

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和1年5月9日(2019.5.9)

【公表番号】特表2018-516092(P2018-516092A)

【公表日】平成30年6月21日(2018.6.21)

【年通号数】公開・登録公報2018-023

【出願番号】特願2018-503725(P2018-503725)

【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 0 7 K 14/00 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 0 7 K 14/705 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 1 2 N 5/09 (2010.01)

C 1 2 N 5/0783 (2010.01)

C 1 2 N 7/01 (2006.01)

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

C 4 0 B 50/06 (2006.01)

C 4 0 B 40/08 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C 0 7 K 14/00

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/10

C 0 7 K 14/705

C 0 7 K 19/00

C 1 2 N 5/09

C 1 2 N 5/0783

C 1 2 N 7/01

A 6 1 K 35/17 Z

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 39/395 T

A 6 1 P 35/00

C 4 0 B 50/06

C 4 0 B 40/08

【手続補正書】

【提出日】平成31年3月28日(2019.3.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAELAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKKGKNPEVEA
LRKEAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:2)、

MGSWAEFKQRLAAIKTRLEALGGSEAELAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKKGKNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁A
IX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:3)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESELQAYKKGKNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂
IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAELAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKKGKNPEVEX₅₅
LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:5)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKKGKNPEVEA
LX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:6)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALZ₁EAELAX₂₈FEX₃₁X₃₂IAX₃₅FEX₃₈X₃₉LQX₄₂YZ₂NPEVEALRK
EAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:7)、

MGSWAEFKQRLAAIKTRLEALZ₁EAELAAFX₃₀X₃₁EIX₃₄AFX₃₇X₃₈ELX₄₁AYZ₂NPEVEALX₅₂X₅₃EAX₅₆AIX₅₉
X₆₀ELX₆₃AYRHN (SEQ ID NO:8)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALZ₁EAELAAFEKEIAAFESELQAYZ₂NPEVEX₅₀LRX₅₃X₅₄AAX₅₇IR
X₆₀X₆₁LQAYRHN (SEQ ID NO:9)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALZ₁EAELAAFX₃₀X₃₁EIX₃₄AFX₃₇X₃₈ELX₄₁AYZ₂NPEVEX₅₀LRX
53X₅₄AAX₅₇IRX₆₀X₆₁LQAYRHN (SEQ ID NO:10)、または

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALZ₁EAELAX₂₈FEX₃₁X₃₂IAX₃₅FEX₃₈X₃₉LQX₄₂YZ₂NPEVEALX₅₂
X₅₃EAX₅₆AIX₅₉X₆₀ELX₆₃AYRHN (SEQ ID NO:11)

の amino 酸配列を含む、標的結合ポリペプチドであって、

(a) X₀ が天然 amino 酸または非天然 amino 酸であり、

(b) Z₁ および Z₂ が、約2～約30個の天然 amino 酸または非天然 amino 酸を含み、

(c) 標的結合ポリペプチドが、関心対象の標的に特異的に結合し、該標的結合ポリペプチドと該関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1の amino 酸配列を含む参照ポリペプチドと該関心対象の標的との結合より強く、

(d) 標的結合ポリペプチドが、SEQ ID NO:50の amino 酸配列を含まない、

標的結合ポリペプチド。

【請求項2】

SEQ ID NO:4の amino 酸配列を含む、請求項1記載の標的結合ポリペプチド。

【請求項3】

X₀ が、システインでもプロリンでもない、請求項1または2記載の標的結合ポリペプチド

【請求項4】

関心対象の標的ががん抗原であり、任意で該がん抗原が、PD-L1、CD137、またはCD123であり、任意で

(a) 関心対象の標的がPD-L1であり、標的結合ポリペプチドがSEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、およびSEQ ID NO:44 からなる群より選択される amino 酸配列を含む、

(b) 関心対象の標的がCD137であり、標的結合ポリペプチドが、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、およびSEQ ID NO:19からなる群より選択される amino 酸配列を含む、

(c) 関心対象の標的がCD123であり、SEQ ID NO:92～127より選択される amino 酸配列を含む、または

(d) 関心対象の標的がCD123であり、標的結合ポリペプチドが、(c)の標的結合ポリペプチドとCD123との結合において競合する

請求項1～3のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド。

【請求項5】

リンカーペプチドによってつなげられた3つの逆平行ヘリックスを含む、新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)であって、

