するBCMA特異的CAR-T細胞(「P5AC1 V2 R2 TCR KO」)、または3)P5AC1-V2およびRQR8自殺ポリペプチドを発現するBCMA特異的CAR-T細胞(「P5AC1 V2 RQR8 TCR KO」)のうち1種を投与した。細胞1~3のすべては、TCR欠損である。BCMA特異的CAR-T細胞を上記実施例で記載したように調製した。BCMA特異的CAR構築物P5AC1-V2.1およびP5AC1-V2は、上記表5に示されている。単回用量の300万個の対照(TCR KO)またはBCMA特異的CAR-T(P5AC1 V2 R2 TCR KOもしくはP5AC1 V2 RQR8 TCR KO)細胞をボラス尾静脈注射によって投与した。動物が、Molp8正所性モデルのエンドポイントである、全身体重の15%超を失ったとき、動物を殺した。

20

【0363】

スタディからの結果を図2に要約する。単回用量の300万個のP5AC1 R2 TCR KO BCMA特異的CAR-T細胞(正方形)またはP5AC1 RQR8 TCR KO CAR-T細胞(三角形)BCMA特異的CAR-T細胞は、陰性対照(円)と比較して、腫瘍インプラント後10~35日目により低いトータルフラックスをもたらした(図2)。よって、BCMA特異的CAR-T細胞での処置は、陰性対照と比較して腫瘍進行を阻害した。

30

【0364】

これらの結果は、BCMA特異的CAR-T細胞が腫瘍進行を阻害するのに有効であることを実証する。

【0365】

(実施例5)

BCMA特異的CAR-T細胞を用いた多発性骨髄腫の処置

40

本実施例は、多発性骨髄腫の正所性マウスモデルにおけるBCMA特異的CAR-T細胞の治療活性を例示する。

【0366】

2つのヒト化マウスモデルを使用して、BCMAを発現するヒト骨髄腫細胞株に対するBCMA特異的CAR-T細胞の効力を評価した。生後六(6)~八(8)週の雌Nod/Scid IL2rg-/- (NSG)マウスをJackson Laboratoriesから購入した。すべての動物をRinatにおける病原体のない動物施設設備に收容し、実験を施設内動物管理使用委員会(IACUC)指針に従うプロトコールに従って行った。

【0367】

50

MM1.SおよびMolp-8細胞株を、アメリカンタイプカルチャーコレクション(ATCC.org)およびDeutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH(DSMZ.de)から購入した。細胞株を、レンチウイルス粒子(amsbio)を使用してLuc-GFP融合タンパク質を発現するように操作した。細胞を、MM1.Sについて10%ウシ胎児血清、またはMolp-8細胞について20% FCSを補充したL-グルタミンを含むRPMI 1640培地中で、5%二酸化炭素(CO₂)中37℃で培養した。指数増殖期中に増殖する細胞を収穫し、腫瘍接種に使用した。

【0368】

治療的BCMA特異的CAR-T細胞を記載したように生成した。健康ヒトドナー細胞、末梢血単核細胞(PBMC)、または精製汎T細胞を、EF-1aプロモーターによって推進されるBCMA特異的CARおよびRQR8をコードするレンチウイルス粒子で活性化および形質導入する。3種の異なるBCMA特異的CARを本スタディで使用した：P5AC1-V2、PC1C12-V2、およびCOM22-V2(上記表5を参照)。T細胞をTCR遺伝子の欠失のために遺伝子編集した。細胞を14~17日間培養し、次いで90% FCS/10% DMSO中で凍結保存した。T細胞注射のために、T細胞を37℃の水浴中で急速解凍し、25mM HEPESを含有するRPMI 1640培地で2回洗浄した。細胞を、25mM HEPESを含むRPMI 1640 0.2mlで、担腫瘍動物の尾静脈内に注射した。

