

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-512324
(P2024-512324A)

(43)公表日 令和6年3月19日(2024.3.19)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28		4 C 0 7 6
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 C 0 8 4
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 8 5
C 0 7 K	14/725 (2006.01)	C 0 7 K	14/725		4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全287頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-553521(P2023-553521)	(71)出願人	520145399		
(86)(22)出願日	令和4年3月4日(2022.3.4)		ジーオー セラピューティクス、インコーポレイテッド		
(85)翻訳文提出日	令和5年11月2日(2023.11.2)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02142, ケンブリッジ, ブロードウェイ 1		
(86)国際出願番号	PCT/US2022/018863				
(87)国際公開番号	WO2022/187591	(74)代理人	100092783		
(87)国際公開日	令和4年9月9日(2022.9.9)		弁理士 小林 浩		
(31)優先権主張番号	63/157,601	(74)代理人	100103182		
(32)優先日	令和3年3月5日(2021.3.5)		弁理士 日野 真美		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100120134		
(31)優先権主張番号	63/223,698		弁理士 大森 規雄		
(32)優先日	令和3年7月20日(2021.7.20)	(74)代理人	100153693		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 岩田 耕一		
(31)優先権主張番号	63/270,641	(72)発明者	ワンダル, ハンス		
		最終頁に続く	最終頁に続く		

(54)【発明の名称】 抗グリコCD44抗体およびその使用

(57)【要約】

本発明の開示は、CD44のがん特異的なグリコシル化バリエントに特異的に結合する抗グリコCD44抗体およびその抗原結合フラグメント、ならびに関連の融合タンパク質および抗体-薬物コンジュゲート、加えてこのような生体分子をコードする核酸に関する。本発明の開示はさらに、がん療法のための、抗体、抗原結合フラグメント、融合タンパク質、抗体-薬物コンジュゲートおよび核酸の使用に関する。

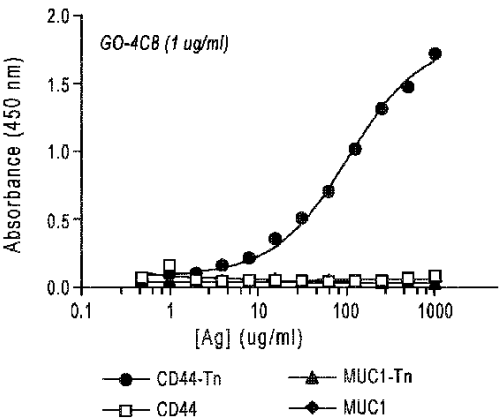


FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(a) 表 4 A ~ 4 D に記載の C D R - H 1、C D R - H 2 および C D R - H 3 のいずれかの組合せを含む重鎖可変領域 (V H) であって、任意選択で：

(i) C D R - H 1 が、H V 1 - 1 8 コンセンサス C D R - H 1 (配列番号 3) または H V 1 - 6 9 コンセンサス C D R - H 1 (配列番号 2 7 3) のアミノ酸配列を有し；

(i i) C D R - H 2 が、H V 1 - 1 8 コンセンサス C D R - H 2 (配列番号 4) または H V 7 - 4 - 1 コンセンサス C D R - H 2 (配列番号 2 7 5) のアミノ酸配列を有し；

(i i i) C D R - H 3 が、H V 1 - 1 8 コンセンサス C D R - H 3 (配列番号 2 6 4)、H V 1 - 4 6 コンセンサス C D R - H 3 (配列番号 2 6 8)、または H V 7 - 4 - 1 コンセンサス C D R - H 3 (配列番号 5) のアミノ酸配列を有する、V H と；

(b) 表 4 E ~ 4 G に記載の C D R - L 1、C D R - L 2 および C D R - L 3 のいずれかの組合せを含む軽鎖可変領域 (V L) であって、任意選択で：

(i) C D R - L 1 が、L V 7 - 4 3 コンセンサス C D R - L 1 (配列番号 6)、L V 7 - 4 3 C C D R - L 1 (配列番号 2 8 0)、L V 7 - 4 6 C C D R - L 1 (配列番号 2 8 4)、または L V 8 - 6 1 C C D R - L 1 (配列番号 2 8 8) のアミノ酸配列を有し；

(i i) C D R - L 2 が、L V 7 - 4 3 コンセンサス C D R - L 2 (配列番号 7) のアミノ酸配列を有し；

(i i i) C D R - L 3 が、L V 7 - 4 3 コンセンサス C D R - L 3 (配列番号 8) のアミノ酸配列を有する、V L と

を含む、ヒト化抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項 2】

(a) (i) それぞれ、配列番号 3、4 および 2 6 4 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2 および C D R - H 3；

(i i) それぞれ、配列番号 3、4 および 2 6 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2 および C D R - H 3；

(i i i) それぞれ、配列番号 2 7 3、4 および 2 6 8 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2 および C D R - H 3；

(i v) それぞれ、配列番号 3、2 7 5 および 5 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2 および C D R - H 3；または

(v) それぞれ、配列番号 2 7 3、2 7 5 および 5 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2 および C D R - H 3 を含む V H と；

(b) (i) それぞれ、配列番号 6、7 および 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、C D R - L 2 および C D R - L 3；

(i i) それぞれ、配列番号 2 8 0、7 および 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、C D R - L 2 および C D R - L 3；

(i i i) それぞれ、配列番号 2 8 4、7 および 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、C D R - L 2 および C D R - L 3；または

(i v) それぞれ、配列番号 2 8 8、7 および 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、C D R - L 2 および C D R - L 3

を含む V L と

を含む、請求項 1 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 3】

(a) それぞれ、配列番号 3、4、および 2 6 4 のアミノ酸配列を有する C D R - H 1、C D R - H 2、および C D R - H 3 を含む V H、ならびにそれぞれ、配列番号 6、7、および 8 のアミノ酸配列を有する C D R - L 1、C D R - L 2、および C D R - L 3 を含む V L；または

(b) それぞれ、配列番号 3、275、および 5 のアミノ酸配列を有する CDR-H1、CDR-H2、および CDR-H3 を含む VH、ならびにそれぞれ、配列番号 6、7、および 8 のアミノ酸配列を有する CDR-L1、CDR-L2、および CDR-L3 を含む VL

を含む、請求項 2 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 4】

任意選択で請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメントである抗体または抗原結合フラグメントであって、ヒト化されており：

(a) (i) HV1-18A (配列番号 263)、HV1-18B (配列番号 265)、HV1-18C (配列番号 266) または HV1-18 コンセンサス (配列番号 265) と命名された VH；

10

(ii) HV1-46A (配列番号 267)、HV1-46B (配列番号 269)、HV1-46C (配列番号 270) または HV1-46 コンセンサス (配列番号 269) と命名された VH；

(iii) HV1-69A (配列番号 271)、HV1-69B (配列番号 272)、HV1-69C (配列番号 274) または HV1-69 コンセンサス (配列番号 272) と命名された VH；または

(iv) HV7-4-1A (配列番号 271)、HV7-4-1B (配列番号 272)、HV7-4-1C (配列番号 274) または HV7-4-1 コンセンサス (配列番号 276) と命名された VH

20

と少なくとも 95% 同一の第 1 の配列を有する VH と、

(b) (i) LV7-43A (配列番号 277)、LV7-43B (配列番号 278)、LV7-43C (配列番号 279) または LV7-43 コンセンサス (配列番号 278) と命名された VL；

(ii) LV7-46A (配列番号 281)、LV7-46B (配列番号 282)、LV7-436 (配列番号 283) または LV7-46 コンセンサス (配列番号 282) と命名された VL；または

(iii) LV8-61A (配列番号 285)、LV8-61B (配列番号 286)、LV8-61C (配列番号 287) または LV8-61 コンセンサス (配列番号 286) と命名された VL

30

と少なくとも 95% 同一の第 2 の配列を有する VL と

を含み、

前記抗体または抗原結合フラグメントが、ヒト化抗体または抗原フラグメントである、抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 5】

(a) HV1-18A (配列番号 263) と命名された VH と少なくとも 95% 同一の第 1 の配列を有する VH、および LV7-43A (配列番号 277) と命名された VL と少なくとも 95% 同一の第 2 の配列を有する VL；

(b) HV7-4-1A (配列番号 271) と命名された VH と少なくとも 95% 同一の第 1 の配列を有する VH、および LV7-43A (配列番号 277) と命名された VL と少なくとも 95% 同一の第 2 の配列を有する VL；

40

(c) HV1-18A (配列番号 263) と命名された VH と少なくとも 95% 同一の第 1 の配列を有する VH、および LV7-46A (配列番号 281) と命名された VL と少なくとも 95% 同一の第 2 の配列を有する VL；または

(d) HV7-4-1A (配列番号 271) と命名された VH と少なくとも 95% 同一の第 1 の配列を有する VH、および LV7-46A (配列番号 281) と命名された VL と少なくとも 95% 同一の第 2 の配列を有する VL

を含む、請求項 4 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 6】

配列番号 165 のアミノ酸 5 位のスレオニンおよび配列番号 165 のアミノ酸 12 位の

50

セリン上で G a l N A c でグリコシル化された C D 4 4 v 6 グリコペプチド G Y R Q T P K E D S H S T T G T A A A (配列番号 1 6 5) に結合する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 7】

(i) C O S M C ノックアウト H a C a T 細胞に特異的に結合し、かつ／または (i i) C D 4 4 を組換え発現する C O S M C ノックアウト H E K 2 9 3 細胞に特異的に結合する、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 8】

(a) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 n M ~ 2 0 0 n M ;

10

(b) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 n M ~ 1 5 0 n M ;

(c) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 n M ~ 1 0 0 n M ;

(d) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 n M ~ 5 0 n M ;

(e) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 n M ~ 2 0 0 n M ;

(f) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 n M ~ 1 0 0 n M ;

20

(g) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 n M ~ 5 0 n M ;

(h) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 n M ~ 2 5 n M ;

(i) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 n M ~ 1 0 n M ;

(j) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 n M ~ 2 0 0 n M ;

(k) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 n M ~ 1 5 0 n M ;

30

(l) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 n M ~ 1 0 0 n M ;

(m) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 n M ~ 5 0 n M ;

(n) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 n M ~ 2 5 n M ;

(o) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 0 n M ~ 2 0 0 n M ;

(p) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 0 n M ~ 1 5 0 n M ;

40

(q) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 5 0 n M ~ 1 0 0 n M ;

(r) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 0 n M ~ 2 0 0 n M ; または

(s) 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される 1 0 0 n M ~ 1 5 0 n M

の結合親和性 (K D) で前記 C D 4 4 v 6 グリコペプチドに結合する、請求項 6 または 7 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 9】

前記 C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定

50

される通りであり、任意選択で前記表面プラズモン共鳴が、分析物としての前記CD44v6グリコペプチドの飽和濃度で行われ、前記抗体または抗原結合フラグメントが、固定化リガンドである、請求項8に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項10】

前記CD44v6グリコペプチドへの結合親和性が、バイオレイヤー干渉法によって測定される通りであり、任意選択で前記バイオレイヤー干渉法が、分析物としての前記抗体または抗原結合フラグメント、および固定化リガンドとしての前記CD44v6グリコペプチドを用いて行われる、請求項8に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項11】

グリコシル化されていないCD44v6ペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA
AA（配列番号333）（「グリコシル化されていないCD44v6ペプチド」）に特異的に結合しない、請求項6から10のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

【請求項12】

グリコシル化されていない前記CD44v6ペプチドへの前記抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、または少なくとも100倍である、前記CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で前記結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で前記表面プラズモン共鳴が、飽和量の前記グリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていない前記CD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、請求項11に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

20

【請求項13】

配列（VTSA PDTRPAPGSTAPP AHG）₃（配列番号205）を有し、精製した組換えヒトグリコシルトランスフェラーゼGalNAc-T1、GalNAc-T2、およびGalNAc-T4を使用してインビトロでグリコシル化された第1のMUC1グリコペプチド（「第1のMUC1グリコペプチド」）に特異的に結合しない、請求項6から12のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項14】

前記第1のMUC1グリコペプチドへの前記抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、または少なくとも100倍である、前記CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で前記結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で前記表面プラズモン共鳴が、飽和量の前記グリコCD44v6ペプチドまたは前記第1のMUC1グリコペプチドのいずれかの存在下で測定される、請求項13に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

30

【請求項15】

配列TAPP AHGVTSAPDTRPAPGSTAPP AHGV T（配列番号262）を有し、下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上でGalNAcによりインビトロでグリコシル化された第2のMUC1グリコペプチドに特異的に結合しない、請求項6から14のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

40

【請求項16】

前記第2のMUC1グリコペプチドへの前記抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも50倍、または少なくとも100倍である、前記CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で前記結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で前記表面プラズモン共鳴が、飽和量の前記グリコCD44v6ペプチドまたは前記第1のMUC1グリコペプチドのいずれかの存在下で測定され、任意選択で前記結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で前記表面プラズモン共鳴が、飽和量の前記グリコCD44v6ペプチドまたは前記第2のMUC1グリ

50

コペプチドのいずれかの存在下で測定される、請求項 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 17】

多価である、請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 18】

単鎖可変フラグメント (s c F v) の形態である、請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 19】

多重特異性抗体の形態である、請求項 1 から 16 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

【請求項 20】

前記多重特異性抗体が、第 1 のエピトープとは異なる第 2 のエピトープに結合する二重特異性抗体である、請求項 19 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 21】

前記二重特異性抗体が、C r o s s M a b、F a b アーム交換抗体、二重特異性 T 細胞エンゲージャー (B i T E)、または二重親和性リターゲティング分子 (D A R T) である、請求項 20 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 22】

前記第 2 のエピトープが、C D 4 4 エピトープである、請求項 20 または 21 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

20

【請求項 23】

前記第 2 のエピトープが、正常細胞と比較して、がん細胞上で過剰発現される C D 4 4 エピトープである、請求項 22 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 24】

前記第 2 のエピトープが、T 細胞エピトープである、請求項 20 または 21 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【請求項 25】

前記 T 細胞エピトープが、C D 3 エピトープ、C D 8 エピトープ、C D 1 6 エピトープ、C D 2 5 エピトープ、C D 2 8 エピトープ、または N K G 2 D エピトープを含む、請求項 24 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

30

【請求項 26】

少なくとも第 2 のアミノ酸配列に作動可能に連結した、請求項 1 から 25 のいずれかに記載の抗体または抗原結合フラグメントのアミノ酸配列を含む融合タンパク質。

【請求項 27】

請求項 18 に記載の s c F v を含むキメラ抗原受容体 (C A R)。

【請求項 28】

細胞傷害性物質にコンジュゲートした、請求項 1 から 25 のいずれかに記載の抗体または抗原結合フラグメントを含む抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項 29】

s c F v または F a b である請求項 1 から 17 のいずれか一項に記載の 1 つまたは複数の抗原結合フラグメントと、T C R 複合体サブユニットの 1 つまたは複数のドメインとを含む T 細胞受容体 (T C R) 融合タンパク質であって、任意選択で前記 T C R 融合タンパク質が、T 細胞受容体融合コンストラクト (T R u C)、抗体 T 細胞受容体 (A b T C R) コンストラクト、または合成 T 細胞受容体 (T C R) および抗原受容体 (S T A R) の形態である、T C R 融合タンパク質。

40

【請求項 30】

請求項 29 に記載の 1 つまたは複数の T C R 融合タンパク質を含む T 細胞受容体 (T C R) 複合体。

【請求項 31】

50

請求項 1 から 25 のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、請求項 27 に記載の C A R、請求項 29 に記載の T C R 融合タンパク質、または請求項 30 に記載の T C R 複合体のコード領域を含む核酸。

【請求項 32】

請求項 31 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 33】

請求項 32 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 34】

(a) 請求項 1 から 25 のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、請求項 26 に記載の融合タンパク質、請求項 27 に記載の C A R、請求項 28 に記載の A D C、請求項 29 に記載の T C R 融合タンパク質、請求項 30 に記載の T C R 複合体、請求項 31 に記載の核酸、請求項 32 に記載のベクター、または請求項 33 に記載の宿主細胞、および (b) 生理学的に好適な緩衝液、アジュバントまたは希釈剤を含む、医薬組成物。

【請求項 35】

がんの処置における使用のための、請求項 1 から 25 のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、請求項 26 に記載の融合タンパク質、請求項 27 に記載の C A R、請求項 28 に記載の A D C、請求項 29 に記載の T C R 融合タンパク質、請求項 30 に記載の T C R 複合体、請求項 31 に記載の核酸、請求項 32 に記載のベクター、請求項 33 に記載の宿主細胞、または請求項 34 に記載の医薬組成物。

【請求項 36】

前記がんが、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、子宮頸がん、または子宮内膜がんである、請求項 35 に記載の使用のための抗体もしくは抗原結合フラグメント、融合タンパク質、C A R、A D C、T C R、T C R 複合体、核酸、ベクター、宿主細胞、または医薬組成物。

【請求項 37】

生物学的サンプルでがんを検出する方法であって、サンプルを、請求項 1 から 25 のいずれか一項に記載の抗体または抗原結合フラグメントと接触させること、および前記抗体または抗原結合フラグメントの結合を検出することを含む方法。

【請求項 38】

前記がんが、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、子宮頸がん、または子宮内膜がんである、請求項 37 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 関連出願の相互参照

本出願は、2021年3月5日出願された米国仮出願第63/157,601号、2021年7月20日出願された同第63/223,698号、および2021年10月22日出願された同第63/270,641号の優先権の利益を主張し、それらの参照によりそれぞれの内容がそれらの全体として本明細書に組み込まれる。

【0002】

2. 配列表

本出願は、A S C I I フォーマットで電子的に提出された配列表を含有し、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。前記 A S C I I コピーは、2022年2月25日に作成され、これは、G O T - 0 0 4 W O _ S L . t x t と名付けられ、385,509 バイトのサイズである。

【背景技術】

【0003】

3. 背景

がん免疫療法における有力なツールとして、キメラ抗原受容体（CAR）を使用してT細胞応答をリダイレクトする療法が出現し、血液がんにおいて極めて有効であることが証明されており、これは、B細胞悪性腫瘍におけるCD19などの非必須の組織で共通する抗原を標的化するものである（Brentjens et al., 2013, *Sci Transl Med.* 5(177):177ra38-177ra38; Grupp et al., 2013, *N Engl J Med.* 368(16):1509-1518; Kalos et al., 2011, *Sci Transl Med.* 3(95):95ra73-95ra73; Kochenderfer et al., 2010, *Blood.* 116(20):4099-4102; Porter et al., 2011, *N Engl J Med.* 365(8):725-733)。しかしながら、CAR標的の大半が固形がんで過剰発現される正常な自己抗原であるために、CAR療法を固形腫瘍に採用することは困難であった。したがって、CAR T細胞で固形腫瘍を標的化する研究において、必須の健康な組織との交差反応に起因する有害作用がしばしば報告される（Bin Hou et al., 2019, *Dis Markers*, Article ID 3425291）。CAR療法を固形腫瘍に採用することの課題を克服するためには、選択的な標的化を可能にする新しいがん特異的な抗原が必要である。

10

20

30

40

50

【0004】

多くのがんが、健康な組織とは異なる異常にグリコシル化されたタンパク質を発現する。このような異常にグリコシル化されたタンパク質は、固形腫瘍の免疫療法に適している可能性があるグリコペプチドエピトープを含有するが、このようなグリコペプチドエピトープはほとんど同定されていない。CD44は、細胞間相互作用、細胞接着および遊走に関与する重鎖がグリコシル化された膜貫通タンパク質であり、加えてがん幹細胞のマーカーとしても示唆されている。ヒトにおいて、標準的なバリエーションを含む10種のCD44バリエーションがある。10種のバリエーションは、様々な腫瘍で差次的に発現される（Chen, et al., 2018, *J Hematol Oncol.* 11(1):64を参照）。CD44バリエーション領域内に、54個のセリンおよび63個のスレオニンを含む117個の可能性のあるO結合型グリコシル化部位がある。

【0005】

CD44を標的化する抗体、例えばがん関連アイソフォームCD44v6を認識するビバツズマブ（Bivatuzumab）が当業界において公知である。しかし、ビバツズマブは、健康な皮膚におけるCD44v6の低い発現に起因する重度の皮膚毒性を誘導する。Borjesson et al., 2003. *Clin Cancer Res.* 9(10 Pt 2):3961S-72S; Brentjens et al., 2013. *Sci Transl Med.* 5(177):177ra38-177ra38; Goodison et al., 1999, *Mol Pathol.* 52(4):189-196; Grupp, et al. 2013, *N Engl J Med.* 368(16):1509-1518; Hou et al., 2019, *Dis Markers.* 2019:1-11; Julien et al., 2012, *Biomolecules.* 2(4):435-466; Kalos et al., 2011, *Sci Transl Med.* 3(95):95ra73-95ra73; King et al., 2017, *Blood Adv.* 1(7):429-442; Kochenderfer et al., 2010, *Blood.* 116(20):4099-4102; Porter et al., 2011, *N Engl J Med.* 365(8):725-733; Posey et al., 2016, *Immunity.* 44(6):1444-1454; Prochazka et al., 2014, *Cell Signal.* 26(10):2234-2239; Radhakrishnan et al., 2014, *Proc Natl Acad Sci.* 111(39):E4066-E4075; Sneath et al., 1998, *Mol Pathol.* 51(4):191-200; Sorensen et al., 2006, *Glycobiology.* 16(2):96-107; Stanley, 2011, *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 3(4); Steentoft et al., 2013, *EMBO J.* 32(10):1478-1488; Steentoft et al., 2011, *Nat Methods.* 8(11):977-982; Stroemer et al., 2000, *Clin Cancer Res.* 6(8):3046-3055; Thapa et al., 2016, *Stem Cells Int.* 2016:1-15; Tijink et al., 2006, *Clin Cancer Res.* 12(20):6064-6072; Wanda et al., 2010, *Cancer Res.* 70(4):1306-1313を参照されたい。

【0006】

したがって、がん細胞で過剰発現されるグリコCD44エピトープの同定、ならびにこのようなグリコCD44エピトープを利用する新しい治療様式、例えば抗体およびCARが必要である。

【発明の概要】

【0007】

4. 要約

本開示は、グリコCD44のがん特異的なエピトープに選択的な抗体および抗原結合フラグメントに基づく治療剤および診断剤を提供することによってグリコペプチドバリエーションの腫瘍特異性を獲得する。