(a) 該DBDppが、SEQ ID NO:1のアミノ酸配列に対する改変に由来する合成ペプチドであり、該改変が、溶媒接触性または溶媒非接触性残基の1個または複数個の保存的または非保存的アミノ酸置換を含み、

(b) 該DBDppが関心対象の標的に特異的に結合し、該DBDppと該関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のアミノ酸配列を含む参照ポリペプチドと該関心対象の標的との結合より強く、

(c) 該DBDppが、SEQ ID NO:50のアミノ酸配列を含まない、新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

【請求項6】

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAELAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKGKGNPEVEALARKEAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:2)、

MGSWAEFKQRLAAIKTRLEALGGSEAELAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKGKGNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:3)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESELQAYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAELAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:5)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKGKGNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:6)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALZ₁EAELAX₂₈FEX₃₁X₃₂IAX₃₅FEX₃₈X₃₉LQX₄₂YZ₂NPEVEALRKEAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:7)、

MGSWAEFKQRLAAIKTRLEALZ₁EAELAAFX₃₀X₃₁EIX₃₄AFX₃₇X₃₈ELX₄₁AYZ₂NPEVEALX₅₂X₅₃EAX₅₆AIX₅₉X₆₀ELX₆₃AYRHN (SEQ ID NO:8)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALZ₁EAELAAFEKEIAAFESELQAYZ₂NPEVEX₅₀LRX₅₃X₅₄AAX₅₇IRX₆₀X₆₁LQAYRHN (SEQ ID NO:9)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALZ₁EAELAAFX₃₀X₃₁EIX₃₄AFX₃₇X₃₈ELX₄₁AYZ₂NPEVEX₅₀LRX₅₃X₅₄AAX₅₇IRX₆₀X₆₁LQAYRHN (SEQ ID NO:10)、または

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALZ₁EAELAX₂₈FEX₃₁X₃₂IAX₃₅FEX₃₈X₃₉LQX₄₂YZ₂NPEVEALX₅₂X₅₃EAX₅₆AIX₅₉X₆₀ELX₆₃AYRHN (SEQ ID NO:11)

のアミノ酸配列を含み、

(a) X_nが天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり、

(b) Z₁およびZ₂が、約2～約30個の天然アミノ酸または非天然アミノ酸を含む、

請求項5記載のDBDpp。

【請求項7】

CD123(SEQ ID NO:187)のアミノ酸19～305を含むタンパク質またはCD123と少なくとも95%同一であるタンパク質に特異的に結合し、任意でDBDppが以下(a)～(e)の1つまたは複数によって特徴付けられる、請求項5または6記載のDBDpp:

(a) 該DBDppが、CD123(SEQ ID NO:187)のアミノ酸19～305を含む該タンパク質またはCD123と少なくとも95%同一である該タンパク質に、約10⁻⁴M～約10⁻¹²Mの解離定数(K_D)で結合する、

(b) 該DBDppが、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESELQAYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)

のアミノ酸配列を含み、ここで、X_nが天然アミノ酸または非天然アミノ酸である、

(c) 該DBDppが、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESELQAYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)

${}_2\text{IRX}_{65}\text{X}_{66}\text{LQAYRHN}$ (SEQ ID NO:4)

のアミノ酸配列を含み、ここで、 X_n が天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり、かつ X_n がシステインでもプロリンでもない、

(d) 該DBDppが、SEQ ID NO:60～SEQ ID NO:136のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%同一であるアミノ酸配列を含む、および

(e) 該DBDppが、腫瘍に結合することができる。

【請求項 8】

請求項5～7のいずれか一項記載の第1および第2のDBDppを含む融合タンパク質であって、該第1および第2のDBDppが腫瘍標的に対して結合特異性を示し、任意で該第1および第2のDBDppが、異なる腫瘍標的に対して結合特異性を示す、融合タンパク質。

【請求項 9】

標識されており、任意で、該標識が、ビオチン部分であるか、または酵素標識、蛍光標識、発光標識、および生物発光標識からなる群より選択される、請求項1～4のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8記載の融合タンパク質。