【0369】

NSGマウスに、腫瘍細胞接種の1日前に1Gy全身照射(RAD Source Technologies)を照射した。5×10⁶個のMM1.S/Luc2-EGFP細胞または2×10⁶個のMolp-8/Luc2-EGFP細胞をリン酸緩衝溶液(PBS)0.1mlで尾静脈内に注射した。全身腫瘍組織量を、生物発光イメージングを使用して毎週2回測定した。マウスに、PBS 0.2ml中に溶解したD-ルシフェリン3μgを注射し、イソフルランを使用して麻酔した。注射の7分後に、動物を、Perkin Elmer IVISスペクトルカメラシステムを使用してイメージングした。マウスの尾を除いて全身ルミネセンスを測定し、全身腫瘍組織量をトータルフラックス(1秒当たりの光子)として報告する。腫瘍を指数関数的増殖が起こるまで確立させた。動物を、トータルフラックスに基づいて処置群にランダム化し、同じドナー由来のBCMA特異的CAR-T細胞または未形質導入対照T細胞で処置した。CAR-T処置の効果を、生物発光イメージングおよび体重測定を使用して毎週2回査定した。スタディエンドポイントは、最初の動物が、体重減少(初期体重の20%超)、後肢麻痺、または動物の苦痛の他の徴候によって示される末期疾患を呈したとき到達した。統計分析は、Graph Pad Prism6を使用して実施した。チューキーの補正を伴った反復測定一元配置ANOVAを使用してすべての群間の抗腫瘍効力を比較した。P<0.05を有意と見なした。

【0370】

結果を以下の表11(MM1.S)および表12(Molp-8)に要約する(1秒当たりの光子でのトータルフラックスのlog₁₀値+/-SEM)。準最適なCAR-T細胞用量を使用して異なるscFvを有するBCMA特異的CAR-T細胞を比較した。BCMA特異的CAR-T細胞群は、P5AC1-V2、PC1C12-V2、およびCOM22-V2である(上記表5を参照)。MM1.Sモデルでは、3.5×10⁶個のCAR発現T細胞を腫瘍インプラント後17日目に注射した。Molp8モデルでは、4×10⁶個のCAR発現T細胞を腫瘍インプラント後7日目に注射した。形質導入効率は、MM1.Sマウスモデルで投薬したBCMA特異的CAR-T細胞について19%~29%、およびMolp8マウスモデルで投薬したBCMA特異的CAR-T細胞について31%~36%の範囲であった。等価な総用量の未形質導入T細胞を対照群に使用した。対照T細胞処置群は、スタディエンドポイントに、MM1.Sについて35日目およびMolp8について23日目に到達するまで進行性腫瘍増殖を呈した。

ダネットの補正を伴ったRM-ANOVA検定を使用する全身腫瘍組織量の統計分析は、3つすべてのBCMA特異的CAR-T処置群において、全身腫瘍組織量が対照群における全身腫瘍組織量と比較して有意に低かったことを示した($p < 0.01$) (表11および12)。例えば、MM1.S腫瘍モデルでは、P5AC1-V2 BCMA特異的CAR-T細胞で処置した動物における平均トータルフラックスは、対照T細胞を与えた動物における $9.22 \log_{10}$ 光子/秒と比較して、25日目に $6.44 \log_{10}$ 光子/秒であった(表11)。腫瘍インプラント後35日目において、P5AC1-V2 BCMA特異的CAR-T細胞で処置した動物における平均トータルフラックスは、対照T細胞を与えた動物における $10.18 \log_{10}$ 光子/秒と比較して、 $6.82 \log_{10}$ 光子/秒であった(表11)。Molp8腫瘍モデルでは、P5AC1-V2 BCMA特異的CAR-T細胞で処置した動物における平均トータルフラックスは、対照T細胞を与えた動物における $9.39 \log_{10}$ 光子/秒と比較して、14日目に $7.88 \log_{10}$ 光子/秒であった(表12)。腫瘍インプラント後23日目において、P5AC1-V2 BCMA特異的CAR-T細胞で処置した動物における平均トータルフラックスは、対照T細胞を与えた動物における $10.37 \log_{10}$ 光子/秒と比較して、 $9.29 \log_{10}$ 光子/秒であった(表12)。