【0008】

本発明の開示は、CD44のがん特異的なグリコシル化バリエーションに結合する抗グリコCD44抗体およびその抗原結合フラグメントを提供する。本発明の開示は、さらに、抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントを含む融合タンパク質および抗体-薬物

10

【0009】

本発明の開示は、さらに、がん療法のための、抗グリコCD44抗体、抗原結合フラグメント、融合タンパク質、抗体-薬物コンジュゲートおよび核酸を使用する方法を提供する。

【0010】

特定の態様において、本開示は、CD44のがん特異的なグリコシル化バリエーションおよび第2のエピトープに結合する二重特異性および他の多重特異性抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントを提供する。第2のエピトープは、CD44それ自体の上にあるか、がん細胞上でCD44と共発現される別のタンパク質上にあるか、または異なる細胞上に、例えば活性化されたT細胞上に提示される別のタンパク質上にあるかのいずれかであってもよい。さらに、コドン最適化されたコード領域を含む核酸および特定の宿主細胞における発現のためにコドン最適化されていないコード領域を含む核酸を含む、このような抗体をコードする核酸も開示される。

20

【0011】

抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントは、融合パートナーを含有する融合タンパク質の形態であり得る。融合パートナーは、第2の機能、例えばT細胞シグナル伝達タンパク質のシグナル伝達ドメインのシグナル伝達機能、T細胞活性化のペプチドモジュレーター、または標識システムの酵素的な要素を提供するのに有用であり得る。例示的なT細胞シグナル伝達タンパク質としては、4-1BB、CD28、CD2、ならびに融合ペプチド、例えば、CD28-CD3-ゼータ、4-1BB-CD3-ゼータ、CD2-CD3-ゼータ、CD28-CD2-CD3-ゼータ、および4-1BB-CD2-CD3-ゼータが挙げられる。4-1BB、またはCD137は、T細胞の共刺激受容体であり、CD2は、TおよびNL細胞の共刺激受容体であり、CD3-ゼータは、T細胞抗原受容体のシグナル伝達要素である。第2の機能を提供する部分は、T細胞活性化のモジュレーター、例えばIL-15、IL-15R α 、またはIL-15/IL-15R α 融合体であってもよく、MicAボディ（MicAbody）の作製に有用なMHCクラスI鎖関連（MIC）タンパク質ドメインであってもよく、またはインビボまたはインビトロでの結合の程度および／または場所をモニターするのに有用な標識システムの標識または酵素的な要素をコードしていてもよい。T細胞、例えば自己T細胞の状況下に置かれた、これらの予防および治療活性を有する生体分子をコードするコンストラクトは、本開示の一部の実施形態において、様々ながんを防止または処置するための、養子導入されたT細胞を補充するための強力なプラットフォームを提供する。

30

40

【0012】

特定の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、表1A～1Eに記載の重鎖および／または軽鎖可変配列を含む（またはヌクレオチド配列によってコードされる）。明確にするために、この文書中で用語「抗グリコCD44抗体」が使用される場合、それは、文脈上別段の指示がない限り、単一特異性および多重特異性（二重特異性を含む）抗グリコCD44抗体、単一特異性および多重特異性抗体の抗原

50

結合フラグメント、ならびに抗体およびその抗原結合フラグメントを含有する融合タンパク質およびコンジュゲートを含むことが意図される。同様に、用語「抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント」が使用される場合、それはまた、文脈上別段の指示がない限り、単一特異性および多重特異性（二重特異性を含む）抗グリコCD44抗体およびその抗原結合フラグメントに加えて、このような抗体および抗原結合フラグメントを含有する融合タンパク質およびコンジュゲートも含むことが意図される。

【0013】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、表1～3に記載の重鎖および／または軽鎖CDR配列を含む（またはヌクレオチド配列によってコードされる）。表1A～1Eに記載のCDR配列は、CDRの境界を定義するための、IMGT (Lefranc et al., 2003, Dev Comparat Immunol 27:55-77)、Kabat (Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.)、およびChothia (Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol 273:927-948) のスキームに従って定義されるCDR配列を含む。表1F、1G、および1Hに記載のCDR配列は、それぞれIMGT、Kabat、およびChothiaの定義に従って、表1A～1Dに記載のCDR配列から得られたコンセンサス配列である。表1I、1J、および1Kに記載のCDR配列は、それぞれIMGT、Kabat、およびChothiaの定義に従って、表1A～1Eに記載のCDR配列から得られたコンセンサス配列である。表2A～2Eに記載のCDR配列は、それぞれ表1A～1Eに記載のCDR配列のオーバーラップの組み合わせられた領域であり、IMGT、KabatおよびChothiaの配列は下線の太字で示される。表2Fに記載のCDR配列は、表1F～1Hに記載のコンセンサスCDR配列のオーバーラップの組み合わせられた領域である。表2Gに記載のCDR配列は、表1I～1Kに記載のコンセンサスCDR配列のオーバーラップの組み合わせられた領域である。表3A～3Eに記載のCDR配列は、それぞれ、表1A～1Eに示されるCDR配列のオーバーラップの共通の領域である。表3Fに記載のCDR配列は、表1F～1Hに記載のCDR配列のオーバーラップの共通の領域である。表3Gに記載のCDR配列は、表1I～1Kに記載のCDR配列のオーバーラップの共通の領域である。このような抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントのフレームワーク配列は、表1A～1Dに記載のVHおよびVL配列の天然マウスフレームワーク配列であってもよいし、表1Eに記載のVHおよびVL配列の天然ウサギフレームワーク配列であってもよいし、または例えば表4A～4Gに記載されるような天然ではない（例えば、ヒト化またはヒト）フレームワーク配列であってもよい。

【0014】

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1A 4C8 配列		
説明	配列	配列番号
VH アミノ酸配列(予測された成熟)	QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWV KQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSS STAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGGGTLV TVSA	1
VL アミノ酸配列(予測された成熟)	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTSTGAVSIRNYANWVQ EKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITG AQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVL	2
CDR-H1 アミノ酸配列(IMG T の定義)	GYTFTSYW	3
CDR-H2 アミノ酸配列(IMG T の定義)	IYPRSGTT	4
CDR-H3 アミノ酸配列(IMG T の定義)	TRSGYDYPFVY	5
CDR-L1 アミノ酸配列(IMG T の定義)	TGAVSIRNY	6
CDR-L2 アミノ酸配列(IMG T の定義)	GTN	7
CDR-L3 アミノ酸配列(IMG T の定義)	ALLYSNYWV	8
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SYWMH	9
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	NIYPRSGTTNYDGYFKS	10
CDR-H3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SGYDYPFVY	11
CDR-L1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	RTSTGAVSIRNYAN	12
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	GTNNRAP	13

【 0 0 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

表 1A 4C8 配列		
説明	配列	配列番号
CDR-L3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	ALLYSNYWV	14
CDR-H1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GYTFTSY	15
CDR-H2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	YPRSGT	16
CDR-H3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	SGYDYPFVY	17
CDR-L1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	RTSTGAVSIRNYAN	18
CDR-L2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GTNNRAP	19
CDR-L3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	ALLYSNYWV	20
VH ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	CAGGTCCAACCTGCAGCAACCTGGGTCTGAACTGGTGA GGCCTGGAGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTC TGGCTACACATTCACCACTTACTGGATGCACTGGGTG AAGCAGAGGCCTGGGCAAGGCCTTGAGTGGATTGGA AATATTTATCCTCGTAGTGGTACTACTAACTACGATGG GTACTTCAAGAGTAAAGCCACACTGACTGTAGACACA TCCTCCAGCACGGCCTACATGCAGCTCAGTAGCCTGA CATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTTCTGTACAAGATC GGGATATGATTACCCTTTTGTCTTACTGGGGCCAGGGT ACTCTGGTCACTGTCTCTGCA	21
VL ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	CAGGCTGTTGTGACTCAGGAATCTGCACTCACCACAT CACCTGGTGAAACAGTCACACTCACTTGTGCGACAAG TACTGGGGCTGTTTCAATTAGAACTATGCCAACTGG GTCCAAGAAAAACCAGATCATTTATTCACTGGTCTAAT AGGTGGTACCAACAACCGAGCTCCAGGTGTTTCTGCC AGATTCTCAGGCTCCCTGATTGGAGACAAGGCTGCCC TCACCATCACAGGGGCACAGCCTGAGGATGAGGCGA TATATTTCTGTGCTCTATTATACAGCAATTATTGGGTGT TCGGTGGAGGAACCAAACTGACTGTCCTA	22

【 0 0 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表 1B 2B2 配列		
説明	配列	配列番号
VH アミノ酸配列(予測された成熟)	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWVRQSPERRLEWVAEISSGGSYTYYPDVTGRTISRDNANKN TLYLEMSSLRSEDTAMYVCARTVGEDWYFDVWGAGTT VTVSS	23
VL アミノ酸配列(予測された成熟)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISHYLNWYQQK PDGAVKLLIYSTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDIATYFCQQGYTLPFTFGSGTKLEIK	24
CDR-H1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	GFTFSSYA	25
CDR-H2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	ISSGGSYT	26
CDR-H3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	ARTVGEDWYFDV	27
CDR-L1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	QDISHY	28
CDR-L2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	STS	29
CDR-L3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	QQGYTLPFT	30
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SYAMS	31
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	EISSGGSYTYYPDVTG	32
CDR-H3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	TVGEDWYFDV	33
CDR-L1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	RASQDISHYLN	34
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	STSRLHS	35

【0017】

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

表 1B 2B2 配列		
説明	配列	配列番号
CDR-L3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	QQGYTLPFT	36
CDR-H1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GFTFSSY	37
CDR-H2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	SSGGSY	38
CDR-H3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	TVGEDWYFDV	39
CDR-L1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	RASQDISHYLN	40
CDR-L2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	STSRLHS	41
CDR-L3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	QQGYTLPFT	42
VH ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	GAAGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTG AAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCT CTGGATTCACTTTCAGTAGCTATGCCATGTCTTGGGT CGCCAGTCTCCAGAGAGGAGGCTGGAGTGGGTGCA GAAATTAGTAGTGGTGGTAGTTATACCTACTATCCAGA CACTGTGACGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAAT GCCAAGAACACCCTGTACCTGGAAATGAGCAGTCTGA GGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGGAC AGTAGGTGAGGACTGGTACTTCGATGTCTGGGGCGC AGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA	43
VL ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTG CCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGG CAAGTCAGGACATTAGTCATTATTTAACTGGTATCAG CAGAAACCAGATGGAGCTGTAAACTCCTGATCTACT CCACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACC ATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTT TTGCCAACAGGGTTATACGCTTCCATTACGTTTCGGC TCGGGGACAAAATTGGAAATAAAA	44

【0018】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

表 1C 18G9 配列		
説明	配列	配列番号
VH アミノ酸配列(予測された成熟)	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSSFGMHWV RQAPEKGLEWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNPK NTLFLQMTSLRSEDAMYYCARGSYRAMDYWGQGTSTV TVSS	45
VL アミノ酸配列(予測された成熟)	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSSVNYMFWYQQK PRSSPKPWYLTSLNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSM EAEDAATYYCQLWSSNPFTFGSGTKLEIK	46
CDR-H1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	GFTFSSFG	47
CDR-H2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	ISSGSSTI	48
CDR-H3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	ARGSYRAMDY	49
CDR-L1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	SSVNY	50
CDR-L2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	LTS	51
CDR-L3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	QLWSSNPFT	52
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SFGMH	53
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	YISSGSSTIYYADTVKG	54
CDR-H3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	GSYRAMDY	55
CDR-L1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SASSSVNYMF	56
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	LTSNLAS	57

【0019】

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

表 1C 18G9 配列		
説明	配列	配列番号
CDR-L3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	QLWSSNPFT	58
CDR-H1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GFTFSSF	59
CDR-H2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	SSGSST	60
CDR-H3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GSYRAMDY	61
CDR-L1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	SASSSVNYMF	62
CDR-L2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	LTSNLAS	63
CDR-L3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	QLWSSNPFT	64
VH ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTG CAGCCTGGAGGGTCCCGGAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACTTTTCAGTAGCTTTGGAATGCACTGGGT TCGTCAGGCTCCAGAGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGC ATACATTAGTAGTGGCAGTAGTACCATCTACTATGCAG ACACAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAA TCCCAAGAACACCCTGTTCTGCAAATGACCAGTCTA AGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGAG GGAGCTACAGGGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAA CCTCAGTCACCGTCTCCTCA	65
VL ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCACTCATGTCTGC ATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGC CAGCTCAAGTGTAATTACATGTTCTGGTACCAGCAG AAGCCAAGATCCTCCCCCAAACCCTGGATTTATCTCA CATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAG TGGCAGTGGGTCTGGGACCTCTTACTCTCTCACAATC AGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACT GCCAGCTGTGGAGTAGTAACCCATTACGTTCCGGCTC GGGGACAAAGTTGGAAATAAAA	66

【 0 0 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 1D 1D12 配列		
説明	配列	配列番号
VH アミノ酸配列(予測された成熟)	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSSFGIHWVR QAPKGLWVAYISSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNPKN TLFLQMTSLRSEDAMYVCARGSKVVAKSRGYWYFDV WGAGTTVTVSS	67
VL アミノ酸配列(予測された成熟)	DVVVTQTPLFLPVSFQDQVSIQRSSQSLANNYGITYLS WYLHRPGQSPQLLIYGISNRFSQVPDRFSGSGSGTDFTL KISTIKPEDLGMYYCLQGTHQPWTFGGGTKLEIK	68
CDR-H1 アミノ酸配列(IMG T の定義)	GFTFSSFG	69
CDR-H2 アミノ酸配列(IMG T の定義)	ISSGSSTI	70
CDR-H3 アミノ酸配列(IMG T の定義)	ARGSKVVAKSRGYWYFDV	71
CDR-L1 アミノ酸配列(IMG T の定義)	QSLANNYGITY	72
CDR-L2 アミノ酸配列(IMG T の定義)	GIS	73
CDR-L3 アミノ酸配列(IMG T の定義)	LQGTHQPWT	74
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SFGIH	75
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	YISSGSSTIYYADTVKG	76
CDR-H3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	GSKVVAKSRGYWYFDV	77
CDR-L1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	RSSQSLANNYGITYLS	78
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	GISNRFS	79

【 0 0 2 1 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

表 1D 1D12 配列		
説明	配列	配列番号
CDR-L3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	LQGTHQPWT	80
CDR-H1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GFTFSSF	81
CDR-H2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	SSGSST	82
CDR-H3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GSKVVAKSRGYWYFDV	83
CDR-L1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	RSSQSLANNYGITYLS	84
CDR-L2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GISNRFS	85
CDR-L3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	LQGTHQPWT	86
VH ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	GATGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTG CAGCCTGGAGGGTCCCGGAAACTCTCCTGTGCAGCC TCTGGATTCACATTTTCAGTAGTTTTGGAATTCAGTGGGT TCGTCAGGCTCCAGAGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGC ATACATAAGTAGTGGCAGTAGTACCATCTACTATGCAG ACACAGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAA TCCCAAGAACACCCTGTTCCCTGCAAATGACCACTCTA AGGTCTGAGGACACGGCCATGTATTACTGTGCAAGAG GGTCTAAGGTAGTAGCTAAGTCAAGGGGCTACTGGTA CTTCGATGTCTGGGGCGCAGGGACCAACGGTCACCGT CTCCTCA	87
VL ヌクレオチド配列(シグナル配列を含まず)	GATGTTGTGGTGACTCAAACCTCCACTCTTCCTGCCTG TCAGCTTTGGAGATCAAGTTTCTATCTCTTGCAAGGTCT AGTCAGAGTCTTGAAACAATTATGGGATCACCTATTTG TCTTGGTACCTGCACAGGCCTGGCCAGTCTCCCCAGC TCCTCATCTATGGGATTTCCAACAGATTTTCTGGGGTG CCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGTTTCAGGGACAGATT TCACACTCAAGATCAGCACAATAAAGCCTGAGGACTT GGGAATGTATTACTGCTTACAAGGTACACATCAGCCG TGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAA	88

【 0 0 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表 1E 10H4 配列		
説明	配列	配列番号
VH アミノ酸配列(予測された成熟)	QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTINTYHMGWFRQ APGKGLQYIGIVSHDVGTYATWAKGRFTISKTSSSTTVDL RMPSPTTEDTATYICARGPGYWTFNLWGQGTLVTVSS	206
VL アミノ酸配列(予測された成熟)	AQVLTQTPASVSAAVGGTVTINCQASQSVYNNNQLSWY QQKPGQPLKQLIYKASTLASGVPSRFGSGSGSQFTLTI SDLECDDAATYFCAGGYKGDIHPFGGGTEVVVK	207
CDR-H1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	GFTINTYH	208
CDR-H2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	VSHDVGTV	209
CDR-H3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	ARGPGYWTFNL	210
CDR-L1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	QSVYNNNQ	211
CDR-L2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	KAS	212
CDR-L3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	AGGYKGDIHP	213
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	TYHMG	214
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	IVSHDVGTYATWAKG	215
CDR-H3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	GPGYWTFNL	216
CDR-L1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	QASQSVYNNNQLS	217
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	KASTLAS	218

【 0 0 2 3 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

表 1E 10H4 配列		
説明	配列	配列番号
CDR-L3 アミノ酸配列 (Kabat の定義)	AGGYKGDIHP	219
CDR-H1 アミノ酸配列 (Chothia の定義)	GFTINTY	220
CDR-H2 アミノ酸配列 (Chothia の定義)	SHDVG	221
CDR-H3 アミノ酸配列 (Chothia の定義)	GPGYWTFNL	222
CDR-L1 アミノ酸配列 (Chothia の定義)	QASQSVYNNQLS	223
CDR-L2 アミノ酸配列 (Chothia の定義)	KASTLAS	224
CDR-L3 アミノ酸配列 (Chothia の定義)	AGGYKGDIHP	225
VH ヌクレオチド配列 (シグナル配列を含まず)	CAGAGCCTGGAGGAGAGCGGCGGCAGGCTGGTGAC CCCCGGCACCCCCCTGACCCTGACCTGCACCGCCAG CGGCTTCACCATCAACACCTACCACATGGGCTGGTTC AGGCAGGCCCGCGCAAGGGCCTGCAGTACATCGGC ATCGTGAGCCACGACGTGGGCACCTACTACGCCACC TGGGCCAAGGGCAGGTTCAACATCAGCAAGACCAGC AGCACCAACCGTGACCTGAGGATGCCAGCCCCACC ACCGAGGACACCGCCACCTACATCTGCGCCAGGGGC CCCGGCTACTGGACCTTCAACCTGTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTGACCGTGAGCAGC	226
VL ヌクレオチド配列 (シグナル配列を含まず)	GCCCAGGTGCTGACCCAGACCCCCGCCAGCGTGAGC GCCGCCGTGGGCGGCACCGTGACCATCAACTGCCAG GCCAGCCAGAGCGTGTACAACAACAACCAGCTGAGC TGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCTGAAGCAG CTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGCCAGCGGCGTG CCCAGCAGGTTCAAGGGCAGCGGCAGCGGCAGCCA GTTCAACCCTGACCATCAGCGACCTGGAGTGCGACGA CGCCGCCACCTACTTCTGCGCCGGCGGCTACAAGGG CGACATCCACCCCTTCGGCGGCGGCACCGAGGTGGT GGTGAAG	227

【 0 0 2 4 】

10

20

30

40

50

【表 6】

表 1F マウス CDR コンセンサス配列 – IMGT の定義		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	GX ₁ TFX ₂ SX ₃ X ₄	89
CDR-H2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄	90
CDR-L2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	X ₂₂ X ₂₃ X ₂₄	91
CDR-L3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	X ₂₉ X ₃₀ X ₃₁ X ₃₂ X ₃₃ X ₃₄ X ₃₅ X ₃₆ X ₃₇	92
X ₁ = Y または F; X ₂ = T または S; X ₃ = Y または F; X ₄ = W, A, または G; X ₈ = Y または S; X ₉ = P または S; X ₁₀ = R または G; X ₁₁ = S または G; X ₁₂ = G または S; X ₁₃ = T または Y; X ₁₄ = T または I; X ₂₂ = G, S, または L; X ₂₃ = T または I; X ₂₄ = N または S; X ₂₉ = A, Q, または L; X ₃₀ = L または Q; X ₃₁ = L, G, または W; X ₃₂ = Y, S, または T; X ₃₃ = S, T, または H; X ₃₄ = N, L, または Q; X ₃₅ = Y または P; X ₃₆ = W または F; X ₃₇ = Y または T		

【 0 0 2 5 】

【表 7】

表 1G マウス CDR コンセンサス配列 – Kabat の定義		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	SX ₃ X ₄ X ₅ X ₆	93
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₇ I X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁₅ YX ₁₆ X ₁₇ X ₁₈ X ₁₉ X ₂₀ X ₂₁	94
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₂₂ X ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ X ₂₇ X ₂₈	95
CDR-L3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₂₉ X ₃₀ X ₃₁ X ₃₂ X ₃₃ X ₃₄ X ₃₅ X ₃₆ X ₃₇	96
X ₃ = Y または F; X ₄ = W, A, または G; X ₅ = M または I; X ₆ = H または S; X ₇ = N, E, または Y; X ₈ = Y または S; X ₉ = P または S; X ₁₀ = R または G; X ₁₁ = S または G; X ₁₂ = G または S; X ₁₃ = T または Y; X ₁₄ = T または I; X ₁₅ = N または Y; X ₁₆ = D, P, または A; X ₁₇ = G または D; X ₁₈ = Y または T; X ₁₉ = F または V; X ₂₀ = K または T; X ₂₁ = S または G; X ₂₂ = G, S, または L; X ₂₃ = T または I; X ₂₄ = N または S; X ₂₅ = N または R; X ₂₆ = R または L; X ₂₇ = A, H, または F; X ₂₈ = P または S; X ₂₉ = A, Q, または L; X ₃₀ = L または Q; X ₃₁ = L, G, または W; X ₃₂ = Y, S, または T; X ₃₃ = S, T, または H; X ₃₄ = N, L, または Q; X ₃₅ = Y または P; X ₃₆ = W または F; X ₃₇ = Y または T		