【請求項 10】

治療剤または細胞傷害性剤と結合体化されている、請求項1～4および9のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7および9のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8もしくは9記載の融合タンパク質。

【請求項 11】

請求項1～4、9および10のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7、9、および10のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8～10のいずれか一項記載の融合タンパク質を含み、薬学的に許容される担体をさらに含む、薬学的組成物。

【請求項 12】

請求項1～4、9および10のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7、9、および10のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8～10のいずれか一項記載の融合タンパク質を含む、キット。

【請求項 13】

請求項1～4のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8記載の融合タンパク質をコードする、単離された核酸分子。

【請求項 14】

請求項13記載の単離された核酸分子を含み、任意で、該核酸分子によってコードされる標的結合ポリペプチド、DBDpp、または融合タンパク質の発現を調節するヌクレオチド配列をさらに含む、ベクター。

【請求項 15】

請求項13記載の核酸分子または請求項14記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 16】

請求項1～4のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8記載の融合タンパク質を発現するように操作された、細胞株。

【請求項 17】

(a) 標的指向ドメインと、

(b) 膜貫通ドメインと、

(c) 細胞内シグナル伝達ドメインと

を含む、キメラ抗原受容体(CAR)であって、

該標的指向ドメインが、請求項1～4のいずれか一項記載の標的結合ポリペプチド、請求項5～7のいずれか一項記載のDBDpp、または請求項8記載の融合タンパク質を含み、

任意で、該細胞内シグナル伝達ドメインが、ヒトCD3 ドメイン、41BBドメイン、CD28ドメイン、およびその任意の組み合わせからなる群より選択され、

任意で、該標的結合ポリペプチド、DBDpp、または融合タンパク質が、血液悪性腫瘍または固形腫瘍に関連する腫瘍抗原に結合し、

任意で、該腫瘍抗原が、CD137、PD-L1、CD123、CTLA4、CD47、KIR、DR5、TIM3、PD1、EGFR、TCR、CD19、CD20、CD22、ROR1、メソテリン、CD33/IL3Ra、cMet、PSMA、糖脂質F77、EGFRvIII、GD2、NY-ESO-1、MAGE A3、およびその組み合わせからなる群より選択される

キメラ抗原受容体(CAR)。

【請求項 18】

細胞内シグナル伝達ドメインが、共刺激シグナル伝達領域を含み、任意で、該共刺激シグナル伝達領域が、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、CD83に特異的に結合するリガンド、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される共刺激分子の細胞内ドメインを含む、請求項17記載のCAR。

【請求項 19】

請求項17または18記載のCARをコードする配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 20】

請求項17または18記載のCARをコードする配列を含む核酸分子を含む細胞であって、任意で、細胞がT細胞またはナチュラルキラー(NK)細胞であり、任意で、標的結合ポリペプチド、DBDpp、または融合タンパク質がその対応する腫瘍抗原に結合した時に、細胞が抗腫瘍免疫を示す、細胞。

【請求項 21】

請求項17または18記載のCARを含む免疫細胞を含む、がんを処置するための薬学的組成物であって、任意で、該免疫細胞がT細胞またはナチュラルキラー(NK)細胞である、薬学的組成物。

【請求項 22】

キメラ抗原受容体(CAR)を含む免疫細胞を含む、がんを処置するための薬学的組成物であって、
該CARが、

(a) MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAELAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKGKGNPEVEALRKEAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:2)、

MGSWAEFKQLAAIKTRLEALGGSEAELAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKGKGNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:3)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESELQAYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAELAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:5)、および

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKGKGNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:6)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を有する標的結合ポリペプチドを含む標的結合ドメイン、ここで、X_nが天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり、かつX_nがシステインでもプロリンでもなく、該標的結合ポリペプチドが、がん細胞によって発現される関心対象の標的に特異的に結合し、該標的結合ポリペプチドと該関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1に記載のポリペプチドと該関心対象の標的との結合よりも強い、標的結合ドメインと、