10

【0371】

これらの結果は、BCMA特異的CAR-T細胞での処置が、腫瘍退縮を誘導するのに有効であることを実証する。

【0372】

20

【表 3 3】

表 11:正所性 MM1.S 腫瘍モデルの腫瘍生物発光測定

群 1:対照 T 細胞			
腫瘍インプランテーション後の日数	平均トータルフラックス(log10 光子/秒)	SEM	N
17	7.84	0.04	10
21	8.16	0.19	10
25	9.22	0.02	10
28	9.53	0.02	10
32	9.96	0.05	10
35	10.18	0.07	10
群 2:P5AC1-V2 BCMA 特異的 CAR-T 細胞			
腫瘍インプランテーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
17	7.84	0.03	10
21	8.14	0.11	10
25	6.44	0.16	10
28	6.51	0.09	10
32	6.72	0.10	10
35	6.82	0.09	10
群 3:PC1C12-V2 BCMA 特異的 CAR-T 細胞			
腫瘍インプランテーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
17	7.86	0.04	10
21	8.56	0.15	10
25	6.85	0.26	10
28	6.41	0.30	10
32	6.64	0.29	10
35	6.62	0.30	10
群 4:COM22-V2 BCMA 特異的 CAR-T 細胞			
腫瘍インプランテーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
17	7.84	0.04	10
21	8.49	0.10	10
25	6.55	0.08	10
28	6.40	0.09	10
32	6.98	0.14	10
35	6.87	0.22	10

【 0 3 7 3 】

10

20

30

40

【表 3 4 - 1】

表 12: 正所性 Molp-8 腫瘍モデルの腫瘍生物発光測定

群 1:T 細胞のみの対照			
腫瘍インプラントーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	5.80	0.02	10
7	7.48	0.04	10
10	8.24	0.06	10
14	9.39	0.04	10
17	9.88	0.03	10
21	10.12	0.04	10
23	10.37	0.03	10

10

群 2:P5AC1-V2 BCMA 特異的 CAR-T 細胞			
腫瘍インプラントーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	5.80	0.02	10
7	7.48	0.04	10
10	8.41	0.05	10
14	7.88	0.18	10
17	7.39	0.21	10
21	7.98	0.12	10
23	8.29	0.11	10

20

群 3:PC1C12-V2 BCMA 特異的 CAR-T 細胞			
腫瘍インプラントーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	5.80	0.02	10
7	7.51	0.04	10
10	8.31	0.07	10
14	7.07	0.21	10
17	6.51	0.15	10
21	7.37	0.13	10
23	7.75	0.13	10

30

【 0 3 7 4 】

40

【表 3 4 - 2】

群 4:COM22-V2 BCMA 特異的 CAR-T 細胞			
腫瘍インプラネーション後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	5.80	0.02	10
7	7.49	0.04	10
10	8.39	0.07	10
14	7.78	0.16	10
17	7.51	0.21	10
21	7.89	0.17	10
23	8.32	0.14	10

10

【 0 3 7 5 】

(実施例 6)

TCR / dCK ノックアウト BCMA 特異的 CAR - T 細胞を用いた多発性骨髄腫の処置

本実施例は、多発性骨髄腫の正所性マウスモデルにおける BCMA 特異的 CAR - T 細胞の治療活性を例示する。

【 0 3 7 6 】

ヒト化マウスモデルを使用して、BCMA を発現するヒト骨髄腫細胞株に対する BCMA CAR - T 細胞の効力を評価した。生後 6 ~ 8 週の雌 Nod / Scid IL2rg - / - (NSG) マウスを Jackson Laboratories から購入した。すべての動物を Rina t における病原体のない動物施設設備に収容し、実験を施設内動物管理使用委員会 (IACUC) 指針に従うプロトコールに従って行った。