10

20

30

40

50

【 0 0 2 6 】

【 表 8 】

表 1H マウス CDR コンセンサス配列 – Chothia の定義		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GX ₁ TFX ₂ SX ₃	97
CDR-H2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃	98
CDR-L2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	X ₂₂ X ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ X ₂₇ X ₂₈	99
CDR-L3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	X ₂₉ X ₃₀ X ₃₁ X ₃₂ X ₃₃ X ₃₄ X ₃₅ X ₃₆ X ₃₇	100
X ₁ = Y または F; X ₂ = T または S; X ₃ = Y または F; X ₈ = Y または S; X ₉ = P または S; X ₁₀ = R または G; X ₁₁ = S または G; X ₁₂ = G または S; X ₁₃ = T または Y; X ₂₂ = G, S, または L; X ₂₃ = T または I; X ₂₄ = N または S; X ₂₅ = N または R; X ₂₆ = R または L; X ₂₇ = A, H, または F; X ₂₈ = P または S; X ₂₉ = A, Q, または L; X ₃₀ = L または Q; X ₃₁ = L, G, または W; X ₃₂ = Y, S, または T; X ₃₃ = S, T, または H; X ₃₄ = N, L, または Q; X ₃₅ = Y または P; X ₃₆ = W または F; X ₃₇ = Y または T		

10

20

【 0 0 2 7 】

【 表 9 】

表 1I 全体の CDR コンセンサス配列 – IMGT の定義		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(IMGT の定義)	GX ₄₁ TX ₄₂ X ₄₃ X ₄₄ X ₄₅ X ₄₆	228
CDR-H2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	X ₅₁ X ₅₂ X ₅₃ X ₅₄ X ₅₅ X ₅₆ X ₅₇	229
CDR-L2 アミノ酸配列(IMGT の定義)	X ₆₅ X ₆₆ X ₆₇	230
CDR-L3 アミノ酸配列(IMGT の定義)	X ₇₂ X ₇₃ X ₇₄ X ₇₅ X ₇₆ X ₇₇ X ₇₈ X ₇₉ X ₈₀ X ₈₁	231
X ₄₁ = Y または F; X ₄₂ = F または I; X ₄₃ = T, S, または N; X ₄₄ = S または T; X ₄₅ = Y または F; X ₄₆ = W, A, G, または H; X ₅₁ = Y または S; X ₅₂ = P, S, または H; X ₅₃ = R, G, または D; X ₅₄ = S または G; X ₅₅ = G または S; X ₅₆ = T または Y; X ₅₇ = T, I, またはギャップ; X ₆₅ = G, S, L, または K; X ₆₆ = T, I, または A; X ₆₇ = N または S; X ₇₂ = A, Q, または L; X ₇₃ = L, Q, または G; X ₇₄ = L, G, または W; X ₇₅ = Y, S, または T; X ₇₆ = S, T, H, または K; X ₇₇ = N, L, Q, または G; X ₇₈ = Y, P, または D; X ₇₉ = W, F, または I; X ₈₀ = Y, T, または H; X ₈₁ = P または非存在		

30

40

50

【 0 0 2 8 】

【 表 1 0 】

表 1J 全体の CDR コンセンサス配列 – Kabat の定義		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₄₄ X ₄₅ X ₄₆ X ₄₇ X ₄₈	232
CDR-H2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₄₉ X ₅₀ X ₅₁ X ₅₂ X ₅₃ X ₅₄ X ₅₅ X ₅₆ X ₅₇ X ₅₈ YX ₅₉ X ₆₀ X ₆₁ X ₆₂ X ₆₃ X ₆₄	233
CDR-L2 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₆₅ X ₆₆ X ₆₇ X ₆₈ X ₆₉ X ₇₀ X ₇₁	234
CDR-L3 アミノ酸配列(Kabat の定義)	X ₇₂ X ₇₃ X ₇₄ X ₇₅ X ₇₆ X ₇₇ X ₇₈ X ₇₉ X ₈₀ X ₈₁	235
X ₄₄ = S または T; X ₄₅ = Y または F; X ₄₆ = W, A, G, または H; X ₄₇ = M または I; X ₄₈ = H, S, または G; X ₄₉ = N, E, Y, または I; X ₅₀ = I または V; X ₅₁ = Y または S; X ₅₂ = P, S, または H; X ₅₃ = R, G, または D; X ₅₄ = S または G; X ₅₅ = G または S; X ₅₆ = T または Y; X ₅₇ = T, I, またはギャップ; X ₅₈ = N または Y; X ₅₉ = D, P, または A; X ₆₀ = G, D, または T; X ₆₁ = Y, T または W; X ₆₂ = F, V, または A; X ₆₃ = K または T; X ₆₄ = S または G; X ₆₅ = G, S, L, または K; X ₆₆ = T, I, または A; X ₆₇ = N または S; X ₆₈ = N, R, または T; X ₆₉ = R または L; X ₇₀ = A, H, または F; X ₇₁ = P または S; X ₇₂ = A, Q, または L; X ₇₃ = L, Q, または G; X ₇₄ = L, G, または W; X ₇₅ = Y, S, または T; X ₇₆ = S, T, H, または K; X ₇₇ = N, L, Q, または G; X ₇₈ = Y, P, または D; X ₇₉ = W, F, または I; X ₈₀ = Y, T, または H; X ₈₁ = P または非存在		

【 0 0 2 9 】

【 表 1 1 】

表 1K 全体の CDR コンセンサス配列 – Chothia の定義		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(Chothia の定義)	GX ₄₁ TX ₄₂ X ₄₃ X ₄₄ X ₄₅	236
CDR-H2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	X ₅₁ X ₅₂ X ₅₃ X ₅₄ X ₅₅ X ₅₆	237
CDR-L2 アミノ酸配列(Chothia の定義)	X ₆₅ X ₆₆ X ₆₇ X ₆₈ X ₆₉ X ₇₀ X ₇₁	238
CDR-L3 アミノ酸配列(Chothia の定義)	X ₇₂ X ₇₃ X ₇₄ X ₇₅ X ₇₆ X ₇₇ X ₇₈ X ₇₉ X ₈₀ X ₈₁	239
X ₄₁ = Y または F; X ₄₂ = F または I; X ₄₃ = T, S, または N; X ₄₄ = S または T; X ₄₅ = Y または F; X ₅₁ = Y または S; X ₅₂ = P, S, または H; X ₅₃ = R, G, または D; X ₅₄ = S または G; X ₅₅ = G または S; X ₅₆ = T または Y; X ₆₅ = G, S, L, または K; X ₆₆ = T, I, または A; X ₆₇ = N または S; X ₆₈ = N, R, または T; X ₆₉ = R または L; X ₇₀ = A, H, または F; X ₇₁ = P または S; X ₇₂ = A, Q, または L; X ₇₃ = L, Q, または G; X ₇₄ = L, G, または W; X ₇₅ = Y, S, または T; X ₇₆ = S, T, H, または K; X ₇₇ = N, L, Q, または G; X ₇₈ = Y, P, または D; X ₇₉ = W, F, または I; X ₈₀ = Y, T, または H; X ₈₁ = P または非存在		

10

20

30

40

50

【 0 0 3 0 】

【 表 1 2 】

表 2A 4C8 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GYTFTSYWMH</u> (IMGT) GYTFT <u>SYWMH</u> (Kabat) <u>GYTFTSYWMH</u> (Chothia)	101
CDR-H2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>NIYPRSGTTNYDGYFKS</u> (IMGT) <u>NIYPRSGTTNYDGYFKS</u> (Kabat) <u>NIYPRSGT</u> TNYDGYFKS (Chothia)	102
CDR-H3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>TRSGYDYPFVY</u> (IMGT) TR <u>SGYDYPFVY</u> (Kabat) TR <u>SGYDYPFVY</u> (Chothia)	103
CDR-L1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	RTST <u>TGAVSIRNYAN</u> (IMGT) <u>RTSTGAVSIRNYAN</u> (Kabat) <u>RTSTGAVSIRNYAN</u> (Chothia)	104
CDR-L2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GTNNRAP</u> (IMGT) <u>GTNNRAP</u> (Kabat) <u>GTNNRAP</u> (Chothia)	105
CDR-L3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>ALLYSNYWV</u> (IMGT) <u>ALLYSNYWV</u> (Kabat) <u>ALLYSNYWV</u> (Chothia)	106

【 0 0 3 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表 2B 2B2 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GFTFSSYAMS</u> (IMGT) GFTFSS <u>YAMS</u> (Kabat) <u>GFTFSSYAMS</u> (Chothia)	107
CDR-H2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	E <u>ISSGGSYT</u> YYPDVTG (IMGT) <u>EISSGGSYTYPDVTG</u> (Kabat) E <u>ISSGGSY</u> TYYPDVTG (Chothia)	108
CDR-H3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>ARTVGEDWYFDV</u> (IMGT) ART <u>VGEDWYFDV</u> (Kabat) ART <u>VGEDWYFDV</u> (Chothia)	109
CDR-L1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	RAS <u>QDISHYLN</u> (IMGT) <u>RASQDISHYLN</u> (Kabat) <u>RASQDISHYLN</u> (Chothia)	110
CDR-L2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>STSRLHS</u> (IMGT) <u>STSRLHS</u> (Kabat) <u>STSRLHS</u> (Chothia)	111
CDR-L3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>QGGYTLPFT</u> (IMGT) <u>QGGYTLPFT</u> (Kabat) <u>QGGYTLPFT</u> (Chothia)	112

【 0 0 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 4】

表 2C 18G9 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GFTFSSFGMH</u> (IMGT) GFTFSS <u>FGMH</u> (Kabat) <u>GFTFSSF</u> GMH (Chothia)	113
CDR-H2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	Y <u>ISSGSSTI</u> YYADTVKG (IMGT) <u>YISSGSSTIYYADTVKG</u> (Kabat) Y <u>ISSGSSTI</u> YYADTVKG (Chothia)	114
CDR-H3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>ARGSYRAMDY</u> (IMGT) AR <u>GSYRAMDY</u> (Kabat) AR <u>GSYRAMDY</u> (Chothia)	115
CDR-L1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	SAS <u>SSVNYMF</u> (IMGT) <u>SASSSVNYMF</u> (Kabat) <u>SASSSVNYMF</u> (Chothia)	116
CDR-L2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>LTSNLAS</u> (IMGT) <u>LTSNLAS</u> (Kabat) <u>LTSNLAS</u> (Chothia)	117
CDR-L3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>QLWSSNPFT</u> (IMGT) <u>QLWSSNPFT</u> (Kabat) <u>QLWSSNPFT</u> (Chothia)	118

【 0 0 3 3 】

10

20

30

40

50

【表 1 5】

表 2D 1D12 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GFTFSSFG</u> IH (IMGT) GFTFSS <u>SFGIH</u> (Kabat) <u>GFTFSSF</u> GIH (Chothia)	119
CDR-H2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	Y <u>ISSGSST</u> IYYADTVKG (IMGT) <u>YISSGSSTIYYADTVKG</u> (Kabat) Y <u>ISSGSST</u> IYYADTVKG (Chothia)	120
CDR-H3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>ARGSKVVAKSRGYWYFDV</u> (IMGT) ARGSKVVAKSRGYWY <u>FDV</u> (Kabat) ARGSKVVAKSRGYWY <u>FDV</u> (Chothia)	121
CDR-L1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	RSS <u>QSLANNYGITYLS</u> (IMGT) <u>RSSQSLANNYGITYLS</u> (Kabat) <u>RSSQSLANNYGITYLS</u> (Chothia)	122
CDR-L2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GISNRFS</u> (IMGT) <u>GISNRFS</u> (Kabat) <u>GISNRFS</u> (Chothia)	123
CDR-L3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>LQGTHQPWT</u> (IMGT) <u>LQGTHQPWT</u> (Kabat) <u>LQGTHQPWT</u> (Chothia)	124

【 0 0 3 4 】

【表 1 6】

表 2E 10H4 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>GFTINTYHMG</u> (IMGT) GFTINT <u>YHMG</u> (Kabat) <u>GFTINTY</u> HMG (Chothia)	240
CDR-H2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>IVSHDVG</u> TYATWAKG (IMGT) <u>IVSHDVG</u> TYATWAKG (Kabat) IV <u>SHDVG</u> TYATWAKG (Chothia)	241
CDR-H3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>ARGPGYWTFNL</u> (IMGT) ARG <u>PGYWTFNL</u> (Kabat) ARG <u>PGYWTFNL</u> (Chothia)	242
CDR-L1 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	QAS <u>QSVYNNNQLS</u> (IMGT) <u>QASQSVYNNNQLS</u> (Kabat) <u>QASQSVYNNNQLS</u> (Chothia)	243
CDR-L2 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>KASTLAS</u> (IMGT) <u>KASTLAS</u> (Kabat) <u>KASTLAS</u> (Chothia)	244
CDR-L3 アミノ酸配列(組み合わせられたオーバーラップ)	<u>AGGYKGDIHP</u> (IMGT) <u>AGGYKGDIHP</u> (Kabat) <u>AGGYKGDIHP</u> (Chothia)	245

【 0 0 3 5 】

10

20

30

40

50

【表 1 7】

表 2F マウスコンセンサス CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	GX ₁ TFX ₂ SX ₃ X ₄ X ₅ X ₆	125
CDR-H2 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	X ₇ IX ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ X ₁₅ YX ₁₆ X ₁₇ X ₁₈ X ₁₉ X ₂₀ X ₂₁	126
CDR-L2 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	X ₂₂ X ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ X ₂₇ X ₂₈	127
CDR-L3 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	X ₂₉ X ₃₀ X ₃₁ X ₃₂ X ₃₃ X ₃₄ X ₃₅ X ₃₆ X ₃₇	128
X ₁ = Y または F; X ₂ = T または S; X ₃ = Y または F; X ₄ = W, A, または G; X ₅ = M または I; X ₆ = H または S; X ₇ = N, E, または Y; X ₈ = Y または S; X ₉ = P または S; X ₁₀ = R または G; X ₁₁ = S または G; X ₁₂ = G または S; X ₁₃ = T または Y; X ₁₄ = T または I; X ₁₅ = N または Y; X ₁₆ = D, P, または A; X ₁₇ = G または D; X ₁₈ = Y または T; X ₁₉ = F または V; X ₂₀ = K または T; X ₂₁ = S または G; X ₂₂ = G, S, または L; X ₂₃ = T または I; X ₂₄ = N または S; X ₂₅ = N または R; X ₂₆ = R または L; X ₂₇ = A, H, または F; X ₂₈ = P または S; X ₂₉ = A, Q, または L; X ₃₀ = L または Q; X ₃₁ = L, G, または W; X ₃₂ = Y, S, または T; X ₃₃ = S, T, または H; X ₃₄ = N, L, または Q; X ₃₅ = Y または P; X ₃₆ = W または F; X ₃₇ = Y または T		

【0 0 3 6】

【表 1 8】

表 2G 全体のコンセンサス CDR の組み合わせられたオーバーラップ配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	GX ₄₁ TX ₄₂ X ₄₃ X ₄₄ X ₄₅ X ₄₆ X ₄₇ X ₄₈	246
CDR-H2 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	X ₄₉ X ₅₀ X ₅₁ X ₅₂ X ₅₃ X ₅₄ X ₅₅ X ₅₆ X ₅₇ X ₅₈ YX ₅₉ X ₆₀ X ₆₁ X ₆₂ X ₆₃ X ₆₄	247
CDR-L2 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	X ₆₅ X ₆₆ X ₆₇ X ₆₈ X ₆₉ X ₇₀ X ₇₁	248
CDR-L3 アミノ酸配列 (組み合わせられたオーバーラップ)	X ₇₂ X ₇₃ X ₇₄ X ₇₅ X ₇₆ X ₇₇ X ₇₈ X ₇₉ X ₈₀ X ₈₁	249
X ₄₁ = Y または F; X ₄₂ = F または I; X ₄₃ = T, S, または N; X ₄₄ = S または T; X ₄₅ = Y または F; X ₄₆ = W, A, G, または H; X ₄₇ = M または I; X ₄₈ = H, S, または G; X ₄₉ = N, E, Y, または I; X ₅₀ = I または V; X ₅₁ = Y または S; X ₅₂ = P, S, または H; X ₅₃ = R, G, または D; X ₅₄ = S または G; X ₅₅ = G または S; X ₅₆ = T または Y; X ₅₇ = T, I, またはギャップ; X ₅₈ = N または Y; X ₅₉ = D, P, または A; X ₆₀ = G, D, または T; X ₆₁ = Y, T または W; X ₆₂ = F, V, または A; X ₆₃ = K または T; X ₆₄ = S または G; X ₆₅ = G, S, L, または K; X ₆₆ = T, I, または A; X ₆₇ = N または S; X ₆₈ = N, R, または T; X ₆₉ = R または L; X ₇₀ = A, H, または F; X ₇₁ = P または S; X ₇₂ = A, Q, または L; X ₇₃ = L, Q, または G; X ₇₄ = L, G, または W; X ₇₅ = Y, S, または T; X ₇₆ = S, T, H, または K; X ₇₇ = N, L, Q, または G; X ₇₈ = Y, P, または D; X ₇₉ = W, F, または I; X ₈₀ = Y, T, または H; X ₈₁ = P または非存在		

10

20

30

40

50

【 0 0 3 7 】

【 表 1 9 】

表 3A		
4C8 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(共通配列)	SY	129
CDR-H2 アミノ酸配列(共通配列)	YPRSGT	130
CDR-H3 アミノ酸配列(共通配列)	SGYDYPFVY	131
CDR-L1 アミノ酸配列(共通配列)	TGAVSIRNY	132
CDR-L2 アミノ酸配列(共通配列)	GTN	133
CDR-L3 アミノ酸配列(共通配列)	ALLYSNYWV	134

10

【 0 0 3 8 】

【 表 2 0 】

表 3B		
2B2 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(共通配列)	SY	135
CDR-H2 アミノ酸配列(共通配列)	SSGGSY	136
CDR-H3 アミノ酸配列(共通配列)	TVGEDWYFDV	137
CDR-L1 アミノ酸配列(共通配列)	QDISHY	138
CDR-L2 アミノ酸配列(共通配列)	STS	139
CDR-L3 アミノ酸配列(共通配列)	QQGYTLPFT	140

20

30

【 0 0 3 9 】

40

50

【表 2 1】

表 3C 18G9 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(共通配列)	SF	141
CDR-H2 アミノ酸配列(共通配列)	SSGSST	142
CDR-H3 アミノ酸配列(共通配列)	GSYRAMDY	143
CDR-L1 アミノ酸配列(共通配列)	SSVNY	144
CDR-L2 アミノ酸配列(共通配列)	LTS	145
CDR-L3 アミノ酸配列(共通配列)	QLWSSNPFT	146

10

【0 0 4 0】

【表 2 2】

20

表 3D 1D12 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(共通配列)	SF	147
CDR-H2 アミノ酸配列(共通配列)	SSGSST	148
CDR-H3 アミノ酸配列(共通配列)	GSKVVAKSRGYWYFDV	149
CDR-L1 アミノ酸配列(共通配列)	QSLANNYGITY	150
CDR-L2 アミノ酸配列(共通配列)	GIS	151
CDR-L3 アミノ酸配列(共通配列)	LQGTHQPWT	152

30

【0 0 4 1】

40

50

【表 2 3】

表 3E 10H4 IMGT、Kabat、および Chothia の CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列(共通配列)	TY	250
CDR-H2 アミノ酸配列(共通配列)	SHDVG	251
CDR-H3 アミノ酸配列(共通配列)	GPGYWTFNL	252
CDR-L1 アミノ酸配列(共通配列)	QSVYNNNQ	253
CDR-L2 アミノ酸配列(共通配列)	KAS	254
CDR-L3 アミノ酸配列(共通配列)	AGGYKGGDIHP	255

10

【0 0 4 2】

【表 2 4】

20

表 3F マウスコンセンサス CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列 (共通配列)	SX ₃	153
CDR-H2 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃	154
CDR-L2 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₂₂ X ₂₃ X ₂₄	155
CDR-L3 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₂₉ X ₃₀ X ₃₁ X ₃₂ X ₃₃ X ₃₄ X ₃₅ X ₃₆ X ₃₇	156
X ₃ = Y または F; X ₈ = Y または S; X ₉ = P または S; X ₁₀ = R または G; X ₁₁ = S または G; X ₁₂ = G または S; X ₁₃ = T または Y; X ₂₂ = G, S, または L; X ₂₃ = T または I; X ₂₄ = N または S; X ₂₉ = A, Q, または L; X ₃₀ = L または Q; X ₃₁ = L, G, または W; X ₃₂ = Y, S, または T; X ₃₃ = S, T, または H; X ₃₄ = N, L, または Q; X ₃₅ = Y または P; X ₃₆ = W または F; X ₃₇ = Y または T		

30

【0 0 4 3】

40

50

【表 2 5】

表 3G 全体のコンセンサス CDR の共通配列		
説明	配列	配列番号
CDR-H1 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₄₄ X ₄₅	256
CDR-H2 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₅₁ X ₅₂ X ₅₃ X ₅₄ X ₅₅ X ₅₆	257
CDR-L2 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₆₅ X ₆₆ X ₆₇	258
CDR-L3 アミノ酸配列 (共通配列)	X ₇₂ X ₇₃ X ₇₄ X ₇₅ X ₇₆ X ₇₇ X ₇₈ X ₇₉ X ₈₀	259
X ₄₄ = S または T; X ₄₅ = Y または F; X ₅₁ = Y または S; X ₅₂ = P, S, または H; X ₅₃ = R, G, または D; X ₅₄ = S または G; X ₅₅ = G または S; X ₅₆ = T または Y; X ₆₅ = G, S, L, または K; X ₆₆ = T, I, または A; X ₆₇ = N または S; X ₇₂ = A, Q, または L; X ₇₃ = L, Q, または G; X ₇₄ = L, G, または W; X ₇₅ = Y, S, または T; X ₇₆ = S, T, H, または K; X ₇₇ = N, L, Q, または G; X ₇₈ = Y, P, または D; X ₇₉ = W, F, または I; X ₈₀ = Y, T, または H		

10

20

【0044】

特定の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、表1～3に記載のCDR配列から選択されるCDRの組合せを含む。一部の実施形態において、CDR-H1は、配列番号3、9、15、25、31、37、47、53、59、69、75、81、89、93、97、101、107、113、119、125、129、135、141、147、153、208、214、220、228、232、236、240、246、250、または256のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、CDR-H2は、配列番号4、10、16、26、32、38、48、54、60、70、76、82、90、94、98、102、108、114、120、126、130、136、142、148、154、209、215、221、229、233、237、241、247、251、または257のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、CDR-H3は、配列番号5、11、17、27、33、39、49、55、61、71、77、83、103、109、115、121、131、137、143、149、210、216、222、242、または252のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、CDR-L1は、配列番号6、12、18、28、34、40、50、56、62、72、78、84、104、110、116、122、132、138、144、150、211、217、223、243、または253のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、CDR-L2は、配列番号7、13、19、29、35、41、51、57、63、73、79、85、91、95、99、105、111、117、123、127、133、139、145、151、155、212、218、224、230、234、238、244、248、254、または258のアミノ酸配列を含む。一部の実施形態において、CDR-L3は、配列番号8、14、20、30、36、42、52、58、64、74、80、86、92、96、100、106、112、118、124、128、134、140、146、152、156、213、219、225、231、235、239、245、249、255、または259のアミノ酸配列を含む。