(b) 41BBおよびCD28から選択される膜貫通ドメインと

(c) T細胞受容体の鎖、鎖、および鎖から選択されるシグナル伝達ドメインを含む細胞内ドメインと

を含み、任意で、該免疫細胞がT細胞またはナチュラルキラー(NK)細胞である、薬学的組成物。

【請求項 23】

参照ポリペプチドを、関心対象の標的に対して特異的に結合できる標的結合ポリペプチドに変換するための方法であって、

(a)参照ポリペプチドに由来する複数のアミノ酸残基を改変して、複数の候補標的結合ポリペプチドを作製する工程であって、該候補標的結合ポリペプチドが、SEQ ID NO:1のアミノ酸配列の変種を含み、該候補標的結合ポリペプチドが、リンカーペプチドによってつなげられた3つの逆平行ヘリックスを含み、改変されるアミノ酸残基が溶媒接触性または溶媒非接触性であり、かつ改変が、1個または複数個の保存的アミノ酸置換または非保存的アミノ酸置換を含み、システインによる置換もプロリンによる置換も含まない、工程

(b)該複数の候補標的結合ポリペプチドを複数のベクターに入れて候補ライブラリーを作製する工程；および

(c)関心対象の標的に対して特異的結合を示す候補標的結合ポリペプチドについて候補ライブラリーをスクリーニングする工程を含み、

任意で、候補標的結合ポリペプチドの中にある潜在的に免疫原性のアミノ酸残基を特定する工程と、該候補標的結合ポリペプチドの中にある潜在的に免疫原性のアミノ酸残基の少なくとも1つを改変する工程とをさらに含み、該改変がアミノ酸置換を含み、

任意で、該候補標的結合ポリペプチドが、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAEALAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKGKGNPEVEALARKEAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:2)、

MGSWAEFKQRLAAIKTRLEALGGSEAEALAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKGKGNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:3)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAEALAAFEKEIAAFESEELQAYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALGGSEAEALAAFX₃₂X₃₃EIX₃₆AFX₃₉X₄₀ELX₄₃AYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:5)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAEALAX₃₀FEX₃₃X₃₄IAX₃₇FEX₄₀X₄₁LQX₄₄YKGKGNPEVEALX₅₇X₅₈EAX₆₁AIX₆₄X₆₅ELX₆₈AYRHN (SEQ ID NO:6)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALZ₁EAELAX₂₈FEX₃₁X₃₂IAX₃₅FEX₃₈X₃₉LQX₄₂YZ₂NPEVEALRKEAAAIRDELQAYRHN (SEQ ID NO:7)、

MGSWAEFKQRLAAIKTRLEALZ₁EAELAAFX₃₀X₃₁EIX₃₄AFX₃₇X₃₈ELX₄₁AYZ₂NPEVEALX₅₂X₅₃EAX₅₆AIX₅₉X₆₀ELX₆₃AYRHN (SEQ ID NO:8)、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALZ₁EAELAAFEKEIAAFESEELQAYZ₂NPEVEX₅₀LRX₅₃X₅₄AAX₅₇IRX₆₀X₆₁LQAYRHN (SEQ ID NO:9)、

MGSWX₅X₆FKX₉X₁₀LAX₁₃IKX₁₆X₁₇LEALZ₁EAELAAFX₃₀X₃₁EIX₃₄AFX₃₇X₃₈ELX₄₁AYZ₂NPEVEX₅₀LRX₅₃X₅₄AAX₅₇IRX₆₀X₆₁LQAYRHN (SEQ ID NO:10)、および

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALZ₁EAELAX₂₈FEX₃₁X₃₂IAX₃₅FEX₃₈X₃₉LQX₄₂YZ₂NPEVEALX₅₂X₅₃EAX₅₆AIX₅₉X₆₀ELX₆₃AYRHN (SEQ ID NO:11)

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含み、ここで、X_nが天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり、かつZ₁およびZ₂が、約2～約30個の天然アミノ酸または非天然アミノ酸を含む、

方法。

【請求項24】

DBDppに対する抗体を作製するための免疫原として使用するのに適している、請求項5～7のいずれか一項記載のDBDppを含む融合ポリペプチドを含む、ウイルス様粒子(VLP)。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0073

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0073】

[本発明1001]

関心対象の標的に結合するためのポリペプチドであって、
MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAEELAAFEKEIAAFESELQAYK
GKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)