20

【 0 3 7 7 】

MM1.S 細胞株は、アメリカンタイプカルチャーコレクション (ATCC.org) から購入した。細胞株を、レンチウイルス粒子 (amsbio) を使用して Luc - GFP 融合タンパク質を発現するように操作し、TALEN ヌクレアーゼを使用して遺伝子編集して、デオキシシチジン (dCK) 遺伝子を無効にした。細胞を、10% ウシ胎児血清を補充した L - グルタミンを含む RPMI 1640 培地中で、5% 二酸化炭素 (CO₂) 中 37 °C で培養した。指数増殖期中に増殖する細胞を収穫し、腫瘍接種に使用した。

30

【 0 3 7 8 】

治療的 CAR - T 細胞を上述した通り生成した。健康ヒトドナー細胞、末梢血単核細胞 (PBMC)、または精製 T 細胞を、EF - 1a プロモーターの制御下で RQR8 遺伝子とともに BCMA scFV、CD8 ヒンジ、CD8 膜貫通型、41BB、および CD3 をコードするレンチウイルス粒子で活性化および形質導入する。BCMA 特異的 CAR - T 細胞を、TCR および dCK TALEN の組合せ、または TCR TALEN 単独を使用して、TCR および / または dCK 遺伝子を欠失させるように遺伝子編集した。すべての T 細胞の形質導入効率は、70% であった。TCR ノックアウト T 細胞を、CD3 - 陽性細胞の磁気選択キット (Miltenyi) を使用して精製し、dCK ノックアウト T 細胞を、0.5 μM クロファラビンの存在下でのエクспанションによって精製した。細胞を 14 ~ 17 日間培養し、次いで 90% FCS / 10% DMSO 中で凍結保存した。T 細胞注射のために、T 細胞を 37 °C の水浴中で急速解凍し、25 mM HEPES を含有する RPMI 1640 培地で 2 回洗浄した。処置のために、T 細胞を、25 mM HEPES を含む RPMI 1640 0.2 ml で、担腫瘍動物の尾静脈内に注射した。

40

【 0 3 7 9 】

マウス腫瘍モデルについて、動物に MM1.S / dCK KO 腫瘍細胞を注射した。次いでマウスを、腫瘍細胞インプラネーション後 18 日目に、2.5 × 10⁶ 個の BCMA

50

A特異的CAR-T細胞で処置した。TCR およびdCK TALENを受けた等価な用量の未形質導入T細胞を対照として使用した。動物を、T細胞注射後5日間、クロファラビンまたはビヒクルで処置した。

【0380】

結果：対照T細胞処置群は、スタディエンドポイントに、35日目に到達するまで進行性腫瘍増殖を呈した（表13、群1）。対照と比較して、TCR ノックアウトBCMA特異的CAR-T細胞およびビヒクルで処置した群は、クロファラビンを同時投与（ $p < 0.05$ ）すると減少した全身腫瘍組織量の有意な低下を呈した（ $p < 0.05$ ）（表13、群2および3）。全身腫瘍組織量は、動物がビヒクルまたはクロファラビンを受けたかに関係なく、TCR /dCKダブルノックアウトCAR-T細胞で処置した動物において有意に低減された（ $p < 0.05$ ）（表13、群4および5）。TCR /dCKダブルノックアウトT細胞を受けている群における全身腫瘍組織量の低減は、TCR シングルノックアウトT細胞およびビヒクルを受けている群と異ならなかった（ $p > 0.1$ ）（表13、群2、4、および5）。

10

【0381】

これらの結果は、TCR /dCKダブルノックアウトBCMA CAR-T細胞での処置が、フルダラビンおよびクロファラビンなどのヌクレオシド類似体療法の存在下で腫瘍退縮を誘導するのに有効であることを実証する。