30

40

【0045】

特定の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、グループIの番号付けされた実施形態13～275に記載のCDRの組合せのいずれかの

50

アミノ酸配列を含むCDRを含む。したがって、特定の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号89、配列番号93、配列番号97、配列番号125、配列番号153、配列番号228、配列番号232、配列番号236、配列番号246、または配列番号256のアミノ酸配列を含むCDR-H1；配列番号90、配列番号94、配列番号98、配列番号229、配列番号233、配列番号237のアミノ酸配列を含むCDR-H2；配列番号103、配列番号109、配列番号115、配列番号121、配列番号131、配列番号137、配列番号143、配列番号149、配列番号242、または配列番号252のアミノ酸配列を含むCDR-H3；配列番号104、配列番号110、配列番号116、配列番号122、配列番号132、配列番号138、配列番号144、配列番号150、配列番号234、または配列番号253のアミノ酸配列を含むCDR-L1；配列番号91、配列番号95、配列番号230、または配列番号234のアミノ酸配列を含むCDR-L2；および配列番号92または配列番号231のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む。

10

【0046】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号3～5の重鎖CDRおよび配列番号6～8の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号9～11の重鎖CDRおよび配列番号12～14の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号15～17の重鎖CDRおよび配列番号18～20の軽鎖CDRを含む。

20

【0047】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号25～27の重鎖CDRおよび配列番号28～30の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号31～33の重鎖CDRおよび配列番号34～36の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号37～39の重鎖CDRおよび配列番号40～42の軽鎖CDRを含む。

【0048】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号47～49の重鎖CDRおよび配列番号50～52の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号53～55の重鎖CDRおよび配列番号56～58の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号59～61の重鎖CDRおよび配列番号62～64の軽鎖CDRを含む。

30

【0049】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号69～71の重鎖CDRおよび配列番号72～74の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号75～77の重鎖CDRおよび配列番号78～80の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号81～83の重鎖CDRおよび配列番号84～86の軽鎖CDRを含む。

40

【0050】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号208～210の重鎖CDRおよび配列番号211～213の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号214～216の重鎖CDRおよび配列番号217～219の軽鎖CDRを含む。他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号220～222の重鎖CDRおよび配列番号223～225の軽鎖CDRを含む。

【0051】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配

50

列番号 101～103 の重鎖 C D R および 配列番号 104～106 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 107～109 の重鎖 C D R および 配列番号 110～112 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 113～115 の重鎖 C D R および 配列番号 116～118 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 119～121 の重鎖 C D R および 配列番号 122～124 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 240～242 の重鎖 C D R および 配列番号 243～245 の軽鎖 C D R を含む。

【0052】

他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 129～131 の重鎖 C D R および 配列番号 132～134 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 135～137 の重鎖 C D R および 配列番号 138～140 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 141～143 の重鎖 C D R および 配列番号 144～146 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 147～149 の重鎖 C D R および 配列番号 150～152 の軽鎖 C D R を含む。他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号 250～252 の重鎖 C D R および 配列番号 253～255 の軽鎖 C D R を含む。

【0053】

本開示の抗体および抗原結合フラグメントは、マウス、ウサギ、キメラ、ヒト化またはヒトであってもよい。例示的なヒト化配列は、表 4 A～4 G および グループ I I の番号付けされた実施形態に提供される（これはまた、このようなヒト化配列に関する組成物、核酸、宿主細胞、および使用も含む）。

【0054】

さらなる態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号 1 および 2 の重鎖および軽鎖可変領域を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する。さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 1 および 2 と、少なくとも 95%、98%、99%、または 99.5% の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0055】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号 23 および 24 の重鎖および軽鎖可変領域を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する。さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 23 および 24 と、少なくとも 95%、98%、99%、または 99.5% の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0056】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号 45 および 46 の重鎖および軽鎖可変領域を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する。さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 45 および 46 と、少なくとも 95%、98%、99%、または 99.5% の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0057】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号 67 および 68 の重鎖および軽鎖可変領域を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する。さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 67 および 68 と、少なくとも 95%、98%、99%、または 99.5% の配列同一性を有

する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗CD44抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0058】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号206および207の重鎖および軽鎖可変領域を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する。さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号206および207と、少なくとも95%、98%、99%、または99.5%の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗CD44抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0059】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、単鎖可変フラグメント(scfv)である。例示的なscfvは、軽鎖可変フラグメントのN末端側に重鎖可変フラグメントを含む。一部の実施形態において、scfv重鎖可変フラグメントおよび軽鎖可変フラグメントは、4~15アミノ酸のリンカー配列に共有結合している。scfvは、二重特異性T細胞エンゲージャーの形態であってもよいし、またはキメラ抗原受容体(CAR)内であってもよい。

【0060】

抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントは、単鎖可変フラグメントの多量体、二重特異性単鎖可変フラグメント、および二重特異性単鎖可変フラグメントの多量体の形態であってもよい。一部の実施形態において、単鎖可変フラグメントの多量体は、2価単鎖可変フラグメント、トリボディ(tribody)またはテトラボディ(tetraubody)から選択される。これらの実施形態の一部において、二重特異性単鎖可変フラグメントの多量体は、二重特異性T細胞エンゲージャーである。

【0061】

本開示の他の態様は、本開示の抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントをコードする核酸に及ぶ。一部の実施形態において、抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントをコードする核酸の部分は、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている。特定の態様において、本開示は、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、または配列番号206と少なくとも95%、98%、99%、または99.5%の配列同一性を有する重鎖ヌクレオチド配列、および配列番号2、配列番号24、配列番号46、配列番号68、または配列番号207と少なくとも95%、98%、99%、または99.5%の配列同一性を有する軽鎖ヌクレオチド配列によってコードされた、重鎖および軽鎖可変領域を有する抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントを提供する。核酸を含むベクター(例えば、レンチウイルスベクターなどのウイルスベクター)および宿主細胞も本開示の範囲内である。重鎖および軽鎖をコードする配列は、単一のベクターに存在していてもよいし、または別個のベクターに存在していてもよい。

【0062】

本開示のさらに別の態様は、本開示による、抗グリコCD44抗体、抗原結合フラグメント、核酸(または核酸の対)、ベクター(またはベクターの対)または宿主細胞、および生理学的に好適な緩衝剤、アジュバント、または希釈剤を含む医薬組成物である。

【0063】

本開示のさらに別の態様は、キメラ抗原受容体を作製する方法であって、コード領域の発現に好適な条件下で、本開示による核酸またはベクターを含む細胞をインキュベートすること、およびキメラ抗原受容体を収集することを含む、方法である。

【0064】

本開示の別の態様は、がんを検出する方法であって、生物学的サンプル(例えば、細胞、組織サンプル、または細胞外小胞)を、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントと接触させること、および抗体が生物学的サンプル(例えば、細胞、組織サンプル、または細胞外小胞)に結合するかどうかを検出することを含む方法である。

【0065】

10

20

30

40

50

本開示のさらに別の態様は、がんを検出することにおける使用のための、本開示による抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントである。

【0066】

本開示のさらに別の態様は、がんを処置する方法であって、それを必要とする対象に、予防または治療有効量の本開示による抗グリコCD44抗体、抗原結合フラグメント、核酸、ベクター、宿主細胞または医薬組成物を投与することを含む方法である。

【0067】

本開示のさらに別の態様は、がんの処置における使用のための、本開示による抗グリコCD44抗体、抗原結合フラグメント、核酸、ベクター、宿主細胞または医薬組成物である。

【0068】

本開示のさらに別の態様は、がんの処置のための医薬を製造するための、本開示による抗グリコCD44抗体、抗原結合フラグメント、核酸、ベクター、宿主細胞または医薬組成物の使用である。

【0069】

CD44v6ペプチドも本明細書で提供される。ペプチドは、12～30アミノ酸の長さであってもよく、配列番号165のアミノ酸4～13を含んでいてもよい。CD44v6ペプチドは、セクション6.10およびグループIの番号付けされた実施形態628～633に記載されている。ペプチドは、セクション6.10.1およびグループIの番号付けされた実施形態634～635に記載される通りに、組成物中に含まれていてもよい。CD44v6ペプチドは、動物において抗体を生産する、および／または動物において免疫応答を惹起するための方法で使用することができる。CD44v6ペプチドを使用するための方法は、セクション6.10.2およびグループIの番号付けされた実施形態636～639に記載されている。

【図面の簡単な説明】

【0070】

【図1-1】抗体4C8がTnグリコシル化CD44と特異的に結合することを示す図である。図1A：様々な濃度のグリコシル化されていない、およびTn-グリコシル化CD44およびMUC1に対する1μg/mLの4C8mAbを用いて実行されるELISA。図1B：BiacoreおよびOctet技術を使用して決定したCD44v6グリコペプチドに対する4C8mAbの親和性。図1C：α-ゴルジ、4C8mAb上清の様々な希釈物、α-CD44v6、およびマウスIgGアイソタイプ対照を使用したHaCaT WTおよびCOSMC KO細胞染色。図1D：4C8mAb、α-CD44v6、およびα-Tnを使用したHaCaT WTおよびCOSMC KO細胞免疫蛍光染色。図1E：ヒト線維芽細胞を含有するコラーゲンゲル上で器官型皮膚モデルに成長させ、固定し、パラフィンに包埋し、4C8mAbおよびα-CD44v6を使用して免疫蛍光法のために染色したHaCaT WTおよびCOSMC KO細胞。図1F：4C8mAbおよびα-CD44v6を使用して免疫蛍光法のために染色された健康なヒト皮膚からの生検。

【図1-2】（上記と同様。）

【図1-3】（上記と同様。）

【図2-1】抗体4C8が数種の原因性がん組織を選択的に染色することを示す図である。図2A：4C8mAb、α-CD44、およびマウスIgGアイソタイプ対照を使用して免疫組織化学のために染色された数種の癌腫および隣接する健康な組織の組織マイクロアレイ。図2B：各がんタイプにつきグレード1、グレード2、およびグレード3の癌腫に分けた、図2Aに描写された免疫組織化学で観察された強い、弱いおよび陰性の染色された組織切片の分布を示す表である。

【図2-2】（上記と同様。）

【図2-3】（上記と同様。）

【図2-4】（上記と同様。）

【図 3】4 C 8 C A R T 細胞が T n 陽性がん細胞を選択的に致死させることを示す図である。図 3 A : H a C a T W T および C O S M C K O 細胞と共培養された 4 C 8 C A R T 細胞 (コンストラクト 1) を用いて実行された細胞傷害性アッセイの結果。図 3 B : E L I S A によって分析された共培養上清中の I F N - γ の濃度。図 3 C : フローサイトメトリーを使用して評価された T 細胞活性化マーカーの発現。

【図 4】3 対 1 の比率で H a C a T W T および C O S M C K O 細胞と共培養された 4 C 8 C A R T 細胞を用いて実行された細胞傷害性アッセイの結果を示す図である。N V (ベクターなし) は、4 C 8 C A R が発現されない T 細胞単独である。N 末端における軽鎖 (L) (コンストラクト 1) の配向は、N 末端における重鎖 (コンストラクト 4) より有効であることが見出された。

10

【図 5 - 1】代表的な 4 C 8 C A R コンストラクト 1 ~ 8 の概略図である。図 5 A : コンストラクト 1 (L H - 4 C 8 - C D 8 a - C A R T) ; 図 5 B : コンストラクト 2 (L H - 4 C 8 - I g G 4 - C A R T) ; 図 5 C : コンストラクト 3 (L H - 4 C 8 - I g G 4 - ロング - C A R T) ; 図 5 D : コンストラクト 4 (H L - 4 C 8 - C D 8 a - C A R T) ; 図 5 E : コンストラクト 5 (H L - 4 C 8 - I g G 4 - C A R T) ; 図 5 F : コンストラクト 6 (H L - 4 C 8 - I g G 4 - ロング - C A R T) ; 図 5 G : コンストラクト 7 (L H x 2 - 4 C 8 - C D 8 - C A R T) ; 図 5 H : コンストラクト 8 (H L x 2 - 4 C 8 - C D 8 - C A R T) 。図 5 A ~ 5 H は、配列番号 1 8 4 として「(G G G G S) $\times$ 3」および配列番号 1 8 3 として「(G G G G S) $\times$ 1」を開示する。

20

【図 5 - 2】(上記と同様。)

【図 5 - 3】(上記と同様。)

【図 5 - 4】(上記と同様。)

【図 6】代表的な 1 0 H 4 C A R コンストラクトの概略図である。図 6 は、配列番号 1 8 4 として「(G G G G S) $\times$ 3」を開示する。

【図 7 - 1】代表的な 4 C 8 C A R - ノイラミニダーゼコンストラクト 1 ~ 5 の概略図である。図 7 A ~ 7 E は、配列番号 1 8 4 として「(G G G G S) $\times$ 3」および配列番号 3 1 5 として「6 $\times$ H i s」を開示する。

【図 7 - 2】(上記と同様。)

【図 7 - 3】(上記と同様。)

【図 8 - 1】ヒト化 4 C 8 抗体が T n - グリコシル化 C D 4 4 と結合することを示す図である。図 8 A ~ 8 H : 様々な濃度のグリコシル化されていない、および T n - グリコシル化 C D 4 4 および M U C 1 に対する 1 μ g / m L のヒト化 4 C 8 抗体候補 1 ~ 8 (示された通り) を用いて実行される E L I S A 。図 8 I : 様々な濃度のグリコシル化されていない、および T n - グリコシル化 C D 4 4 および M U C 1 に対する 1 μ g / m L の 4 C 8 m A b を用いて実行される E L I S A 。

30

【図 8 - 2】(上記と同様。)

【図 8 - 3】(上記と同様。)

【図 8 - 4】(上記と同様。)

【図 8 - 5】(上記と同様。)

【図 9 - 1】フローサイトメトリーによって決定された、ヒト化 4 C 8 候補 1 ~ 8 (それぞれ図 9 A ~ 9 H) および 4 C 8 m A b (図 9 I) の A 5 4 9 - C O S M C - K O 細胞への細胞結合を示す図である。

40

【図 9 - 2】(上記と同様。)

【図 9 - 3】(上記と同様。)

【図 9 - 4】(上記と同様。)

【図 9 - 5】(上記と同様。)

【発明を実施するための形態】

【0 0 7 1】

6. 詳細な説明

6. 1 抗体

50

CD44バリエーション領域内の潜在的な117 O-結合グリコシル化部位の各々は、治療用抗体の標的となる可能性を有する。どのグリコシル化部位が有効に標的化され得るかは未知である。CD44v6ドメインは単独で、13個の潜在的なO-結合グリコシル化部位を含み、そのうち4個はセリン、9個はスレオニンである。これらの部位の各々は、抗体標的として使用することができる可能性がある。本開示は、腫瘍細胞上に提示されるCD44v6の特異的なグリコフォームに向けられた新規の抗体を提供する。これらは、抗体4C8、2B2、18G9、1D12、および10H4によって例示される。4C8、2B2、18G9、および1D12は、CD44v6の特定のグリコフォームに存在するグリコシル化ペプチド、GYRQTPKEDSHSTTGTA A A（配列番号165）（「CD44v6グリコペプチド」）に結合するマウス抗体についてのスクリーニングにおいて特定されており、上記ペプチドは、腫瘍細胞上に提示されるCD44v6のグリコシル化パターンを模倣するように、下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上でGalNAcによりグリコシル化されている。10H4は、同じCD44v6グリコペプチドに結合するウサギ抗体についてのスクリーニングにおいて特定された。

10

【0072】

抗体4C8、2B2、18G9、1D12、および10H4によって例示される本開示の抗グリコCD44抗体は、がん診断および治療におけるツールとして有用である。

【0073】

したがって、特定の態様において、本開示は、腫瘍細胞上に提示されるCD44のグリコフォーム（本明細書では「グリコCD44」と称される）に、好ましくはCD44v6グリコペプチドに結合する抗体および抗原結合フラグメントを提供する。

20

【0074】

本開示の抗グリコCD44抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、遺伝子操作された、および／またはそれ以外の方法で性質が改変されたものであってもよく、例えば、これらに限定されないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、霊長類化抗体、単鎖抗体、二重特異性抗体、二重可変ドメイン抗体などが挙げられる。様々な実施形態において、抗体は、抗体の定常領域の全部または一部を含む。一部の実施形態において、定常領域は、IgA（例えば、IgA₁またはIgA₂）、IgD、IgE、IgG（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄）、およびIgMから選択されるアイソタイプである。具体的な実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体は、IgG₁の定常領域のアイソタイプを含む。

30

【0075】

用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用される場合、ハイブリドーマ技術を利用して産生された抗体に限定されない。モノクローナル抗体は、当業界において利用可能な、または公知のあらゆる手段によって、あらゆる真核、原核、またはファージクローンを含む単一のクローンに由来する。本発明の開示において有用なモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組換え、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組合せの使用を含む当業界において公知の様々な技術を使用して調製することができる。ヒトにおける抗グリコCD44抗体のインビボでの使用を含む本発明の開示の多くの使用において、キメラ、霊長類化、ヒト化、またはヒト抗体を、好適に使用することができる。

40

【0076】

用語「キメラ」抗体は、本明細書で使用される場合、非ヒト免疫グロブリン、例えばラットまたはマウス抗体由来の可変配列と、典型的にはヒト免疫グロブリンテンプレートから選ばれるヒト免疫グロブリン定常領域とを有する抗体を指す。キメラ抗体を産生するための方法は、当業界において公知である。例えば、この参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、Morrison, 1985, Science 229(4719):1202-7; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214-221; Gillies et al., 1985, J. Immunol. Methods 125:191-202; 米国特許第5,807,715号明細書; 第4,816,567号明細書; および第4,816,397号明細書を参照されたい。

【0077】

50

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化された」形態は、非ヒト免疫グロブリン由来の最小配列を含有するキメラ免疫グロブリンである。一般的に、ヒト化抗体は、C D R領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのC D R領域に相当し、フレームワーク（F R）領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のF R領域である、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全てを含むと予想される。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（F c）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンコンセンサス配列の少なくとも一部を含んでいてもよい。抗体ヒト化の方法は、当業界において公知である。例えば、全てが参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-7; Queenらの米国特許第5, 530, 101号明細書; 第5, 585, 089号明細書; 第5, 693, 761号明細書; 第5, 693, 762号明細書; および第6, 180, 370号明細書; 欧州特許第239400号明細書; P C T国際公開第91/09967号パンフレット; 米国特許第5, 225, 539号明細書; 欧州特許第592106号明細書; 欧州特許第519596号明細書; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28:489-498; Studnicka et al., 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 91:969-973; ならびに米国特許第5, 565, 332号明細書を参照されたい。

10

【0078】

「ヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体を含み、さらに、ヒト免疫グロブリンライブラリーから単離された抗体、または1つまたは複数のヒト免疫グロブリンに関してトランスジェニックであり、内因性免疫グロブリンを発現しない動物から単離された抗体を含む。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列由来の抗体ライブラリーを使用するファージディスプレイ方法などの当業界において公知の様々な方法によって作製することができる。これらのそれぞれが参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、米国特許第4, 444, 887号明細書および第4, 716, 111号明細書; ならびにP C T国際公開第98/46645号パンフレット; 国際公開第98/50433号パンフレット; 国際公開第98/24893号パンフレット; 国際公開第98/16654号パンフレット; 国際公開第96/34096号パンフレット; 国際公開第96/33735号パンフレット; および国際公開第91/10741号パンフレットを参照されたい。ヒト抗体はまた、機能的な内因性免疫グロブリンを発現できないが、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを使用することにより産生することもできる。例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、P C T国際公開第98/24893号パンフレット; 国際公開第92/01047号パンフレット; 国際公開第96/34096号パンフレット; 国際公開第96/33735号パンフレット; 米国特許第5, 413, 923号明細書; 第5, 625, 126号明細書; 第5, 633, 425号明細書; 第5, 569, 825号明細書; 第5, 661, 016号明細書; 第5, 545, 806号明細書; 第5, 814, 318号明細書; 第5, 885, 793号明細書; 第5, 916, 771号明細書; および第5, 939, 598号明細書を参照されたい。選択されたエピトープを認識する完全ヒト抗体は、「ガイドされる選択」と称される技術を使用して生成することができる。このアプローチにおいて、選択された非ヒトモノクローナル抗体、例えばマウス抗体は、同じエピトープを認識する完全ヒト抗体の選択をガイドするのに使用される（Jespers et al., 1988, Biotechnology 12:899-903を参照）。

20

30

40

【0079】

例示的なヒト化配列は、群I Iの番号付き実施形態（そのようなヒト化配列と関連する組成物、核酸、宿主細胞、および使用も含む）で説明される。ヒト化抗体および抗原結合フラグメントの可変領域配列は、表4 A～4 Gに示される。

【0080】

50

【表 2 6】

表 4A ヒト化重鎖配列-生殖系列 18		
説明	配列	配列 番号
HV1-18A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSRATLTVDST STAYMELRSLRSDDTAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLV TVSS	263
HV1-18A CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-18A CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-18A CDR-H3	TRSGYDYPF	264
HV1-18B	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKGRVLTLDTS TSTAYMELRSLRSDDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGTL VTVSS	265
HV1-18B CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-18B CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-18A CDR-H3	TRSGYDYPF	264
HV1-18C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHWVR QAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYAGYFQGRVLTLDTS STAYMELRSLRSDDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGTLV TVSS	266
HV1-18C CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-18C CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-18C CDR-H3	TRSGYDYPF	264
HV1-18 コンセンサ ス	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKGRVLTLDTS TSTAYMELRSLRSDDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGTL VTVSS	265
HV1-18 コンセンサ ス CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-18 コンセンサ ス CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-18 コンセンサ ス CDR-H3	TRSGYDYPF	264