を含むアミノ酸配列を含み、

SEQ ID NO:1のアミノ酸配列に対する改変に由来し、

関心対象の標的に特異的に結合し、

ポリペプチドと関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと関心対象の標的との結合より強い、ポリペプチド。

[本発明1002]

SEQ ID NO:50を含有しない、本発明1001のポリペプチド。

[本発明1003]

SEQ ID NO:1に対する改変が置換を含む、本発明1001のポリペプチド。

[本発明1004]

置換が保存的置換である、本発明1003のポリペプチド。

[本発明1005]

置換が非保存的置換である、本発明1003のポリペプチド。

[本発明1006]

置換が、SEQ ID NO:1のアミノ酸の、システインとの置換を含まない、本発明1003のポリペプチド。

[本発明1007]

置換が、SEQ ID NO:1のアミノ酸の、プロリンとの置換を含まない、本発明1003のポリペプチド。

[本発明1008]

ポリペプチドが特異的に結合する関心対象の標的ががん抗原である、本発明1001のポリペプチド。

[本発明1009]

ポリペプチドが特異的に結合するがん抗原がPD-L1である、本発明1008のポリペプチド。

[本発明1010]

SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、およびSEQ ID NO:44 からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1009のポリペプチド。

[本発明1011]

ポリペプチドが特異的に結合するがん抗原がCD137であり、ポリペプチドが、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、およびSEQ ID NO:19からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1008のポリペプチド。

[本発明1012]

ポリペプチドが特異的に結合するがん抗原がCD123である、本発明1008のポリペプチド。

[本発明1013]

SEQ ID NO:92 ~ 127より選択されるアミノ酸配列を含む、本発明1012のポリペプチド。

[本発明1014]

参照ポリペプチドを、関心対象の標的に対して特異的結合を有するポリペプチドに変換するための方法であって、以下の工程を含む、方法：

参照ポリペプチドに由来する複数のアミノ酸残基を改変して、複数の候補結合ポリペプチドを作製する工程であって、

参照ポリペプチドが非天然ポリペプチドの変種を含み、リンカーペプチドによってつなげられた3つの逆平行ヘリックスを含み、

改変されるアミノ酸残基が溶媒接触性または溶媒非接触性であり、

改変がアミノ酸置換を含む、工程；

複数の候補結合ポリペプチドを複数のベクターに入れて候補ライブラリーを作製する工程；および

関心対象の標的に対して特異的結合を示す候補結合ポリペプチドがあるかどうか候補ライブラリーをスクリーニングする工程。

[本発明1015]

置換が保存的アミノ酸置換である、本発明1014の方法。

[本発明1016]

置換が非保存的アミノ酸置換である、本発明1014の方法。

[本発明1017]

置換がシステインへの置換を含まない、本発明1014～1016のいずれかの方法。

[本発明1018]

置換がプロリンへの置換を含まない、本発明1014～1017のいずれかの方法。

[本発明1019]

候補結合ポリペプチドの中にある潜在的に免疫原性のアミノ酸残基を特定する工程と、潜在的に免疫原性のアミノ酸残基の少なくとも1つを改変する工程とをさらに含み、改変がアミノ酸置換を含む、本発明1014～1018のいずれかの方法。

[本発明1020]

3つの逆平行ヘリックスを含み、合成ポリペプチドの変種であり、CD123と少なくとも95%同一のタンパク質に免疫特異的に結合する、新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)

。

[本発明1021]

約 10^{-4} M～約 10^{-12} Mの解離定数(KD)を有する、本発明1020の新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1022]

DBDppが免疫特異的に結合するタンパク質がCD123のアミノ酸19～305(SEQ ID NO:187)を含む、本発明1020または1021の新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1023]

アミノ酸配列が、

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESSELQAYK GK

GNPEVEX₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)

を含み、X_nが天然アミノ酸または非天然アミノ酸である、本発明1020～1022のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1024]

SEQ ID NO:60～SEQ ID NO:136のいずれか1つのアミノ酸配列と少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む、本発明1020～1022のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1025]

本発明1020～1024のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)を含み、腫瘍標的に対して結合特異性を示す1種類または複数種のさらなるDBDppをさらに含む、融合タンパク質。

[本発明1026]