【0382】

【表 3 5 - 1】

表 13: ヌクレオシド類似体療法耐性正所性 MM1.S 腫瘍モデルの腫瘍生物発光測定

群 1:TCR α /dCK KO 対照 T 細胞+クロファラビン			
T 細胞投与後の日数	平均トータルフラックス(log10 光子/秒)	SEM	N
0	7.87	0.04	10
4	8.94	0.08	10
8	9.22	0.05	10
11	9.52	0.04	10
15	10.00	0.04	10
18	10.38	0.04	10
群 2:TCR α KO BCMA 特異的 CAR-T 細胞+ビヒクル			
T 細胞投与後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	7.86	0.04	10
4	9.28	0.07	10
8	8.58	0.12	10
11	8.04	0.14	10
15	8.14	0.15	10
18	8.24	0.15	10
群 3:TCR α KO BCMA 特異的 CAR-T 細胞+クロファラビン			
T 細胞投与後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	7.87	0.04	10
4	9.33	0.07	10
8	9.17	0.07	10
11	8.95	0.14	10
15	9.36	0.08	10
18	9.50	0.07	10
群 4:TCR α /dCK KO BCMA 特異的 CAR-T 細胞+ビヒクル			
T 細胞投与後の日数	平均トータルフラックス(log10)	SEM	N
0	7.86	0.04	10
4	9.19	0.08	10
8	9.08	0.12	10
11	8.59	0.18	10
15	8.60	0.21	10
18	8.69	0.18	10

【 0 3 8 3 】

10

20

30

40

【表 3 5 - 2】

群 5:TCR α /dCK KO BCMA 特異的 CAR-T 細胞+クロファラビン			
T 細胞投与後の日数	平均トータル フラックス(log10)	SEM	N
0	7.87	0.04	10
4	9.26	0.09	10
8	9.07	0.10	10
11	8.51	0.14	10
15	8.42	0.21	10
18	8.49	0.18	10

10

【 0 3 8 4 】

開示した教示を、様々な用途、方法、キット、および組成物を参照して記載してきたが、様々な変更および改変を、本明細書の教示および以下の請求項に係る発明から逸脱することなく行うことができることが理解されるであろう。上記の実施例は、開示した教示をより良好に例示するために提供されており、本明細書に提示した教示の範囲を限定するように意図されていない。本教示をこれらの例示的な実施形態の観点から記載してきたが、当業者は、これらの例示的な実施形態の多数の変形および改変が過度の実験を用いることなく可能であることを容易に理解するであろう。すべてのこのような変形および改変は、本教示の範囲内である。

20

【 0 3 8 5 】

特許、特許出願、論文、教科書などを含めた本明細書に引用されたすべての参考文献、およびこれらに引用された参考文献は、これらが既に組み込まれていない程度に、その全体が参照により本明細書に組み込まれている。それだけに限らないが、定義された用語、用語使用法、記載した技法などを含めて、組み込まれた文献および同様の資料の1つまたは複数本願と異なり、または矛盾する事象では、本願が支配する。

【 0 3 8 6 】

上記の記載および実施例は、本発明のある特定の具体的な実施形態を詳述し、本発明者が企図したベストモードを記載する。しかし、どんなに詳述される上記事項がテキストに現れることがあっても、本発明は、多くのやり方で実施することができ、本発明は、添付の特許請求の範囲およびこれらの任意の均等物に従って解釈されるべきであることが理解されるであろう。