【 0 0 8 1】

10

20

30

40

50

【表 2 7】

表 4B ヒト化重鎖配列-生殖系列 46		
説明	配列	配列 番号
HV1-46A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSRATLTVDST STAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLV TVSS	267
HV1-46A CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-46A CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-46A CDR-H3	TRSGYDYPFV	268
HV1-46B	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKSRVTLTVDT TSTVYMESSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGL VTVSS	269
HV1-46B CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-46B CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-46A CDR-H3	TRSGYDYPFV	268
HV1-46C	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYAGYFQGRVTLTVDT STSTVYMESSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGL LTVSS	270
HV1-46C CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-46C CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-46C CDR-H3	TRSGYDYPFV	268
HV1-46 コンセンサ ス	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKSRVTLTVDT TSTVYMESSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGL VTVSS	269
HV1-46 コンセンサ ス CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-46 コンセンサ ス CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-46 コンセンサ ス CDR-H3	TRSGYDYPFV	268

【0082】

10

20

30

40

50

【表 2 8】

表 4C ヒト化重鎖配列-生殖系列 69		
説明	配列	配列 番号
HV1-69A	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSRATLTVDTST STAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLV TVSS	271
HV1-69A CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV1-69A CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-69A CDR-H3	TRSGYDYPFV	268
HV1-69B	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKGRVTLTADT STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSS	272
HV1-69B CDR-H1	GYTFSSYW	273
HV1-69B CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-69A CDR-H3	TRSGYDYPFV	268
HV1-69C	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWIHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYAGYFQGRVTLTADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSS	274
HV1-69C CDR-H1	GYTFSSYW	273
HV1-69C CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-69C CDR-H3	TRSGYDYPFV	268
HV1-69 コンセンサ ス	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKGRVTLTADT STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSS	272
HV1-69 コンセンサ ス CDR-H1	GYTFSSYW	273
HV1-69 コンセンサ ス CDR-H2	IYPRSGTT	4
HV1-69 コンセンサ ス CDR-H3	TRSGYDYPFV	268

【0083】

10

20

30

40

50

【表 2 9】

表 4D ヒト化重鎖配列-生殖系列 4-1		
説明	配列	配列 番号
HV7-4-1A	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSRATLTVDST STAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLV TVSS	271
HV7-4-1A CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV7-4-1A CDR-H2	IYPRSGTTN	275
HV7-4-1A CDR-H3	TRSGYDYPFVY	5
HV7-4-1B	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKGRVTLTADT STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSS	272
HV7-4-1B CDR-H1	GYTFSSYW	273
HV7-4-1B CDR-H2	IYPRSGTTN	275
HV7-4-1A CDR-H3	TRSGYDYPFVY	5
HV7-4-1C	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWIHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYAGYFQGRVTLTADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSS	274
HV7-4-1C CDR-H1	GYTFSSYW	273
HV7-4-1C CDR-H2	IYPRSGTTN	275
HV7-4-1C CDR-H3	TRSGYDYPFVY	5
HV7-4-1 コンセンサ ス	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWV RQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNYDGYFKGRAVLSVDT SVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSS	276
HV7-4-1 コンセンサ ス CDR-H1	GYTFTSYW	3
HV7-4-1 コンセンサ ス CDR-H2	IYPRSGTTN	275
HV7-4-1 コンセンサ ス CDR-H3	TRSGYDYPFVY	5

【 0 0 8 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 0】

表 4E ヒト化軽鎖配列-生殖系列 43		
説明	配列	配列 番号
LV7-43A	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRTSTGAVSIRNYANWV QEKPGQAFRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGDKAALT LSGVQPEDEAEYFCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	277
LV7-43A CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV7-43A CDR-L2	GTN	7
LV7-43A CDR-L3	ALLYSNYWW	8
LV7-43B	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCATSTGAVSIRNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	278
LV7-43B CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV7-43B CDR-L2	GTN	7
LV7-43A CDR-L3	ALLYSNYWW	8
LV7-43C	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTIRNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	279
LV7-43C CDR-L1	TGAVTIRNY	280
LV7-43C CDR-L2	GTN	7
LV7-43C CDR-L3	ALLYSNYWW	8
LV7-43 コンセンサ ス	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCATSTGAVSIRNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	278
LV7-43 コンセンサ ス CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV7-43 コンセンサ ス CDR-L2	GTN	7
LV7-43 コンセンサ ス CDR-L3	ALLYSNYWW	8

【0 0 8 5】

10

20

30

40

50

【表 3 1】

表 4F ヒト化軽鎖配列—生殖系列 46		
説明	配列	配列 番号
LV7-46A	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRTSTGAVSIRNYANWV QEKPGQAFRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGDKAALT LSGAQPEDEAEYFCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	281
LV7-46A CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV7-46A CDR-L2	GTN	7
LV7-46A CDR-L3	ALLYSNYWW	8
LV7-46B	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	282
LV7-46B CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV7-46B CDR-L2	GTN	7
LV7-46A CDR-L3	ALLYSNYWW	8
LV7-46C	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTIRHYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	283
LV7-46C CDR-L1	TGAVTIRHY	284
LV7-46C CDR-L2	GTN	7
LV7-46C CDR-L3	ALLYSNYWW	8
LV7-46 コンセンサ ス	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWV QQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL	282
LV7-46 コンセンサ ス CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV7-46 コンセンサ ス CDR-L2	GTN	7
LV7-46 コンセンサ ス CDR-L3	ALLYSNYWW	8

【0086】

10

20

30

40

50

【表 3 2】

表 4G ヒト化軽鎖配列-生殖系列 61		
説明	配列	配列 番号
LV8-61A	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRTSTGAVSIRNYANWV QETPGQAFRGLIGGTNNRAPGVDPDRFSGSLLGDKAALTI TGAQADDESDFCALLYSNYWVFGGGTKLTVL	285
LV8-61A CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV8-61A CDR-L2	GTN	7
LV8-61A CDR-L3	ALLYSNYWV	8
LV8-61B	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWV QQTPGQAPRGLIGGTNNRAPGVDPDRFSGSLLGNKAALTI TGAQADDESDFCALLYSNYWVFGGGTKLTVL	286
LV8-61B CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV8-61B CDR-L2	GTN	7
LV8-61A CDR-L3	ALLYSNYWV	8
LV8-61C	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGTSSGAVSTRYYANWV QQTPGQAPRGLIGGTNNRSGVPDRFSGSLLGNKAALTI TGAQADDESDFCALLYSNYWVFGGGTKLTVL	287
LV8-61C CDR-L1	SGAVSTRYY	288
LV8-61C CDR-L2	GTN	7
LV8-61C CDR-L3	ALLYSNYWV	8
LV8-61 コンセンサ ス	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWV QQTPGQAPRGLIGGTNNRAPGVDPDRFSGSLLGNKAALTI TGAQADDESDFCALLYSNYWVFGGGTKLTVL	286
LV8-61 コンセンサ ス CDR-L1	TGAVSIRNY	6
LV8-61 コンセンサ ス CDR-L2	GTN	7
LV8-61 コンセンサ ス CDR-L3	ALLYSNYWV	8

【0087】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号3、4、および264の重鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号3、4、および268の重鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号273、4、および268の重鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号3、275、および5の重鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号273、275、および5の重鎖CDRを含む。

【0088】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号6、7、および8の軽鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号280、7、および8の軽鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号284、7、および8の軽鎖CDRを含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号288、7、および8の軽鎖CDRを含む。

【0089】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、(i)それぞれ、配列番号3、4、および264のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3、(ii)それぞれ、配列番号3、4、および268のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3、(iii)それぞれ、配列番号273、4、および268のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3、(iv)それぞれ、配列番号3、275、および5のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3；または(v)それぞれ、配列番号273、275、および5のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVH；ならびに(i)それぞれ、配列番号6、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3、(ii)それぞれ、配列番号280、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3、(iii)それぞれ、配列番号284、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3；または(iv)それぞれ、配列番号288、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVLを含む。

【0090】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ、配列番号3、4、および264のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVH、ならびにそれぞれ、配列番号6、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVLを含む。他の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ、配列番号3、275、および5のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVH、ならびにそれぞれ、配列番号6、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVLを含む。

【0091】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、HV1-18A（配列番号263）と命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列を有するVH、およびLV7-43A（配列番号：277）と命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列を有するVLを含む。他の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、HV7-4-1A（配列番号271）と命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列を有するVH、およびLV7-43A（配列番号277）と命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列を有するVLを含む。他の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、HV1-18A（配列番号263）と命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列を有するVH、およびLV7-46A（配列番号281）と命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列を有するVLを含む。他の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、HV7-4-1A（配列番号271）と命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列を有するVH、およびLV7-46A（配列番号281）と命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列を有するVLを含む。一部の実施形態において、第1の配列の同一性は、少なくと

も 97%、少なくとも 99%、または 100%であり、かつ／または第 2 の配列の同一性は、少なくとも 97%、少なくとも 99%、または 100%である。

【0092】

「霊長類化抗体」は、サル可変領域およびヒト定常領域を含む。霊長類化抗体を産生するための方法は、当業界において公知である。例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、米国特許第 5,658,570 号明細書；第 5,681,722 号明細書；および第 5,693,780 号明細書を参照されたい。

【0093】

本開示の抗グリコ CD44 抗体は、全長（無傷）抗体分子と、グリコ CD44 と結合することが可能な抗原結合フラグメントの両方を含む。抗原結合フラグメントの例としては、一例として、これらに限定されないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv フラグメント、単鎖 Fv フラグメントおよび単一ドメインフラグメントが挙げられる。

【0094】

Fab フラグメントは、軽鎖（CL）の定常ドメイン、および重鎖の第 1 の定常ドメイン（CH1）を含有する。Fab' フラグメントは、抗体のヒンジ領域からの 1 つまたは複数のシステインを含む重鎖 CH1 ドメインのカルボキシル末端における数個の残基の付加によって Fab フラグメントと異なる。F(ab') フラグメントは、F(ab')₂ ペプシン消化生成物のヒンジシステインにおけるジスルフィド結合の切断によって産生される。抗体フラグメントの追加の化学的カップリングは、当業者公知である。Fab および F(ab')₁ フラグメントは無傷抗体の Fc フラグメントを欠き、迅速に動物の循環から排除され、無傷抗体より少ない非特異的な組織結合を有する可能性がある（例えば、Wahl et al., 1983, J. Nucl. Med. 24:316 を参照）。

【0095】

「Fv」フラグメントは、完全な標的認識および結合部位を含有する抗体の最小フラグメントである。この領域は、しっかりとした非共有結合による会合での 1 つの重鎖可変ドメインおよび 1 つの軽鎖可変ドメインの二量体（V_H-V_L 二量体）からなる。この立体配置で、各可変ドメインの 3 つの CDR が相互作用して、V_H-V_L 二量体の表面上の標的結合部位が規定される。しばしば 6 つの CDR は、抗体に標的結合特異性を付与する。しかしながら、一部の場において、単一の可変ドメイン（または標的に特異的な 3 つの CDR のみを含む Fv の半分）であっても、結合部位全体より低い親和性ではあるが標的を認識してそれに結合する能力を有する場合がある。

【0096】

「単鎖 Fv」または「scFv」抗原結合フラグメントは、抗体の V_H および V_L ドメインを含み、この場合、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖中に存在する。一般的に、Fv ポリペプチドは、V_H ドメインと V_L ドメインとの間にポリペプチドリッカーをさらに含み、これは、scFv が標的結合にとって望ましい構造を形成することを可能にする。

【0097】

「単一ドメイン抗体」は、グリコ CD44 に十分な親和性を示す単一の V_H または V_L ドメインで構成される。具体的な実施形態において、単一ドメイン抗体は、ラクダ化抗体である（例えば、Riechmann, 1999, Journal of Immunological Methods 231:25-38 を参照）。

【0098】

また本開示の抗グリコ CD44 抗体は、二重特異性および他の多重特異性抗体であってもよい。二重特異性抗体は、同じまたは異なる抗原上の 2 つの異なるエピトープに対する結合特異性を有するモノクローナル抗体、多くの場合、ヒトまたはヒト化抗体である。本発明の開示において、結合特異性の一方は、グリコ CD44 に向けられていてもよく、他方は、他のあらゆる抗原、例えば、細胞表面タンパク質、受容体、受容体サブユニット、組織特異的抗原、ウイルス由来のタンパク質、ウイルスによってコードされたエンベロップタンパク質、細菌由来のタンパク質、または細菌表面タンパク質などに向けられていて

もよい。特定の実施形態において、二重特異性および他の多重特異性を有する抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントは、第2のCD44エピトープ、がん細胞上でCD44と共発現される別のタンパク質上のエピトープ、または活性化T細胞などの異なる細胞上に存在する別のタンパク質上のエピトープに特異的に結合する。本開示の二重特異性抗体は、IgG様式の二重特異性抗体および単鎖ベースの二重特異性抗体を含む。

【0099】

IgG様式の本開示の二重特異性抗体は、当業界において公知の様々な種類のIgG様式の二重特異性抗体のいずれか、例えば、クアドローマ二重特異性抗体、「ノブーインーホール (knobs-in-hole)」二重特異性抗体、二重特異性ドメイン交換抗体 (例えばCrossMab二重特異性抗体)、電荷対を有する二重特異性抗体、一般的な軽鎖二重特異性抗体、1アームの単鎖Fab-免疫グロブリンガンマ二重特異性抗体、ジスルフィドで安定化されたFv二重特異性抗体、DuetMab、制御されたFabアーム交換二重特異性抗体、鎖交換操作されたドメインボディの二重特異性抗体、2アームのロイシンジッパーヘテロ二量体モノクローナル二重特異性抗体、κλボディの二重特異性抗体、二重可変ドメイン二重特異性抗体、および交差二重可変ドメイン二重特異性抗体であってもよい。例えば、この参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495-497; Milstein and Cuello, 1983, Nature 305:537-40; Ridgway et al., 1996, Protein Eng. 9:617-621; Schaefer et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA 108:11187-92; Gunasekaran et al., 2010, J Biol Chem 285:19637-46; Fischer et al., 2015 Nature Commun 6:6113; Schanzer et al., 2014, J Biol Chem 289:18693-706; Metz et al., 2012 Protein Eng Des Sel 25:571-80; Mazor et al., 2015 MABs 7:377-89; Labrijn et al., 2013 Proc Natl Acad Sci USA 110:5145-50; Davis et al., 2010 Protein Eng Des Sel 23:195-202; Wranik et al., 2012, J Biol Chem 287:43331-9; Gu et al., 2015, PLoS One 10(5):e0124135; Steinmetz et al., 2016, MABs 8(5):867-78; Klein et al., 2016, mAbs, 8(6):1010-1020; Liu et al., 2017, Front. Immunol. 8:38; およびYang et al., 2017, Int. J. Mol. Sci. 18:48を参照されたい。

【0100】

一部の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、これらに限定されないが、科学および特許文献においてCrossMabと称されるドメイン交換抗体などの、ドメイン交換抗体である。例えば、Schaefer et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA 108:11187-92を参照されたい。ドメイン交換抗体 (例えば、CrossMab) 技術は、この参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、国際公開第2009/080251号パンフレット、国際公開第2009/080252号パンフレット、国際公開第2009/080253号パンフレット、国際公開第2009/080254号パンフレット、国際公開第2013/026833号パンフレット、国際公開第2016/020309号パンフレット、およびSchaefer et al., 2011, Proc Natl Acad Sci USA 108:11187-92で詳細に記載されている。簡単に言えば、ドメイン交換抗体技術は、正しい鎖会合を促進する、二重特異性IgGの1つのFabアーム内の重鎖と軽鎖との間のドメインの交差に基づく。本開示のドメイン交換二重特異性抗体は、重鎖と軽鎖との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgG (例えば、二重特異性IgG抗体の一方のアームのFab部分の重鎖および軽鎖が交換されている「CrossMab^{FAB}」抗体) であってもよい。他の実施形態において、本開示のドメイン交換二重特異性抗体は、可変重鎖と可変軽鎖との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgG (例えば、二重特異性IgG抗体の一方のアームのFab部分の重鎖および軽鎖の可変ドメインのみが交換されている「CrossMab^{VH-VL}」抗体) であってもよい。さらに他の実施形態において、本開示のドメイン交換二重特異性抗体は、定常重鎖と定常軽鎖との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgG (例えば、二重特異性IgG抗体の一方のアームのFab部分の重鎖および軽鎖の定常ド

メインのみが交換されている「CrossMab^{CH1-CL}」抗体）であってもよい。定常重鎖抗体と定常軽鎖抗体との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgGは、重鎖と軽鎖との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgG、および可変重鎖と可変軽鎖との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgGとは対照的に、予測された副産物を有さず、それゆえに、一部の実施形態において、定常重鎖と定常軽鎖との間のドメインの交差を有するFabアームを含む二重特異性IgGが好ましい。Klein et al., 2016, mAbs, 8(6):1010-1020を参照されたい。

【0101】

一部の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、制御されたFabアーム交換二重特異性抗体である。Fabアーム交換二重特異性抗体を作製するための方法は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、PCT国際公開第2011/131746号パンフレットおよびLabrijn et al., 2014 Nat Protoc. 9(10):2450-63に記載されている。簡単に言えば、制御されたFabアーム交換二重特異性抗体は、CH3ドメイン中に単一の一致する点突然変異を含有する2つの親IgG₁を別々に発現させること、インビトロで、酸化還元条件下で親IgG₁を混合して、半分子の組換えを可能にすること、および還元体を除去して鎖間のジスルフィド結合を再酸化し、それにより二重特異性抗体を形成することによって作製することができる。

【0102】

一部の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、「ボトルオープナー」、「mAb-Fv」、「mAb-scfv」、「中心-scfv」、「中心-Fv」、「1アーム中心-scfv」または「二重scfv」様式の二重特異性抗体である。これらの様式の二重特異性抗体は、参照によりそれらの内容の全体が本明細書に組み入れられる、PCT国際公開第2016/182751号パンフレットに記載されている。これらの様式の各々は、抗体重鎖のFcドメインの自己アセンブルの性質に頼っており、この性質によって、「単量体」を含有する2つのFcサブユニットがアセンブルして、「二量体」を含有するFcドメインになる。

【0103】

ボトルオープナー様式において、第1の単量体は、任意選択でリンカーを介して、FcサブユニットのN末端に共有結合しているscfvを含み、第2の単量体は、重鎖（VH、CH1、および第2のFcサブユニットを含む）を含む。ボトルオープナー様式の二重特異性抗体は、第2の単量体と対形成してFabを形成することが可能な軽鎖をさらに含む。

【0104】

mAb-Fv二重特異性抗体様式は、1つの重鎖単量体のC末端に結合している「余分の」VHドメインと、他の重鎖単量体に結合している「余分の」VLドメインとが、第3の抗原結合ドメインを形成することに因るものである。一部の実施形態において、mAb-Fv二重特異性抗体は、第1のVHドメイン、CH1ドメインおよび第1のFcサブユニットを含み、C末端に共有結合しているVLドメインを伴う、第1の単量体を含む。第2の単量体は、VHドメイン、CH1ドメイン、第2のFcサブユニット、および第2の単量体のC末端に共有結合しているVHを含む。C末端に結合している2つの可変ドメインは、Fvを構成する。mAb-Fvは、2つの軽鎖をさらに含み、これらは、第1および第2の単量体と会合した場合、Fabを形成する。

【0105】

mAb-scfv二重特異性様式は、mAbの単量体のうちの1つへの、scfvのC末端結合を使用して、第3の抗原結合ドメインを形成することに因るものである。したがって、第1の単量体は、第1の重鎖（VH、CH1および第1のFcサブユニットを含む）を含み、C末端に共有結合しているscfvを伴う。mAb-scfv二重特異性抗体は、第2の単量体（VH、CH1、および第1のFcサブユニットを含む）および2つの軽鎖をさらに含み、2つの軽鎖は、第1および第2の単量体と会合した場合、Fabを形

成する。

【0106】

中心-s c F v二重特異性様式は、m A b内の挿入されたs c F vドメインを使用して、第3の抗原結合ドメインを形成することに因るものである。s c F vドメインは、単量体のうちの1つのF cサブユニットとC H 1ドメインとの間に挿入されて、第3の抗原結合ドメインを提供する。したがって、第1の単量体は、V Hドメイン、C H 1ドメイン（および任意選択のヒンジ）ならびに第1のF cサブユニットを含んでいてもよく、s c F vは、任意選択のドメインリンカーを使用して、C H 1ドメインのC末端と第1のF cサブユニットのN末端との間で共有結合していてもよい。他の単量体は、標準のF a bサイド単量体であってもよい。中心-s c F v二重特異性抗体は、2つの軽鎖をさらに含み、これらは、第1および第2の単量体と会合した場合、F a bを形成する。

10

【0107】

中心-F v二重特異性様式は、挿入されたF vドメインを使用して、第3の抗原結合ドメインを形成することに因るものである。各単量体は、F vの構成成分を含有し得る（例えば、1つの単量体は、可変重鎖ドメインを含み、他方は可変軽鎖ドメインを含む）。したがって、1つの単量体は、任意選択でドメインリンカーを使用して、V Hドメイン、C H 1ドメイン、第1のF cサブユニット、およびC H 1ドメインのC末端と第1のF cサブユニットのN末端との間で共有結合しているV Lドメインを含んでいてもよい。他の単量体は、任意選択でドメインリンカーを使用して、V Hドメイン、C H 1ドメイン、第2のF cサブユニット、およびC H 1ドメインのC末端と第2のF cドメインのN末端との間で共有結合している追加のV Hドメインを含んでいてもよい。中心-F v二重特異性抗体は、2つの軽鎖をさらに含み、これらは、第1および第2の単量体と会合した場合、F a bを形成する。

20

【0108】

1アーム中心-s c F v二重特異性様式は、単にF cサブユニットを含む1つの単量体を含み、他の単量体は、挿入されたs c F vドメインを含み、したがって、第2の抗原結合ドメインを形成する。したがって、1つの単量体は、任意選択でドメインリンカーを使用して、V Hドメイン、C H 1ドメインおよび第1のF cサブユニットを含んでいてもよく、C H 1ドメインのC末端と第1のF cサブユニットのN末端との間で共有結合しているs c F vを伴っていてもよい。第2の単量体は、F cドメインを含んでいてもよい。この実施形態は、可変軽鎖ドメインおよび定常軽鎖ドメインを含む軽鎖をさらに利用し、これは第1の単量体と会合してF a bを形成する。