標識されている、本発明1020～1025のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1027]

標識が、酵素標識、蛍光標識、発光標識、および生物発光標識からなる群より選択される、本発明1026の新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1028]

標識がビオチン部分である、本発明1026の新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1029]

治療剤または細胞傷害性剤と結合体化されている、本発明1020～1028のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1030]

薬学的に許容される担体をさらに含む、本発明1020～1029のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1031]

本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)を含む、キット。

[本発明1032]

本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)をコードする、単離された核酸分子。

[本発明1033]

本発明1032の単離された核酸分子を含む、ベクター。

[本発明1034]

核酸分子によってコードされる新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)の発現を調節するヌクレオチド配列をさらに含む、本発明1033のベクター。

[本発明1035]

本発明1033の核酸分子を含む、宿主細胞。

[本発明1036]

本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)を発現するように操作された、細胞株。

[本発明1037]

CD123との結合において本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)と競合する、新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1038]

腫瘍に結合する、本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)。

[本発明1039]

本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)を含む標的指向ドメインと、膜貫通ドメインと、細胞内シグナル伝達ドメインとを含む、キメラ抗原受容体(CAR)。

[本発明1040]

細胞内シグナル伝達ドメインが、ヒトCD3 ドメイン、41BBドメイン、CD28ドメイン、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される、本発明1039のキメラ抗原受容体(CAR)。

[本発明1041]

共刺激シグナル伝達領域が、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、CD83と共に特異的に結合するリガンド、およびその任意の組み合わせからなる群より選択される共刺激分子の細胞内ドメインを含む、本発明1039または1040のいずれかのキメラ抗原受容体(CAR)。

[本発明1042]

本発明1025の融合タンパク質を含む、キメラ抗原受容体(CAR)。

[本発明1043]

本発明1020～1030のいずれかの新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)と、膜貫通ドメインと、細胞内シグナル伝達ドメインとを含むキメラ抗原受容体(CAR)をコードする配列を含む、単離された核酸配列。

[本発明1044]

新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)に由来する抗原結合ドメインと、膜貫通ドメイ

ンと、シグナル伝達ドメインとを含むキメラ抗原受容体(CAR)をコードする配列を含む核酸配列を含む、細胞。

[本発明1045]

新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)が腫瘍抗原に結合する、本発明1044の細胞。

[本発明1046]

腫瘍抗原が血液悪性腫瘍に関連する、本発明1045の細胞。

[本発明1047]

腫瘍抗原が固形腫瘍に関連する、本発明1045の細胞。

[本発明1048]

腫瘍抗原が、CD137、PD-L1、CD123、CTLA4、CD47、KIR、DR5、TIM3、PD1、EGFR、TCR、CD19、CD20、CD22、ROR1、メソテリン、CD33/IL3Ra、cMet、PSMA、糖脂質F77、EGFRvIII、GD2、NY-ESO-1、MAGE A3、およびその組み合わせからなる群より選択される、本発明1045の細胞。

[本発明1049]

T細胞またはナチュラルキラー(NK)細胞である、本発明1044～1048のいずれかの細胞。

[本発明1050]

新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)がその対応する腫瘍抗原に結合した時に、細胞が抗腫瘍免疫を示す、本発明1049の細胞。

[本発明1051]

X_nがシステインでもプロリンでもない、SEQ ID 4を含むアミノ酸配列。

[本発明1052]

膜結合ウイルス様粒子(VLP)を生じ、キメラ抗原受容体(CAR)と融合した新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)を含む融合タンパク質を発現するように操作された哺乳動物細胞であって、融合タンパク質が、生じたVLP上に発現される、哺乳動物細胞。

[本発明1053]

新規結合ドメインポリペプチド(DBDpp)に対して作られた抗体を作製するための免疫原として使用するのに適している、本発明1052の哺乳動物細胞によって産生されたウイルス様粒子(VLP)。

[本発明1054]

CD123との結合において本発明1020～1030のいずれかのDBDppと競合する、ポリペプチド。

[本発明1055]