30

【 図 1 】

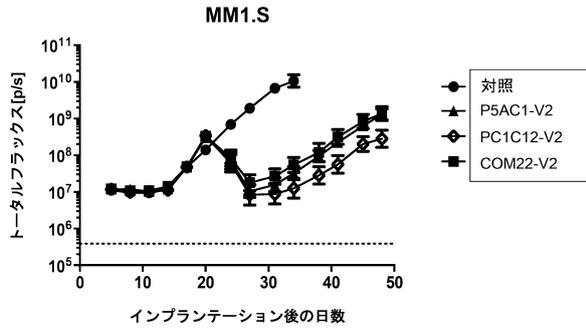


図 1

【 図 2 】

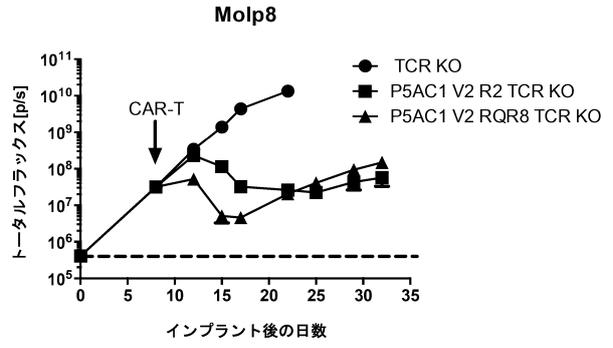


図 2

【 配列表 】

0006921001000001.app

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
A 6 1 K	35/17 (2015.01)	A 6 1 K	35/17 Z
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02
C 1 2 N	5/0783 (2010.01)	C 1 2 N	5/0783

(31)優先権主張番号 62/301,177

(32)優先日 平成28年2月29日(2016.2.29)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

- (72)発明者 トレーシー チャ-チェン クオ
アメリカ合衆国 9 4 4 0 1 カリフォルニア州 サン・マテオ市 9ス・アヴェニュー 2 2 5
3 0 7
- (72)発明者 ハビエル フェルナンド チャパロ リガース
アメリカ合衆国 9 4 4 0 1 カリフォルニア州 サン・マテオ市 ペニンシュラ・アヴェニュー
9 0 4
- (72)発明者 バーバラ ジョンソン サス
アメリカ合衆国 9 4 1 1 0 カリフォルニア州 サンフランシスコ市 ブライアント・ストリー
ト 2 1 2 5 # 3 1 6
- (72)発明者 ロマン ギャレット
フランス国 7 5 0 1 4 パリ リュ・エルネスト・クレソン 1 2
- (72)発明者 ビージャン アンドレ ボルダジプール
アメリカ合衆国 9 4 1 1 4 カリフォルニア州 サンフランシスコ市 1 4 ス・ストリート 8
6 0 アパートメント 3
- (72)発明者 シーザー アドルフォ ゾンマー
アメリカ合衆国 9 4 4 0 1 カリフォルニア州 サン・マテオ市 ノース・エル・カミノ・リア
ル 1 5 5 アパートメント# 3 1
- (72)発明者 トーマス ジョン ヴァン ブラーコム
アメリカ合衆国 9 4 6 1 1 カリフォルニア州 オークランド市 チェルトン・ドライブ 6 4
1 5
- (72)発明者 トーマス チャールズ ペーテル
アメリカ合衆国 9 4 4 0 2 カリフォルニア州 サン・マテオ市 クリークリッジ・コート 2
9
- (72)発明者 アーヴィンド ラジュバル
アメリカ合衆国 9 4 1 2 7 カリフォルニア州 サンフランシスコ市 フォースター・ストリー
ト 5 1 9
- (72)発明者 フィリップ デュシャトー
フランス国 9 1 2 1 0 ドラヴェユイユ クアイ・デ・ダム パトー・ファーウェン
- (72)発明者 アレクサンドル ジュイレラ
フランス国 7 5 0 1 4 パリ リュ・ドゥ・ラミラル・ムシェ 3 8
- (72)発明者 ジュリアン ヴァルトン
フランス国 9 4 2 2 0 シャラントン・ル・ボン リュ・ヴィクトル・ユゴー 1 9

審査官 白井 美香保

(56)参考文献 国際公開第2013/154760(WO, A1)

米国特許出願公開第2015/0093401 (US, A1)

特表2017-513478 (JP, A)

特表2017-527271 (JP, A)

国際公開第2014/152177 (WO, A1)

BLOOD, 2012年, Vol.119, No.24, pp.5697-5705

Clin. Cancer Res., 2013年, Vol.19, No.8, pp.2048-2060

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K 1/00 - 19/00

C12N 15/00 - 15/90

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GenSeq