30

【0109】

二重s c F v二重特異性様式は、任意選択でリンカーを介して、第1のF cサブユニットのN末端に共有結合しているs c F vを含む第1の単量体と、任意選択でリンカーを介して、第2のF cサブユニットのN末端に共有結合しているs c F vを含む第2の単量体とを含む。

【0110】

本開示の二重特異性抗体は、第1および第2のサブユニットで構成されるF cドメインを含んでいてもよい。一実施形態において、F cドメインは、I g G F cドメインである。特定の実施形態において、F cドメインは、I g G₁ F cドメインである。別の実施形態において、F cドメインは、I g G₄ F cドメインである。より具体的な実施形態において、F cドメインは、S 2 2 8位におけるアミノ酸置換、特にアミノ酸置換S 2 2 8 P（K a b a t E Uインデックスの番号付け）を含むI g G₄ F cドメインである。本明細書において別段の指定がない限り、F cドメインまたは定常領域におけるアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MDにおいて説明されている、E Uインデックスとも呼ばれる、E U番号付けシステムに従う。このアミノ酸置換は、インビボにおいてI g G₄抗体のF a bアーム交換を低減させる（Stubenrauch et al., 2010, Drug Metabolism and

40

50

Disposition 38:84-91を参照)。さらなる特定の実施形態において、Fcドメインは、ヒトFcドメインである。よりさらに特定の実施形態において、Fcドメインは、ヒトIgG₁ Fcドメインである。ヒトIgG₁ Fc領域の例示的な配列は、配列番号166に示される。

【0111】

特定の実施形態において、Fcドメインは、Fcドメインの第1および第2のサブユニットの会合を促進する改変を含む。ヒトIgG Fcドメインの2つのサブユニット間の最も大規模なタンパク質-タンパク質相互作用の部位は、CH3ドメイン中にある。したがって、一実施形態において、前記改変は、FcドメインのCH3ドメイン中にある。

【0112】

具体的な実施形態において、Fcドメインの第1および第2のサブユニットの会合を促進する前記改変は、いわゆる「ノブ-イントゥーホール(knob-into-hole)」改変であり、これは、Fcドメインの2つのサブユニットの一方に「ノブ」の改変、およびFcドメインの2つのサブユニットの他方に「ホール」の改変を含む。ノブ-イントゥーホール技術は、例えば米国特許第5,731,168号明細書；米国特許第7,695,936号明細書；Ridgway et al., 1996, Prot Eng 9:617-621、およびCarter, J, 2001, Immunol Meth 248:7-15に記載されている。一般的に、本方法は、ヘテロ二量体形成を促進し、ホモ二量体形成を妨害するように、突起部が空洞に入ることができるように、第1のポリペプチドの境界に突起部(「ノブ」)、および第2のポリペプチドの境界に対応する空洞(「ホール」)を導入することを含む。突起部は、第1のポリペプチドの境界からの小さいアミノ酸側鎖をより大きい側鎖(例えばチロシンまたはトリプトファン)で置き換えることによって構築される。大きいアミノ酸側鎖をより小さいアミノ酸側鎖(例えばアラニンまたはスレオニン)で置き換えることによって、第2のポリペプチドの境界に、突起部と同一または類似のサイズを有するそれに見合った空洞が作り出される。

【0113】

したがって、一部の実施形態において、Fcドメインの第1のサブユニットのCH3ドメイン中のアミノ酸残基を、より大きい側鎖の体積を有するアミノ酸残基で置き換えることによって、第1のサブユニットのCH3ドメイン内に、第2のサブユニットのCH3ドメイン内の空洞に入ることができる突起部が生じ、Fcドメインの第2のサブユニットのCH3ドメイン中のアミノ酸残基を、より小さい側鎖の体積を有するアミノ酸残基で置き換えることによって、第2のサブユニットのCH3ドメイン内に、第1のサブユニットのCH3ドメイン内の突起部を入れることができる空洞が生じる。好ましくは、より大きい側鎖の体積を有する前記アミノ酸残基は、アルギニン(R)、フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、およびトリプトファン(W)からなる群から選択される。好ましくは、より小さい側鎖の体積を有する前記アミノ酸残基は、アラニン(A)、セリン(S)、スレオニン(T)、およびバリン(V)からなる群から選択される。突起部および空洞は、例えば部位特異的突然変異誘発によってポリペプチドをコードする核酸を変更することにより、またはペプチド合成により作製することができる。

【0114】

特定のこのような実施形態では、Fcドメインの第1のサブユニットにおいて、366位におけるスレオニン残基は、トリプトファン残基で置き換えられ(T366W)、Fcドメインの第2のサブユニットにおいて、407位におけるチロシン残基は、バリン残基で置き換えられ(Y407V)、任意選択で366位におけるスレオニン残基は、セリン残基で置き換えられ(T366S)、368位におけるロイシン残基は、アラニン残基で置き換えられている(L368A)(Kabata E Uインデックスによる番号付け)。さらなる実施形態では、Fcドメインの第1のサブユニットにおいて、加えて、354位におけるセリン残基は、システイン残基で置き換えられ(S354C)、または356位におけるグルタミン酸残基は、システイン残基で置き換えられ(E356C)(特に354位におけるセリン残基は、システイン残基で置き換えられている)、Fcドメインの第

2のサブユニットにおいて、加えて、349位におけるチロシン残基は、システイン残基によって置き換えられている（Y349C）（Kabat EUインデックスによる番号付け）。特定の実施形態において、Fcドメインの第1のサブユニットは、アミノ酸置換S354CおよびT366Wを含み、Fcドメインの第2のサブユニットは、アミノ酸置換Y349C、T366S、L368AおよびY407Vを含む（Kabat EUインデックスによる番号付け）。

【0115】

一部の実施形態において、静電ステアリング（例えば、Gunasekaran et al., 2010, J Biol Chem 285(25):19637-46に記載される通り）を使用して、Fcドメインの第1および第2のサブユニットの会合を促進することができる。

10

【0116】

一部の実施形態において、Fcドメインは、Fc受容体への結合および／またはエフェクター機能を低減する1つまたは複数のアミノ酸置換を含む。

【0117】

特定の実施形態において、Fc受容体は、Fcγ受容体である。一実施形態において、Fc受容体は、ヒトFc受容体である。一実施形態において、Fc受容体は、活性化Fc受容体である。具体的な実施形態において、Fc受容体は、活性化ヒトFcγ受容体であり、より具体的には、ヒトFcγRIIIa、FcγRIまたはFcγRIIIaであり、最も具体的には、ヒトFcγRIIIaである。一実施形態において、エフェクター機能は、補体依存性細胞傷害（CDC）、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）、抗体依存性細胞貪食（ADCP）、およびサイトカイン分泌の群から選択される1つまたは複数である。特定の実施形態において、エフェクター機能は、ADCCである。

20

【0118】

典型的には、同じ1つまたは複数のアミノ酸置換は、Fcドメインの2つのサブユニットのそれぞれに存在する。一実施形態において、1つまたは複数のアミノ酸置換は、FcドメインのFc受容体への結合親和性を低減する。一実施形態において、1つまたは複数のアミノ酸置換は、FcドメインのFc受容体への結合親和性を、少なくとも2分の1、少なくとも5分の1、または少なくとも10分の1にする。

【0119】

一実施形態において、Fcドメインは、E233、L234、L235、N297、P331およびP329の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む（Kabat EUインデックスによる番号付け）。より具体的な実施形態において、Fcドメインは、L234、L235およびP329の群から選択される位置にアミノ酸置換を含む（Kabat EUインデックスによる番号付け）。一部の実施形態において、Fcドメインは、アミノ酸置換L234AおよびL235Aを含む（Kabat EUインデックスによる番号付け）。このような実施形態の1つにおいて、Fcドメインは、IgG₁ Fcドメイン、特にヒトIgG₁ Fcドメインである。一実施形態において、Fcドメインは、P329位にアミノ酸置換を含む。より具体的な実施形態において、アミノ酸置換は、P329AまたはP329G、特にP329Gである（Kabat EUインデックスによる番号付け）。一実施形態において、Fcドメインは、P329位にアミノ酸置換を含み、E233、L234、L235、N297およびP331から選択される位置にさらなるアミノ酸置換を含む（Kabat EUインデックスによる番号付け）。より具体的な実施形態において、さらなるアミノ酸置換は、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297DまたはP331Sである。特定の実施形態において、Fcドメインは、P329、L234およびL235の位置にアミノ酸置換を含む（Kabat EUインデックスによる番号付け）。より特定の実施形態において、Fcドメインは、アミノ酸突然変異L234A、L235AおよびP329Gを含む（「P329GLALA」、「PGLALA」または「LALAPG」）。具体的には、特定の実施形態において、Fcドメインの各サブユニットは、アミノ酸置換L234A、L235AおよびP329Gを含む（Kabat EUインデックスの番号付け）、すなわち、Fcドメ

30

40

50

インの第1および第2のサブユニットのそれぞれにおいて、234位におけるロイシン残基は、アラニン残基で置き換えられ(L234A)、235位におけるロイシン残基は、アラニン残基で置き換えられ(L235A)、329位におけるプロリン残基は、グリシン残基によって置き換えられている(P329G)(Kabata EUインデックスによる番号付け)。このような実施形態の1つにおいて、Fcドメインは、IgG₁ Fcドメイン、特にヒトIgG₁ Fcドメインである。

【0120】

本開示の単鎖ベースの二重特異性抗体は、当業界において公知の様々な種類の単鎖ベースの二重特異性抗体、例えば二重特異性T細胞エンゲージャー(BiTE)、ダイアボディ、タンデムダイアボディ(tandab)、二重親和性リターゲティング分子(DART)、および二重特異性キラー細胞エンゲージャーのいずれかであり得る。例えば、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、Loffler et al., 2000, Blood 95: 2098-103; Holliger et al., 1993, Proc Natl Acad Sci USA, 90:6444-8; Kiprianov et al., 1999, Mol Biol 293:41-56; Johnson et al., 2010, Mol Biol 399:436-49; Wiernik et al., 2013, Clin Cancer Res 19:3844-55; Liu et al., 2017, Front. Immunol. 8:38; およびYang et al., 2017, Int. J. Mol. Sci. 18:48を参照されたい。

【0121】

一部の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、二重特異性T細胞エンゲージャー(BiTE)である。BiTEは、2つの抗原結合ドメインを有する単一のポリペプチド鎖分子であり、抗原結合ドメインの一方がT細胞抗原に結合し、第2の抗原結合ドメインが標的の表面上に提示される抗原に結合する(参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、PCT国際公開第05/061547号パンフレット; Baeyerle et al., 2008, Drugs of the Future 33: 137-147; Bargou, et al., 2008, Science 321:974-977を参照)。したがって、本開示のBiTEは、T細胞抗原に結合する抗原結合ドメイン、およびグリコCD44に向けられた第2の抗原結合ドメインを有する。

【0122】

一部の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、二重親和性リターゲティング分子(DART)である。DARTは、会合して(特に共有結合による相互作用を介して)少なくとも2つのエピトープ結合部位を形成する少なくとも2つのポリペプチド鎖を含み、これらのエピトープ結合部位は、同じエピトープを認識してもよいし、または異なるエピトープを認識してもよい。DARTのポリペプチド鎖のそれぞれは、免疫グロブリン軽鎖可変領域および免疫グロブリン重鎖可変領域を含むが、これらの領域は、相互作用してエピトープ結合部位を形成しない。そうではなく、DARTポリペプチド鎖の一方の(例えば、第1の)免疫グロブリン重鎖可変領域は、異なる(例えば、第2の)DART(商標)ポリペプチド鎖の免疫グロブリン軽鎖可変領域と相互作用して、エピトープ結合部位を形成する。同様に、DARTポリペプチド鎖の一方の(例えば、第1の)免疫グロブリン軽鎖可変領域は、異なる(例えば、第2の)DARTポリペプチド鎖の免疫グロブリン重鎖可変領域と相互作用して、エピトープ結合部位を形成する。DARTは、単一特異性、二重特異性、三重特異性などであってもよく、したがって、1、2、3またはそれより多くの異なるエピトープ(これらは、同じまたは異なる抗原のものであってもよい)と同時に結合することができる。DARTは、加えて、1価、2価、3価、4価、5価、6価などであってもよく、したがって、1、2、3、4、5、6つまたはそれより多くの分子と同時に結合することができる。DARTのこれら2つの特性(すなわち、特異性の程度および原子価)を組み合わせ、例えば、4価の(すなわち、エピトープの4つのセットと結合することが可能な)二重特異性抗体(すなわち、2つのエピトープと結合することが可能な)などを産生することができる。DART分子は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、PCT国際公開第2006/113665号パンフレット、国際公開第2008/157379号パンフレット、および国際公開第2010/080538号パンフレットに開示されている。

10

20

30

40

50

【0123】

本開示の二重特異性抗体の一部の実施形態において、結合特異性の1つは、グリコCD44に向けられ、他方は、免疫エフェクター細胞上で発現される抗原に向けられる。用語「免疫エフェクター細胞」または「エフェクター細胞」は、本明細書で使用される場合、活性化されて標的細胞の生存能に影響を与えることができる、哺乳動物免疫系中の細胞の天然レパートリー内の細胞を指す。免疫エフェクター細胞としては、リンパ球系細胞、例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、細胞傷害性T細胞を含むT細胞、またはB細胞が挙げられることに加えて、単球またはマクロファージ、樹状細胞および好中性顆粒球などの骨髄系細胞も、免疫エフェクター細胞とみなすことができる。したがって、前記エフェクター細胞は、好ましくは、NK細胞、T細胞、B細胞、単球、マクロファージ、樹状細胞または好中性顆粒球である。異常な細胞へのエフェクター細胞の動員は、エフェクター細胞が、それらが動員される異常な細胞を直接致死させるか、またはその致死を間接的に開始させることができるように、免疫エフェクター細胞が、異常な標的細胞のごく近傍にもたらされることを意味する。非特異的な相互作用を回避するために、本開示の二重特異性抗体は、体内の他の細胞と比較して、これらの免疫エフェクター細胞によって少なくとも過剰発現される免疫エフェクター細胞上の抗原を特異的に認識することが好ましい。免疫エフェクター細胞上に提示される標的抗原としては、CD3、CD8、CD16、CD25、CD28、CD64、CD89、NKGD2およびNKp46を挙げることができる。好ましくは、免疫エフェクター細胞上の抗原は、T細胞上で発現されるCD3である。

10

20

【0124】

「CD3」は、本明細書で使用される場合、別段の指定がない限り、霊長類（例えばヒト）、非ヒト霊長類（例えばカニクイザル）およびげっ歯類（例えばマウスおよびラット）などの哺乳動物を含むあらゆる脊椎動物源由来のあらゆる天然CD3を指す。この用語は、「全長」のプロセッシングされていないCD3に加えて、細胞中でのプロセッシングに起因するCD3のあらゆる形態を包含する。この用語はまた、CD3の天然に存在するバリエーション、例えば、スプライスバリエーションまたは対立遺伝子バリエーションも包含する。免疫エフェクター細胞上の最も好ましい抗原は、CD3イプシロン鎖である。この抗原は、異常な細胞へのT細胞の動員において非常に有効であることが示されている。したがって、本開示の二重特異性抗体は、好ましくは、CD3イプシロン鎖を特異的に認識する。ヒトCD3イプシロンのアミノ酸配列は、UniProt (www.uniprot.org) 受託番号P07766（バージョン144）、またはNCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_000724.1で示される。カニクイザル [カニクイザル (*Macaca fascicularis*)] CD3イプシロンのアミノ酸配列は、NCBI GenBank 番号BAB71849.1で示される。ヒトの治療的使用の場合、CD3結合ドメインがヒトCD3（例えば、ヒトCD3イプシロン鎖）に特異的に結合する二重特異性抗体が使用される。非ヒト動物や細胞株における前臨床試験の場合、CD3結合ドメインが前臨床試験に利用される種のCD3（例えば、霊長類の試験の場合、カニクイザルCD3）に特異的に結合する二重特異性抗体を使用することができる。

30

【0125】

本明細書で使用される場合、特定の種由来の標的抗原に「特異的に結合する」またはそれを「特異的に認識する」結合ドメインは、他の種由来の抗原への結合またはその認識を除外せず、したがって、結合ドメインの1つまたは複数が種間の交差反応性を有する抗体を包含する。例えば、ヒトCD3に「特異的に結合する」またはそれを「特異的に認識する」CD3結合ドメインはまた、カニクイザル (*cyomolgus*) CD3に結合する、またはそれを認識することもでき、逆もまた同様である。

40

【0126】

一部の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、CD3のエピトープとの結合に関して、モノクローナル抗体H2C（PCT国際公開第2008/119567号パンフレットに記載される）と競合することができる。他の実施形態において、本開示の二重特

50

異性抗体は、CD3のエピトープとの結合に関して、モノクローナル抗体V9 (Rodrigues et al., 1992, Int J Cancer Suppl 7:45-50および米国特許第6,054,297号明細書に記載される)と競合することができる。さらに他の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、CD3のエピトープとの結合に関して、モノクローナル抗体FN18 (Nooij et al., 1986, Eur J Immunol 19:981-984に記載される)と競合することができる。さらに他の実施形態において、本開示の二重特異性抗体は、CD3のエピトープとの結合に関して、モノクローナル抗体SP34 (Pessano et al., 1985, EMBO J 4:337-340に記載される)と競合することができる。

【0127】

本開示の抗グリコCD44抗体は、誘導体化された抗体を含む。例えば、ただし限定されないが、誘導体化された抗体は、典型的には、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、公知の保護／ブロック基による誘導体化、タンパク質分解による切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結によって改変される。様々な化学修飾のいずれも、これらに限定されないが、特異的な化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成などの公知の技術によって行うことができる。加えて、誘導体は、例えばambrixの技術を使用して、1つまたは複数の非天然アミノ酸を含有していてもよい(例えば、Wolfson, 2006, Chem. Biol. 13(10):1011-2を参照)。

【0128】

抗グリコCD44抗体または結合フラグメントは、少なくとも1つの定常領域が媒介する生物学的なエフェクター機能を変更するようにその配列が改変されている抗体またはフラグメントであり得る。例えば、一部の実施形態において、抗グリコCD44抗体は、改変されていない抗体と比べて、少なくとも1つの定常領域が媒介する生物学的なエフェクター機能を低減するように改変されてもよく、例えば、Fc受容体(FcγR)への結合を低減するように改変される。FcγRへの結合は、抗体の免疫グロブリン定常領域セグメントの、FcγR相互作用に必要な特定の領域を突然変異させることによって低減させることができる(例えば、Canfield and Morrison, 1991, J. Exp. Med. 173:1483-1491;およびLund et al., 1991, J. Immunol. 147:2657-2662を参照)。抗体のFcγR結合能の低減はまた、FcγR相互作用を頼る他のエフェクター機能、例えばオブソニン化、貪食および抗原依存性細胞傷害(「ADCC」)も低減することができる。

【0129】

本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または結合フラグメントは、少なくとも1つの定常領域が媒介する生物学的なエフェクター機能を獲得するか、または改変されていない抗体に比べて改善する、例えば、FcγR相互作用を強化するように改変された抗体および／または結合フラグメントを含む(例えば、米国特許出願公開第2006/0134709号明細書を参照)。例えば、本開示の抗グリコCD44抗体は、対応する野生型定常領域より大きい親和性でFcγRIIA、FcγRIIBおよび／またはFcγRIIAと結合する定常領域を有していてもよい。

【0130】

したがって、本開示の抗体は、オブソニン化、貪食、またはADCCの増加または減少を引き起こす、生物学的活性における変更を有していてもよい。このような変更は、当業界において公知である。例えば、ADCC活性を低減する、抗体における改変は、米国特許第5,834,597号明細書に記載されている。ADCCを低下させる例示的なバリエーションは、残基236が欠失し、残基234、235および237(EUの番号付けを使用)がアラニンで置換された「突然変異体3」に相当する(米国特許第5,834,597号明細書の図4に示される)。ADCCを低下させる別の例示的なバリエーションは、アミノ酸突然変異L234A、L235AおよびP329Gを含む(「P329G LALA」)。アミノ酸置換の「P329G LALA」の組合せは、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、PCT国際公開第2012/130831号パンフレットに記載される通り、ヒトIgG1 FcドメインのFcγ受容体(および補体)結合をほぼ完全

に無効にする。また、国際公開第2012/130831号パンフレットは、そのような突然変異体Fcドメインを調製する方法、およびFc受容体結合またはエフェクター機能などのその特性を決定するための方法を説明している。

【0131】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体は、低いレベルのフコースを有するか、またはフコースを欠く。フコースを欠く抗体は、特に低用量の抗体で、ADCC活性の強化との相関が示されている。Shields et al., 2002, J. Biol. Chem. 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, J. Biol. Chem. 278:3466-73を参照されたい。フコースが少ない抗体を調製する方法としては、ラット骨髓腫YB2/0細胞(ATCC CRL1662)での増殖が挙げられる。YB2/0細胞は、ポリペプチドのフコシル化に必要な酵素である α -1, 6-フコシルトランスフェラーゼをコードするFUT8 mRNAを低いレベルで発現する。

10

【0132】

一部の実施形態において、抗グリコCD44抗体または結合フラグメントは、二分されたオリゴ糖、例えば、Fcドメインに結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分されたオリゴ糖を含む。そのようなバリエーションは、上記に説明されている通り、フコシル化の低減および/またはADCC機能の改善を有し得る。そのような抗体バリエーションの例は、例えば、Umana et al., 1999, Nat Biotechnol 17:176-180; Ferrara et al., 2006, Biotechnol Bioeng 93: 851-861; 国際公開第99/54342号パンフレット; 国際公開第2004/065540号パンフレット; および国際公開第2003/011878号パンフレットにおいて説明されている。