がんを有する対象を処置する方法であって、以下の工程を含む、方法：

キメラ抗原受容体(CAR)を含む免疫細胞を対象に投与する工程であって、

CARが、以下：

MGSWX₅EFX₈X₉RLX₁₂AIX₁₅X₁₆RLX₁₉ALGGSEAELAAFEKEIAAFESEL

QAYKGKGNPEVEX₅₅LRX₅₈X₅₉AAX₆₂IRX₆₅X₆₆LQAYRHN (SEQ ID NO:4)

を含むアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、標的結合ドメインであって

該ポリペプチドが、SEQ ID NO:1のアミノ酸配列に対する改変に由来し、

該ポリペプチドが、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

該ポリペプチドと関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと関心対象の標的との結合より強い、標的結合ドメインと；

膜貫通ドメインと；

シグナル伝達ドメインを含む細胞内ドメインと

を含み、

標的結合ドメインが、がんを有する対象に投与されると、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

関心対象の標的に結合すると、がん細胞に細胞傷害効果をもたらす細胞傷害シグナルを生じるように免疫細胞が誘導され、それによって、がんが処置される、工程。

[本 発 明 1056]

免疫細胞がT細胞である、本発明1055の方法。

[本 発 明 1057]

免疫細胞がNK細胞である、本発明1055の方法。

[本 発 明 1058]

投与が静脈内投与である、本発明1055の方法。

[本 発 明 1059]

膜貫通ドメインが41BBまたはCD28を含み、細胞質ドメインがT細胞受容体の鎖、鎖、または鎖を含み、免疫細胞がT細胞である、本発明1055の方法。

[本 発 明 1060]

関心対象の標的に結合すると、T細胞が、細胞内シグナル伝達を開始し、サイトカインを産生し、脱顆粒し、それによって、がん細胞に対して細胞傷害効果が生じるように刺激される、本発明1059の方法。

[本 発 明 1061]

T細胞が、関心対象の標的との結合に応答して増殖し、T細胞疲弊に関連する表現型を示さない、本発明1060の方法。

[本 発 明 1062]

膜貫通ドメインがCD28を含み、細胞質ドメインがT細胞受容体の鎖を含み、免疫細胞がNK細胞である、本発明1055の方法。

[本 発 明 1063]

がん細胞が発現する関心対象の標的が、CD137、PD-L1、CD123、CTLA4、CD47、KIR、DR5、TIM3、PD1、EGFR、TCR、CD19、CD20、CD22、ROR1、メソテリン、CD33/IL3Ra、cMet、PSMA、糖脂質F77、EGFRvIII、GD2、NY-ESO-1、MAGE A3、およびその組み合わせからなる群より選択される腫瘍抗原の1つまたは複数である、本発明1055の方法。

[本 発 明 1064]

キメラ抗原受容体(CAR)が、SEQ ID NO:4のアミノ酸を有し、がん細胞が発現する第2の関心対象の標的に特異的に結合することができる第2のポリペプチドをさらに含み、第2のポリペプチドと第2の関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと第2の関心対象の標的との結合より強い、本発明1055の方法。

[本 発 明 1065]

改変が、置換によってSEQ ID NO:1にシステインまたはプロリンを入れることを含まない、本発明1055の方法。

[本 発 明 1066]

がんを有する対象を処置する方法であって、以下の工程を含む、方法：

キメラ抗原受容体(CAR)を含む免疫細胞を対象に投与する工程であって、CARが、以下：

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、および SEQ ID NO:6からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、標的結合ドメインであって、

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、および SEQ ID NO:6のいずれにも、置換によってシステイン残基もプロリン残基も入れられておらず、

該ポリペプチドが、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

該ポリペプチドと関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと関心対象の標的との結合より強い、標的結合ドメインと；

膜貫通ドメインと；

シグナル伝達ドメインを含む細胞内ドメインとを含み、

標的結合ドメインが、がんを有する対象に投与されると、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

関心対象の標的に結合すると、がん細胞に細胞傷害効果をもたらす細胞傷害シグナルを生じるように免疫細胞が誘導され、それによって、がんが処置される、工程。

[本発明1067]

免疫細胞がT細胞である、本発明1066の方法。

[本発明1068]

免疫細胞がNK細胞である、本発明1066の方法。

[本発明1069]

膜貫通ドメインが41BBまたはCD28を含み、細胞質ドメインがT細胞受容体の鎖、鎖、または鎖を含み、免疫細胞がT細胞である、本発明1066の方法。

[本発明1070]