20

【0133】

さらに別の態様において、抗グリコCD44抗体または結合フラグメントは、例えば、免疫グロブリン定常領域セグメントの、FcRn相互作用に關与する特定の領域を突然変異させることによって、胎児Fc受容体、FcRnへのその結合親和性を増加または減少させる改変を含む(例えば、国際公開第2005/123780号パンフレットを参照)。特定の実施形態において、IgGクラスの抗グリコCD44抗体は、重鎖定常領域のアミノ酸残基250、314、および428の少なくとも1つが、例えば250および428位、または250および314位、または314および428位、または250、314、および428位で、単独で、またはそれらのいずれかの組合せで置換されるように突然変異しており、具体的な組合せは250および428位である。250位の場合、置換されるアミノ酸残基は、スレオニン以外のいずれのアミノ酸残基であってもよく、例えば、これらに限定されないが、アラニン、システイン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニルアラニン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、リシン、ロイシン、メチオニン、アスパラギン、プロリン、グルタミン、アルギニン、セリン、バリン、トリプトファン、またはチロシンなどであってもよい。314位の場合、置換されるアミノ酸残基は、ロイシン以外のいずれのアミノ酸残基であってもよく、例えば、これらに限定されないが、アラニン、システイン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニルアラニン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、リシン、メチオニン、アスパラギン、プロリン、グルタミン、アルギニン、セリン、スレオニン、バリン、トリプトファン、またはチロシンなどであってもよい。428位の場合、置換されるアミノ酸残基は、メチオニン以外のいずれのアミノ酸残基であってもよく、例えば、これらに限定されないが、アラニン、システイン、アスパラギン酸、グルタミン酸、フェニルアラニン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、リシン、ロイシン、アスパラギン、プロリン、グルタミン、アルギニン、セリン、スレオニン、バリン、トリプトファン、またはチロシンなどであってもよい。好適なアミノ酸置換の具体的な組合せは、参照により本明細書に組み入れられる米国特許第7,217,797号明細書の表1で特定されている。このような突然変異は、FcRnへの結合を増加させ、それにより抗体を分解から保護し、その半減期を増加させる。

30

40

【0134】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント

50

は、例えば Jung and Pluckthun, 1997, Protein Engineering 10:9, 959-966 ; Yazaki et al., 2004, Protein Eng. Des Sel. 17(5):481-9. Epub 2004 Aug. 17 ; および米国特許出願第 2 0 0 7 / 0 2 8 0 9 3 1 号明細書に記載されるように、その超可変領域の 1 つまたは複数に挿入された 1 つまたは複数のアミノ酸を有する。

【0135】

診断適用に特に有用なさらに他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、検出可能な部分に取り付けられている。検出可能な部分としては、放射性部分、比色分子、蛍光部分、化学発光部分、抗原、酵素、検出可能なビーズ（例えば磁気または高電子密度（例えば、金ビーズ）、または別の分子に結合する分子（例えば、ビオチンまたはストレプトアビジン）が挙げられる。

10

【0136】

放射性同位体または放射性核種は、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I を挙げることができる。

【0137】

蛍光標識としては、ローダミン、ランタニド蛍光、フルオレセインおよびその誘導体、蛍光色素、GFP（GFPは「Green Fluorescent Protein（緑色蛍光タンパク質）」を表す）、ダンシル、ウンベリフェロン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルアルデヒド（phthalaldehyde）、およびフルオレサミンを挙げることができる。

【0138】

酵素標識としては、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、 β ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ（「G6PDH」）、アルファ-D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコースアミラーゼ、炭酸脱水酵素、アセチルコリンエステラーゼ、リゾチーム、リンゴ酸デヒドロゲナーゼおよびペルオキシダーゼを挙げることができる。

20

【0139】

化学発光標識または化学発光体（chemiluminescer）、例えばイソルミノール、ルミノールおよびジオキセタン。

【0140】

他の検出可能な部分としては、ビオチン、ジゴキシゲニンまたは5-ブロモデオキシウリジンなどの分子が挙げられる。

30

【0141】

また他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントを、検出システムにおいて使用して、例えば患者由来の生体試料などの試料中のバイオマーカーを検出してもよい。バイオマーカーは、タンパク質バイオマーカー（例えば、CD44の腫瘍関連グリコフォーム、例えばがん細胞（例えば、組織生検もしくは循環腫瘍細胞由来の）またはがん由来細胞外小胞の表面上またはそれらの中に存在する、例えば、下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上でGalNAcでグリコシル化されたCD44v6のグリコフォーム、GYRQTPKEDSHSTTGTA A A（配列番号165）（「CD44v6グリコペプチド」））であってよい。

40

【0142】

細胞外小胞（EV）は、ほとんど全ての細胞型から放出される脂質膜小胞である。EVは、タンパク質、RNA（例えば、mRNAならびに非コードRNA（マイクロRNA、トランスファーRNA、環状RNAおよび長鎖非コードRNA））ならびにDNAフラグメントなどの複雑な分子積荷を運搬する。EVの分子内容物は、起源となる細胞を主として反映し、したがって、細胞型特異性を示す。特に、がん由来EVは、親がん細胞が発現するがん特異的分子を含有し、それらを表面上に提示する（例えば、Yanez-Mo et al., 2015, J Extracell Vesicles. 4:27066 ; および Li et al., 2015, Cell Res. 25: 981-984を参照）。

【0143】

50

一実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、EVを含む試料（例えば、液体細胞診）においてバイオマーカーを検出する方法で使用される。そのような実施形態において、バイオマーカーは、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントによって認識される。バイオマーカーは、EVの表面上に提示され得る。バイオマーカーを検出する例示的な方法としては、これらに限定されないが、免疫沈降などのイムノアッセイ；ウェスタンブロット；ELISA；免疫組織化学；免疫細胞化学；フローサイトメトリー；およびイムノPCRが挙げられる。一部の実施形態において、イムノアッセイは、化学発光イムノアッセイであってもよい。一部の実施形態において、イムノアッセイは、ハイスループットおよび／または自動化イムノアッセイプラットフォームであってもよい。

10

【0144】

一部の実施形態において、試料においてバイオマーカーを検出する方法は、試料を、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントと接触させることを含む。一部の実施形態において、そのような方法は、試料を、1つまたは複数の検出標識と接触させることをさらに含む。一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、1つまたは複数の検出標識で標識化される。

【0145】

一部の実施形態において、捕捉アッセイは、液体細胞診試料などの試料からEVを選択的に捕捉するように行われ、EVについての捕捉アッセイの例示的な例は、この参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2021/0214806号明細書において説明されている。一部の実施形態において、捕捉アッセイは、ある特定のサイズ範囲および／またはある特定の特徴のEV、例えば、がんに関連付けられるEV（例えば、CD44の腫瘍関連グリコフォーム、例えばがん細胞またはがん由来細胞外小胞の表面上またはそれらの中に存在する、例えば、下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上でGalNAcでグリコシル化されたCD44v6のグリコフォーム、GYRQTPKEDSHSTTGTAAA（配列番号165）（「CD44v6グリコペプチド」））を選択的に捕捉するように行われる。一部のそのような実施形態において、捕捉アッセイを行う前に、試料は、これらに限定されないが、例えば、可溶性タンパク質および例えば細胞デブリなどの妨害物を含む非EVを除去するために前処理してもよい。一部の実施形態において、EVは、サイズ排除クロマトグラフィーを使用して試料から精製される。

20

30

【0146】

一部の実施形態において、バイオマーカーを検出するための方法は、個々のEVを分析すること（例えば、単一のEVアッセイ）を含む。例えば、そのようなアッセイは、（i）抗体捕捉アッセイなどの捕捉アッセイ、および（ii）少なくとも1つまたは複数の追加のバイオマーカーについての1つまたは複数の検出アッセイを含んでもよく、ここで、捕捉アッセイは、検出アッセイの前に行われる。例えば、米国特許出願公開第2021/0214806号明細書を参照されたい。

【0147】

一部の実施形態において、捕捉アッセイは、試料を、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントを含む少なくとも1つの捕捉剤と接触させる工程を含む。捕捉剤は、固体基板上に固定化され得る。固体基板は、EVを捕捉するために好適であり、かつ下流の操作、加工および／または検出に干渉しない形態で提供され得る。例えば、一部の実施形態において、固体基板は、ビーズ（例えば、磁気ビーズ）であるか、またはそれを含み得る。一部の実施形態において、固体基板は、表面であるか、またはそれを含み得る。例えば、一部の実施形態において、そのような表面は、アッセイチャンバー（例えば、管、ウェル、マイクロウェル、プレート、フィルター、膜、マトリックスなど）の捕捉表面であり得る。一部の実施形態において、捕捉剤は、磁気ビーズにコンジュゲートした捕捉部分（例えば、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント）を含む磁気ビーズであるか、またはそれを含む。例えば、米国特許出願公開第2021/021

40

50

4806号明細書を参照されたい。

【0148】

特定の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、4C8、または4C8の重鎖および軽鎖可変領域（それぞれ、配列番号1および2）を含む抗体もしくは抗原結合フラグメントと競合する。

【0149】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、2B2、または2B2の重鎖および軽鎖可変領域（それぞれ、配列番号23および24）を含む抗体もしくは抗原結合フラグメントと競合する。

【0150】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、18G9、または18G9の重鎖および軽鎖可変領域（それぞれ、配列番号45および46）を含む抗体もしくは抗原結合フラグメントと競合する。

【0151】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、1D12、または1D12の重鎖および軽鎖可変領域（それぞれ、配列番号67および68）を含む抗体もしくは抗原結合フラグメントと競合する。

【0152】

他の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、10H4、または10H4の重鎖および軽鎖可変領域（それぞれ、配列番号206および207）を含む抗体もしくは抗原結合フラグメントと競合する。

【0153】

競合は、4C8、2B2、18G9、1D12、もしくは10H4が結合するグリコCD44エピトープを発現する細胞上で、または4C8、2B2、18G9、1D12、もしくは10H4が結合するエピトープを含有するグリコシル化CD44ペプチド、例えばCD44v6グリコペプチド上でアッセイすることができる。エピトープを発現しない細胞、またはグリコシル化していないペプチドを、対照として使用してもよい。

【0154】

競合アッセイを行うことができる細胞としては、これらに限定されないが、COSMCノックアウトHaCaT細胞、およびグリコCD44エピトープを発現するように操作されている組換え細胞（例えば、COSMCノックアウトHEK293細胞）が挙げられる。1つの非限定的な例において、本質的にTn陰性であるが、COSMCシャペロンのノックアウトによってTn抗原を発現するように誘導され得るHEK293細胞は、CD44を発現するように操作され、4C8、2B2、18G9、1D12、および10H4が結合するCD44のTnグリコフォームを発現する細胞を産出する。CD44のグリコシル化されていない形態を発現する細胞を、陰性対照として使用することができる。また、Tn抗原を発現する細胞は、例えばCD44発現細胞をグリコシル化阻害剤で処理すること、コアー1シンターゼもしくはZIP9のノックアウトによって、または存在するグリカンの切断によって生成することができる。

【0155】

競合に関するアッセイとしては、これらに限定されないが、放射活性物質標識によるイムノアッセイ（RIA）、酵素結合免疫吸着検査法（ELISA）、サンドイッチELISA、蛍光活性化セルソーティング（FACS）アッセイ、表面プラズモン共鳴（例えば、Biacore）アッセイ、およびバイオレイヤー干渉法（BLI）アッセイが挙げられる。一部の実施形態において、抗体競合アッセイは、BLIを使用して（例えば、Octet-HTXシステム（Molecular Devices）を使用して）行うことができる。抗体競合またはモノクローナル抗体のエピトープマッピングは、BLIを使用してそれらの特異的抗原に対してタンデムで評価することができる。BLIアッセイにおいて、連続工程で、抗原をバイオセンサー上に固定化し、2つの競合する抗体に提示してもよい。第1の抗体による飽和が第2の抗体の結合を阻止しない場合、オーバーラップして

10

20

30

40

50

いないエピトープへの結合が起こる。一部の実施形態において、抗体競合アッセイは、表面プラズモン共鳴を使用して（例えば、Biacoreシステム（Cytiva）を使用して）行うことができる。表面プラズモン共鳴アッセイでは、1つまたは複数の抗体をバイオセンサー上に固定化し、分析物（例えば、配列番号165のグリコCD44v6ペプチド、または配列番号205もしくは配列番号260のグリコMUC1ペプチドもしくは配列番号165のグリコシル化していないCD44v6ペプチドなどの陰性対照分析物）を提示してもよい。一部の実施形態において、抗体は、飽和濃度、例えば少なくとも約0.5 μMの濃度の分析物と接触される。一部の実施形態において、飽和濃度は、約1 μM、約1.5 μM、または約2 μMである。2つの抗体の結合親和性を比較する場合、両方の抗体の親和性は、同じ濃度の両方の抗体を使用して好ましく測定され、例えば1 μMの濃度の各抗体を使用して測定される。

10

【0156】

参照抗体と試験抗体との間の抗体競合アッセイ（種またはアイソタイプに関わりなく）を実行することにおいて、最初に、後続の同定が可能になるように、検出可能な標識、例えばフルオロフォア、ビオチンまたは酵素標識（または放射性標識でも）で参照を標識してもよい。この場合、グリコCD44を発現する細胞は、標識されていない試験抗体とインキュベートされ、標識された参照抗体が添加され、結合した標識の強度が測定される。試験抗体が、オーバーラップするエピトープに結合することによって、標識された参照抗体と競合する場合、強度は、試験抗体なしで行われた対照反応と比較して減少すると予想される。

20

【0157】

このアッセイの具体的な実施形態において、アッセイ条件（例えば、特定された細胞密度）下における最大の結合の80%をもたらす標識された参照抗体の濃度（「conc_{80%}」）がまず決定され、競合アッセイは、10×conc_{80%}の標識されていない試験抗体およびconc_{80%}の標識された参照抗体を用いて行われる。

【0158】

阻害は、阻害定数、またはK_iとして表すことができ、これは、以下の式：

$$K_i = IC_{50} / (1 + [\text{参照Ab濃度}] / K_D)$$

に従って計算され、式中、IC₅₀は、参照抗体の結合の50%低減をもたらす試験抗体の濃度であり、K_Dは、参照抗体の解離定数であり、これは、グリコCD44に対するその親和性の尺度である。本明細書で開示される抗グリコCD44抗体と競合する抗体は、本明細書に記載されるアッセイ条件下で、10 pMから10 nMのK_iを有し得る。

30

【0159】

様々な実施形態において、使用される特定のアッセイ条件下で最大の結合の80%である参照抗体濃度、および参照抗体濃度の10倍高い試験抗体濃度で、少なくとも約20%もしくはそれより多く、例えば、少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%もしくはそれよりさらに多く、または前述の値のいずれかの間の範囲のパーセンテージで、試験抗体が参照抗体の結合を減少させる場合、試験抗体は参照抗体と競合するとみなされる。

【0160】

競合アッセイの一例では、プレートにペプチドの溶液と接触させること（例えば、PBS中の1 μg/mLの濃度で4℃において一晚）によって、CD44v6グリコペプチドを、固体表面、例えばマイクロウェルプレート上に接着させる。プレートを洗浄し（例えば、PBS中の0.1% Tween 20）、ブロッキングする（例えば、Superblock、Thermo Scientific、Rockford, ILで）。ELISA緩衝液（例えば、PBS中の1% BSAおよび0.1% Tween 20）中の飽和未満の量のビオチン化4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4（例えば、80 ng/mLの濃度での）および連続希釈した（例えば、2.8 μg/mL、8.3 μg/mL、または25 μg/mLの濃度での）標識されていない抗体（「参照」抗体）または競合する抗グリコCD44抗体（「試験」抗体）の混合物をウェルに添加し、プレー

40

50

トを穏やかに振盪しながら1時間インキュベートする。プレートを洗浄し、各ウェルにELISA緩衝液で希釈した $1\mu\text{g}/\text{mL}$ の、HRPがコンジュゲートしたストレプトアビジンを添加し、プレートを1時間インキュベートする。プレートを洗浄し、基質（例えば、TMB、Biofx Laboratories Inc.、Owings Mills、MD）の添加によって結合した抗体を検出する。停止緩衝液（例えば、Bio FX Stop試薬、Biofx Laboratories Inc.、Owings Mills、MD）の添加によって反応を止め、マイクロプレートリーダー（例えば、VERSAmax、Molecular Devices、Sunnyvale、CA）を使用して、吸光度を 650nm で測定する。

【0161】

4C8、2B2、18G9、1D12、10H4と別の抗グリコCD44抗体との競合を試験するのに、この競合アッセイにおけるバリエーションも使用することができる。例えば、特定の態様において、抗グリコCD44抗体は参照抗体として使用され、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4は試験抗体として使用される。加えて、配列番号165のグリコシル化CD44ペプチドの代わりに、培養中に細胞表面上で（例えば上述の細胞型の1つの表面上で）発現される膜結合型グリコCD44を使用してもよい。一般的に、約 10^4 から 10^6 個の形質転換体、例えば、約 10^5 個の形質転換体を使用される。競合アッセイの他の様式は当業界において公知であり、採用することができる。

【0162】

様々な実施形態において、抗グリコCD44抗体が、 $0.08\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $0.4\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $50\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で、または前述の値のいずれかの間の範囲の濃度で（例えば、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ から $10\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲の濃度で）使用される場合、本開示の抗グリコCD44抗体は、標識された4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4の結合を、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または前述の値のいずれかの間の範囲のパーセンテージで低減させる（例えば、本開示の抗グリコCD44抗体は、標識された4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4の結合を、50%から70%低減させる）。

【0163】

他の実施形態において、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4が、 $0.4\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $50\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 $250\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で、または前述の値のいずれかの間の範囲の濃度で（例えば、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ から $10\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲の濃度で）使用される場合、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4は、標識された本開示の抗グリコCD44抗体の結合を、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または前述の値のいずれかの間の範囲のパーセンテージで低減させる（例えば、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4は、標識された本開示の抗グリコCD44抗体の結合を、50%から70%低減させる）。

【0164】

前述のアッセイにおいて、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4抗体は、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4のCDRまたは重鎖および軽鎖可変領域を含むあらゆる抗体または抗原結合フラグメント、例えば4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4のヒト化またはキメラカウンターパートで置き換えることができる。

【0165】

特定の態様において、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、4C8、2B2、18G9、1D12、または10H4のエピトープと同じまたは類似するエピトープを有する。本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントのエピトープは、アラニンスキャニングを行うことによって特徴付けることができる。グリコ

10

20

30

40

50

ペプチドのライブラリーは、グリコペプチド各々が、配列番号 165 の 1 つの位置でのアラニン点突然変異によって CD44v6 グリコペプチドとは異なっている（または、CD44 ペプチドがアラニンを有する場合は、グリシン点突然変異によって異なっている）。ELISA によって、ペプチドの各々への抗体または抗原結合フラグメントの結合を測定することによって、抗体または抗原結合フラグメントのエピトープをマッピングすることができる。

【0166】

特定の態様において、本開示の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメントは、表 1A～1E に記載の重鎖および／または軽鎖可変配列を含む（またはヌクレオチド配列によってコードされる）。他の態様において、本開示の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメントは、表 1～3 に記載の重鎖および／または軽鎖 CDR 配列を含む（またはヌクレオチド配列によってコードされる）。このような抗グリコ CD44 抗体および抗原結合フラグメントのフレームワーク配列は、表 1A～1D に記載の VH および VL 配列の天然マウスフレームワーク配列か、表 1E に記載の VH および VL 配列の天然ウサギフレームワーク配列であってもよいし、または非天然（例えば、ヒト化もしくはヒト）フレームワーク配列であってもよい。

10

【0167】

さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 1 および 2 と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 CD44 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

20

【0168】

さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 23 および 24 と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 CD44 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0169】

さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 45 および 46 と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 CD44 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0170】

さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 67 および 68 と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 CD44 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

30

【0171】

さらに他の態様において、本開示は、それぞれ配列番号 206 および 207 と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を有する抗 CD44 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

【0172】

さらに他の態様において、本開示は、表 4A～D（例えば、配列番号 263、265、266、267、269、270、271、272、274、または 276）に記載の重鎖可変領域と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する重鎖可変領域、および表 4E～G（例えば、配列番号 277、278、279、281、282、283、285、286、または 287）の軽鎖可変領域と少なくとも 95 %、98 %、99 %、または 99.5 % の配列同一性を有する軽鎖可変領域を有する抗 CD44 抗体または抗原結合フラグメントを提供する。

40

【0173】

さらに他の態様において、本開示の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメントは、単鎖可変フラグメント（scFv）である。例示的な scFv は、軽鎖可変フラグメントの N 末端側に重鎖可変フラグメントを含む。別の例示的な scFv は、重鎖可変フラグメントの N 末端側に軽鎖可変フラグメントを含む。一部の実施形態において、scFv の重鎖可変フラグメントおよび軽鎖可変フラグメントは、4～15 アミノ酸のリンカー配

50

列に共有結合している。s c F v は、二重特異性 T 細胞エンゲージャーの形態であってもよいし、またはキメラ抗原受容体 (C A R) 内であってもよい。

【0174】

6.2 抗体-薬物コンジュゲート

本開示の別の態様は、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体および抗原結合フラグメントを含む抗体薬物コンジュゲート (A D C) に関する。A D C は、一般的に、1 つまたは複数のリンカーによって 1 つまたは複数の細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質が連結された、本明細書に記載される抗グリコ C D 4 4 抗体および／または結合フラグメントを含む。具体的な実施形態において、A D C は、構造式 (I) :

$[D-L-XY]_n-A b$

による化合物またはその塩であり、式中、各「D」は、それぞれ独立して、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質(「薬物」)を表し；各「L」は、それぞれ独立して、リンカーを表し；「A b」は、抗グリコ C D 4 4 抗原結合ドメイン、例えば本明細書に記載される抗グリコ C D 4 4 抗体または結合フラグメントを表し；各「X Y」は、リンカー上の官能基 R^x と抗体上の「相補的」官能基 R^y との間で形成された連結を表し、n は、A D C に連結された薬物の数、または A D C の薬物対抗体の比率 (D A R) を表す。

【0175】

A D C を含み得る様々な抗体 (A b) の具体的な実施形態としては、上述した抗グリコ C D 4 4 抗体および／または結合フラグメントの様々な実施形態が挙げられる。

【0176】

構造式 (I) の A D C および／または塩の一部の具体的な実施形態において、各 D は、同じであるか、および／または各 L は、同じである。

【0177】

一部の実施形態において、A D C は、アマニチン毒素を含む。アマニチンは、8 個のアミノ酸の二環式ペプチドであって、数種のテングタケ属に属するキノコに見出される天然に存在する毒物である。アマニチン毒素は、RNA ポリメラーゼ I I を阻害し、それにより細胞のアポトーシスが起こる。コンジュゲートできる例示的なアマニチン (amantin) 毒素および本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体ならびにそれらのコンジュゲーション方法は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる米国特許出願公開第 2 0 1 9 / 0 3 2 8 8 9 9 号明細書および米国特許出願公開第 2 0 2 1 / 0 0 7 7 5 7 1 号明細書に記載されている。