関心対象の標的に結合すると、T細胞が、細胞内シグナル伝達を開始し、サイトカインを産生し、増殖し、脱顆粒し、それによって、がん細胞に対して細胞傷害効果が生じるように刺激され、T細胞が、T細胞疲弊に関連する表現型を示さない、本発明1069の方法。

[本発明1071]

がんを有する対象を処置する方法であって、以下の工程を含む、方法：

T細胞上に発現しているキメラ抗原受容体(CAR)を含む免疫細胞を対象に静脈内投与する工程であって、

CARが、以下：

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、および SEQ ID NO:6からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、標的結合ドメインであって、

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、および SEQ ID NO:6のいずれにも、置換によってシステイン残基もプロリン残基も入れられておらず、

ポリペプチドが、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

ポリペプチドと関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと関心対象の標的との結合より強い、標的結合ドメインと；

41BBおよびCD28より選択される膜貫通ドメインと；

T細胞受容体の鎖、鎖、または鎖より選択されるシグナル伝達ドメインを含む細胞内ドメインと

を含み、

標的結合ドメインが、がんを有する対象に投与されると、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

関心対象の標的に結合すると、がん細胞に細胞傷害効果をもたらす細胞傷害シグナルを生じるようにT細胞が誘導される、工程。

[本発明1072]

細胞傷害効果がT細胞の脱顆粒に起因する、本発明1071の方法。

[本発明1073]

活性化後に、T細胞が、T細胞疲弊に関連する表現型を示さない、本発明1071の方法。

[本発明1074]

キメラ抗原受容体(CAR)が、標的結合ドメインとは異なる標的を有する第2のポリペプチドを含む第2の標的結合ドメインをさらに含む、本発明1071の方法。

[本発明1075]

がんを処置するためのキメラ抗原受容体(CAR)を含むT細胞の使用であって、

CARが、以下：

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、およびSEQ ID NO:6からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、標的結合ドメインであって、

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、および SEQ ID NO:6のいずれにも、置換によってシステイン残基もプロリン残基も入れられておらず、

ポリペプチドが、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

ポリペプチドと関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと関心対象の標的との結合より強い、標的結合ドメインと；

41BBおよびCD28より選択される膜貫通ドメインと；

T細胞受容体の鎖、鎖、または鎖より選択されるシグナル伝達ドメインを含む細胞内ドメインと

を含み、

標的結合ドメインが、がんを有する対象に投与されると、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

関心対象の標的に結合すると、がん細胞に細胞傷害効果をもたらす細胞傷害シグナルを生じるようにT細胞が誘導される、使用。

[本発明1076]

がんを処置するためのキメラ抗原受容体(CAR)を含む免疫細胞の使用であって、

CARが、以下：

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、およびSEQ ID NO:6からなる群より選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む、標的結合ドメインであって、

SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、およびSEQ ID NO:6のいずれにも、置換によってシステイン残基もプロリン残基も入れられておらず、

ポリペプチドが、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

ポリペプチドと関心対象の標的との特異的結合が、SEQ ID NO:1のポリペプチドと関心対象の標的との結合より強い、標的結合ドメインと；

41BBおよびCD28より選択される膜貫通ドメインと；

T細胞受容体の鎖、鎖、または鎖より選択されるシグナル伝達ドメインを含む細胞内ドメインと

を含み、

標的結合ドメインが、がんを有する対象に投与されると、がん細胞が発現する関心対象の標的に特異的に結合し、

関心対象の標的に結合すると、がん細胞に細胞傷害効果をもたらす細胞傷害シグナルを生じるように免疫細胞が誘導される、使用。

[本発明1077]

免疫細胞がT細胞またはナチュラルキラー(NK)細胞である、本発明1076の使用。

上記で要約され、下記でさらに詳細に説明される、ある特定の方法は、専門家が行った、ある特定の行為を示している。しかしながら、この方法は、別の人による行為の指示も含んでもよい。従って、「標的・特異的結合ポリペプチド-CARを含むT細胞を投与する」のような行為は、「標的・特異的結合ポリペプチド-CARを含むT細胞の投与を指示する」を含むことが理解されるはずである。