【0178】

一部の実施形態において、本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体および抗原結合フラグメントのグリカン(例えば、I g G F c の A s n - 2 9 7 またはその周辺における (K a b a t の番号付け)) は改変されていてもよく、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質がグリカンに付着していてもよい。Van Geel et al., 2015, Bioconjugate Chem. 26(11):2233-2242。化学酵素的プロトコールは、以下の二段階：i) トリミングを介した酵素的なリモデリングおよびアジ化物でのタグ付け；ならびに ii) 銅を使わないクリックケミストリーを介した薬物のライゲーションによる A s n - 2 9 7 またはその周辺における薬物の N - グリカンへの高度に制御された付着を提供する。このような方法は、グリコシル化のプロファイルに関わりなく、あらゆる I g G アイソタイプに適用可能である。本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントのグリカンに薬物をコンジュゲートするための例示的な組成物および方法は、例えば、それぞれの内容がこれによりその全体が参照により本明細書に組み入れられる、国際公開第 2 0 1 5 / 0 5 7 0 6 3 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 5 / 0 5 7 0 6 4 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 5 / 0 5 7 0 6 5 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 5 / 0 5 7 0 6 6 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 5 / 1 1 2 0 1 3 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 6 / 0 2 2 0 2 7 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 6 / 0 5 3 1 0 7 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 6 / 1 7 0 1 8 6 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 7 / 1 3 7 4 2 3 号パンフレット；国際公開第 2 0 1 7 / 1 3 7 4 5 6 号パンフレット；および国際公開第 2 0 1 7

10

20

30

40

50

／ 137457号パンフレットに記載される。

【0179】

本開示の抗グリコCD44 ADCを構成し得る細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質（D）およびリンカー（L）の具体的な実施形態、加えてADCに連結される細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質の数は、以下でより詳細に記載される。

【0180】

6.2.1. 細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質

細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質は、細胞、特定にはがんおよび／もしくは腫瘍細胞の増殖および／もしくは複製を阻害する、ならびに／またはそのような細胞を致死させることがわかっているあらゆる物質であり得る。細胞傷害性および／または細胞増殖抑制特性を有する多数の物質が文献公知である。細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質のクラスの非限定的な例としては、一例として、これらに限定されないが、放射性核種、アルキル化剤、トポイソメラーゼI阻害剤、トポイソメラーゼII阻害剤、DNA挿入剤（例えば、副溝結合剤、例えば副溝バインダー）、RNA/DNA代謝拮抗物質、細胞周期モジュレーター、キナーゼ阻害剤、タンパク質合成阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、ミトコンドリア阻害剤、および抗有糸分裂剤が挙げられる。

【0181】

これらの様々なクラスのうち特定のものの範囲内の物質の具体的な非限定的な例を以下に示す。

【0182】

アルキル化剤：アサレー（（L-ロイシン、N-[N-アセチル-4-[ビス（2-クロロエチル）アミノ]-DL-フェニルアラニル]-、エチルエステル；NSC167780；CAS登録番号3577897））；AZQ（（1，4-シクロヘキサジエン-1，4-ジカルバミン酸、2，5-ビス（1-アジリジニル）-3，6-ジオキソ、ジエチルエステル；NSC182986；CAS登録番号57998682））；BCNU（（N，N'-ビス（2-クロロエチル）-N-ニトロソウレア；NSC409962；CAS登録番号154938））；ブスルファン（1，4-ブタンジオールジメタンスルホネート；NSC750；CAS登録番号55981）；（カルボキシフタラト）白金（NSC27164；CAS登録番号65296813）；CBDCA（（cis-（1，1-シクロブタンジカルボキシラト）ジアンミン白金（II））；NSC241240；CAS登録番号41575944））；CCNU（（N-（2-クロロエチル）-N'-シクロヘキシル-N-ニトロソウレア；NSC79037；CAS登録番号13010474））；CHIP（イプロプラチン；NSC256927）；クロラムブシル（NSC3088；CAS登録番号305033）；クロロゾトシン（（2-[（2-クロロエチル）ニトロソアミノ]カルボニル]アミノ]-2-デオキシ-D-グルコピラノース；NSC178248；CAS登録番号54749905））；シスプラチン（シスプラチン；NSC119875；CAS登録番号15663271）；クロメソン（NSC338947；CAS登録番号88343720）；シアノモルホリノドキシソルピシン（NSC357704；CAS登録番号88254073）；シクロジソン（NSC348948；CAS登録番号99591738）；ジアンヒドロガラクトール（5，6-ジオキシズルシトール；NSC132313；CAS登録番号23261203）；フルオロドパン（（5-[（2-クロロエチル）-（2-フルオロエチル）アミノ]-6-メチル-ウラシル；NSC73754；CAS登録番号834913））；ヘプスルファム（NSC329680；CAS登録番号96892578）；ヒカントン（NSC142982；CAS登録番号23255938）；メルファラン（NSC8806；CAS登録番号3223072）；メチルCCNU（（1-（2-クロロエチル）-3-（trans-4-メチルシクロヘキサン）-1-ニトロソウレア；NSC95441；13909096））；マイトマイシンC（NSC26980；CAS登録番号50077）；ミトゾロミド（mitozolamide）（NSC353451；CAS登録番号85622953）；

10

20

30

40

50

ナイトロジェンマスタード（（ビス（２－クロロエチル）メチルアミンヒドロクロリド；NSC 762；CAS登録番号55867）；PCNU（（１－（２－クロロエチル）－３－（２，６－ジオキソ－３－ピペリジル）－１－ニトロソウレア；NSC 95466；CAS登録番号13909029））；ピペラジンアルキル化薬（（１－（２－クロロエチル）－４－（３－クロロプロピル）－ピペラジンジヒドロクロリド；NSC 344007））；ピペラジンジオン（NSC 135758；CAS登録番号41109802）；ピポブロマン（（N，N－ビス（３－プロモプロピオニル）ピペラジン；NSC 25154；CAS登録番号54911））；ポルフィロマイシン（N－メチルマイトマイシンC；NSC 56410；CAS登録番号801525）；スピロヒダントインマスタード（NSC 172112；CAS登録番号56605164）；テロキシロン（トリグリシジルイソシアヌレート；NSC 296934；CAS登録番号2451629）；テトラプ
ラチン（NSC 363812；CAS登録番号62816982）；チオテパ（N，N’，N’－トリ－１，２－エタンジイルチオホスホルアミド；NSC 6396；CAS登録
番号52244）；トリエチレンメラミン（NSC 9706；CAS登録番号51183）；ウラシルナイトロジェンマスタード（デスメチルドパン；NSC 34462；CAS
登録番号66751）；Yoshii-864（（ビス（３－メシルオキシプロピル）アミンヒドロクロリド；NSC 102627；CAS登録番号3458228））。

10

20

【0183】

トポイソメラーゼⅠ阻害剤：カンプトテシン（NSC 94600；CAS登録番号7689－03－4）；様々なカンプトテシン誘導体および類似体（例えば、NSC 100880、NSC 603071、NSC 107124、NSC 643833、NSC 629971、NSC 295500、NSC 249910、NSC 606985、NSC 74028、NSC 176323、NSC 295501、NSC 606172、NSC 606173、NSC 610458、NSC 618939、NSC 610457、NSC 610459、NSC 606499、NSC 610456、NSC 364830、およびNSC 606497）；モルホリンイソキソルピシン（NSC 354646；CAS登録番号89196043）；SN-38（NSC 673596；CAS登録番号86639－52－3））。

30

40

【0184】

トポイソメラーゼⅡ阻害剤：ドキソルピシン（NSC 123127；CAS登録番号25316409）；アモナフィド（ベンゾイソキノリンジオン；NSC 308847；CAS登録番号69408817）；m-AMSA（（４’－（９－アクリジニルアミノ）－３’－メトキシメタンスルホンアニリド；NSC 249992；CAS登録番号51264143））；アントラピラゾール誘導体（（NSC 355644））；エトポシド（VP-16；NSC 141540；CAS登録番号33419420）；ピラゾロアクリジン（（ピラゾロ[3，4，5-kl]アクリジン－2（6H）－プロパンアミン、９－メトキシ－N，N－ジメチル－５－ニトロ－、モノメタンスルホネート；NSC 366140；CAS登録番号99009219））；ビスアントレンヒドロクロリド（NSC 337766；CAS登録番号71439684）；ダウノルピシン（NSC 821151；CAS登録番号23541506）；デオキシドキソルピシン（NSC 267469；CAS登録番号63950061）；ミトキサントロン（NSC 301739；CAS登録番号70476823）；メノガリル（NSC 269148；CAS登録番号71628961）；N，N－ジベンジルダウノマイシン（NSC 268242；CAS登録番号70878512）；オキサントラゾール（NSC 349174；CAS登録番号105118125）；ルビダゾン（NSC 164011；CAS登録番号36508711）；テニポシド（VM-26；NSC 122819；CAS登録番号29767202））。

【0185】

DNA挿入剤：アントラマイシン（CAS登録番号4803274）；チカマイシンA（CAS登録番号89675376）；トマイマイシン（CAS登録番号35050556）；DC-81（CAS登録番号81307246）；シビロマイシン（CAS登録番

50

号12684332) ; ピロロベンゾジアゼピン誘導体 (CAS登録番号945490095) ; SGD-1882 ((S)-2-(4-アミノフェニル)-7-メトキシ-8-(3-(4(S)-7-メトキシ-2-(4-メトキシフェニル))-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)プロボキシ)-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-5(11aH)-オン) ; SG2000 (SJG-136 ; (11aS, 11a'S)-8,8'-(プロパン-1,3-ジイルビス(オキシ))ビス(7-メトキシ-2-メチレン-2,3-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-5(11aH)-オン) ; NSC694501 ; CAS登録番号232931576)。

10

【0186】

RNA/DNA代謝拮抗物質 : L-アラノシン (NSC153353 ; CAS登録番号59163416) ; 5-アザシチジン (NSC102816 ; CAS登録番号320672) ; 5-フルオロウラシル (NSC19893 ; CAS登録番号51218) ; アシピシン (NSC163501 ; CAS登録番号42228922) ; アミノプテリン誘導体N-[2-クロロ-5-[[(2,4-ジアミノ-5-メチル-6-キナゾリニル)メチル]アミノ]ベンゾイル]-L-アスパラギン酸 (NSC132483) ; アミノプテリン誘導体N-[4-[[(2,4-ジアミノ-5-エチル-6-キナゾリニル)メチル]アミノ]ベンゾイル]-L-アスパラギン酸 (NSC184692) ; アミノプテリン誘導体N-[2-クロロ-4-[[(2,4-ジアミノ-6-プテリジニル)メチル]アミノ]ベンゾイル]-L-アスパラギン酸一水和物 (NSC134033) ; 葉酸代謝拮抗薬 (antifo) ((N^α-(4-アミノ-4-デオキシプテロイル)-N⁷-ヘミフタロイル)-L-オルニチン ; NSC623017) ; ベーカー (Baker) の可溶性葉酸代謝拮抗薬 (antifol) (NSC139105 ; CAS登録番号41191042) ; ジクロロアリル (dichlorallyl) ローソン ((2-(3,3-ジクロロアリル)-3-ヒドロキシ-1,4-ナフトキノン ; NSC126771 ; CAS登録番号36417160) ; ブレキナル (NSC368390 ; CAS登録番号96201886) ; フトラフル ((プロドラッグ ; 5-フルオロ-1-(テトラヒドロ-2-フリル)-ウラシル ; NSC148958 ; CAS登録番号37076689) ; 5,6-ジヒドロ-5-アザシチジン (NSC264880 ; CAS登録番号62402317) ; メトトレキセート (NSC740 ; CAS登録番号59052) ; メトトレキセート誘導体 (N-[4-[[(2,4-ジアミノ-6-プテリジニル)メチル]メチルアミノ]-1-ナフタレニル]カルボニル]-L-グルタミン酸 ; NSC174121) ; PALA ((N-(ホスホノアセチル)-L-アスパルテート ; NSC224131 ; CAS登録番号603425565) ; ピラゾフリン (NSC143095 ; CAS登録番号30868305) ; トリメトレキセート (NSC352122 ; CAS登録番号82952645)。

20

30

【0187】

DNA代謝拮抗物質 : 3-HP (NSC95678 ; CAS登録番号3814797) ; 2'-デオキシ-5-フルオロウリジン (NSC27640 ; CAS登録番号50919) ; 5-HP (NSC107392 ; CAS登録番号19494894) ; α-TGDR (α-2'-デオキシ-6-チオグアノシン ; NSC71851 ; CAS登録番号2133815) ; アフィジコリングリシネート (NSC303812 ; CAS登録番号92802822) ; ara C (シトシンアラビノシド ; NSC63878 ; CAS登録番号69749) ; 5-アザ-2'-デオキシシチジン (NSC127716 ; CAS登録番号2353335) ; β-TGDR (β-2'-デオキシ-6-チオグアノシン ; NSC71261 ; CAS登録番号789617) ; シクロシチジン (NSC145668 ; CAS登録番号10212256) ; グアナゾール (NSC1895 ; CAS登録番号1455772) ; ヒドロキシ尿素 (NSC32065 ; CAS登録番号127071) ; イノシングリコジアルデヒド (NSC118994 ; CAS登録番号23590990) ; マクベシンII (NSC330500 ; CAS登録番号73341738) ; ピラゾロイ

40

50

ミダゾール（NSC 51143；CAS登録番号6714290）；チオグアニン（NSC 752；CAS登録番号154427）；チオプリン（NSC 755；CAS登録番号50442）。

【0188】

細胞周期モジュレーター：シリビニン（CAS登録番号22888-70-6）；没食子酸エピガロカテキン（EGCG；CAS登録番号989515）；プロシアニジン誘導体（例えば、プロシアニジンA1 [CAS登録番号103883030]、プロシアニジンB1 [CAS登録番号20315257]、プロシアニジンB4 [CAS登録番号29106512]、アレカタニンB1 [CAS登録番号79763283]）；イソフラボン（例えば、ゲニステイン [4%5，7-トリヒドロキシイソフラボン；CAS登録番号446720]、ダイゼイン [4'，7-ジヒドロキシイソフラボン、CAS登録番号486668]；インドール-3-カルビノール（CAS登録番号700061）；ケルセチン（NSC 9219；CAS登録番号117395）；エストラムスチン（NSC 89201；CAS登録番号2998574）；ノコダゾール（CAS登録番号31430189）；ポドフィロトキシン（CAS登録番号518285）；酒石酸ビノレルビン（NSC 608210；CAS登録番号125317397）；クリプトフィシン（NSC 667642；CAS登録番号124689652）。

10

【0189】

キナーゼ阻害剤：アファチニブ（CAS登録番号850140726）；アキシチニブ（CAS登録番号319460850）；ARRY-438162（ビニメチニブ）（CAS登録番号606143899）；ボスチニブ（CAS登録番号380843754）；カボザンチニブ（CAS登録番号1140909483）；セリチニブ（CAS登録番号1032900256）；クリゾチニブ（CAS登録番号877399525）；ダブラフェニブ（CAS登録番号1195765457）；ダサチニブ（NSC 732517；CAS登録番号302962498）；エルロチニブ（NSC 718781；CAS登録番号183319699）；エベロリムス（NSC 733504；CAS登録番号159351696）；フォスタマチニブ（NSC 745942；CAS登録番号901119355）；ゲフィチニブ（NSC 715055；CAS登録番号184475352）；イブルチニブ（CAS登録番号936563961）；イマチニブ（NSC 716051；CAS登録番号220127571）；ラパチニブ（CAS登録番号388082788）；レンバチニブ（CAS登録番号857890392）；ムブリチニブ（CAS 366017096）；ニロチニブ（CAS登録番号923288953）；ニンテダニブ（CAS登録番号656247175）；パルボシクリブ（CAS登録番号571190302）；パゾパニブ（NSC 737754；CAS登録番号635702646）；ペガブタニブ（CAS登録番号222716861）；ポナチニブ（CAS登録番号1114544318）；ラパマイシン（NSC 226080；CAS登録番号53123889）；レゴラフェニブ（CAS登録番号755037037）；AP23573（リダフォロリムス）（CAS登録番号572924540）；INCB018424（ルキソリチニブ）（CAS登録番号1092939177）；ARRY-142886（セルメチニブ）（NSC 741078；CAS登録番号606143-52-6）；シロリムス（NSC 226080；CAS登録番号53123889）；ソラフェニブ（NSC 724772；CAS登録番号475207591）；スニチニブ（NSC 736511；CAS登録番号341031547）；トファシチニブ（CAS登録番号477600752）；テムシロリムス（NSC 683864；CAS登録番号163635043）；トラメチニブ（CAS登録番号871700173）；バンデタニブ（CAS登録番号443913733）；ベムラフェニブ（CAS登録番号918504651）；SU6656（CAS登録番号330161870）；CEP-701（レスタウルチニブ（lesaurtinib））（CAS登録番号111358884）；XL019（CAS登録番号945755566）；PD-325901（CAS登録番号391210109）；PD-98059（CAS登録番号167869218）；ATP競合TORC1／TORC2阻

20

30

40

50

害剤、例えばPI-103 (CAS登録番号371935749)、PP242 (CAS登録番号1092351671)、PP30 (CAS登録番号1092788094)、Torin 1 (CAS登録番号1222998368)、LY294002 (CAS登録番号154447366)、XL-147 (CAS登録番号934526893)、CAL-120 (CAS登録番号870281348)、ETP-45658 (CAS登録番号1198357797)、PX866 (CAS登録番号502632668)、GDC-0941 (CAS登録番号957054307)、BGT226 (CAS登録番号1245537681)、BEZ235 (CAS登録番号915019657)、XL-765 (CAS登録番号934493762) など。

【0190】

タンパク質合成阻害剤：アクリフラビン (CAS登録番号65589700)；アミカシン (NSC177001；CAS登録番号39831555)；アルベカシン (CAS登録番号51025855)；アストロマイシン (CAS登録番号55779061)；アジスロマイシン (NSC643732；CAS登録番号83905015)；ベカナマイシン (CAS登録番号4696768)；クロルテトラサイクリン (NSC13252；CAS登録番号64722)；クラリスロマイシン (NSC643733；CAS登録番号81103119)；クリンダマイシン (CAS登録番号18323449)；クロモサイクリン (CAS登録番号1181540)；シクロヘキシミド (CAS登録番号66819)；ダクチノマイシン (NSC3053；CAS登録番号50760)；ダルフォブリスチン (CAS登録番号112362502)；デメクロサイクリン (CAS登録番号127333)；ジベカシン (CAS登録番号34493986)；ジヒドロストレプトマイシン (CAS登録番号128461)；ジリスロマイシン (CAS登録番号62013041)；ドキシサイクリン (CAS登録番号17086281)；エメチン (NSC33669；CAS登録番号483181)；エリスロマイシン (NSC55929；CAS登録番号114078)；フルリスロマイシン (CAS登録番号83664208)；フラマイセチン (ネオマイシンB；CAS登録番号119040)；ゲンタマイシン (NSC82261；CAS登録番号1403663)；グリシルシクリン、例えばチゲサイクリン (CAS登録番号220620097)；ハイグロマイシンB (CAS登録番号31282049)；イセパマイシン (CAS登録番号67814760)；ジョサマイシン (NSC122223；CAS登録番号16846245)；カナマイシン (CAS登録番号8063078)；ケトライド、例えばテリスロマイシン (CAS登録番号191114484)、セスロマイシン (CAS登録番号205110481)、およびソリスロマイシン (CAS登録番号760981837)；リンコマイシン (CAS登録番号154212)；ライムサイクリン (CAS登録番号992212)；メクロサイクリン (NSC78502；CAS登録番号2013583)；メタサイクリン (ロンドマイシン；NSC356463；CAS登録番号914001)；ミデカマイシン (CAS登録番号35457808)；ミノサイクリン (NSC141993；CAS登録番号10118908)；ミオカマイシン (CAS登録番号55881077)；ネオマイシン (CAS登録番号119040)；ネチルマイシン (CAS登録番号56391561)；オレアンドマイシン (CAS登録番号3922905)；オキサゾリジノン、例えばエペレゾリド (CAS登録番号165800044)、リネゾリド (CAS登録番号165800033)、ボジゾリド (CAS登録番号252260029)、ラデゾリド (CAS登録番号869884786)、ランベゾリド (CAS登録番号392659380)、ステゾリド (CAS登録番号168828588)、テジゾリド (CAS登録番号856867555)；オキシテトラサイクリン (NSC9169；CAS登録番号2058460)；パロモマイシン (CAS登録番号7542372)；ペニメピサイクリン (CAS登録番号4599604)；ペプチジルトランスフェラーゼ阻害剤、例えば、クロラムフェニコール (NSC3069；CAS登録番号56757)ならびにアジダムフェニコール (CAS登録番号13838089)、フロルフェニコール (CAS登録番号73231342)、およびチアンフェニコール (CAS登録番号15318453)、およ

10

20

30

40

50

びプロイロムチリン、例えばレタパムリン（CAS登録番号224452668）、チアムリン（CAS登録番号55297955）、バルネムリン（CAS登録番号101312929）などの誘導体；ビルリマイシン（CAS登録番号79548735）；ピューロマイシン（NSC3055；CAS登録番号53792）；キヌプリスチン（CAS登録番号120138503）；リボスタマイシン（CAS登録番号53797356）；ロキタマイシン（CAS登録番号74014510）；ロリテトラサイクリン（CAS登録番号751973）；ロキシスロマイシン（CAS登録番号80214831）；シソマイシン（CAS登録番号32385118）；スペクチノマイシン（CAS登録番号1695778）；スピラマイシン（CAS登録番号8025818）；ストレプトグラミン、例えばプリスチナマイシン（CAS登録番号270076603）、キヌプリスチン／ダルフォプリスチン（CAS登録番号126602899）、およびバージニアマイシン（CAS登録番号11006761）；ストレプトマイシン（CAS登録番号57921）；テトラサイクリン（NSC108579；CAS登録番号60548）；トブラマイシン（CAS登録番号32986564）；トロレアンドマイシン（CAS登録番号2751099）；タイロシン（CAS登録番号1401690）；ベルダマイシン（CAS登録番号49863481）。

10

【0191】

ヒストンデアセチラーゼ阻害剤：アベキシノスタット（CAS登録番号783355602）；ベリノスタット（NSC726630；CAS登録番号414864009）；チダミド（CAS登録番号743420022）；エンチノスタット（CAS登録番号209783802）；ギビノスタット（CAS登録番号732302997）；モセチノスタット（CAS登録番号726169739）；パノビノスタット（CAS登録番号404950807）；キシノスタット（CAS登録番号875320299）；レスミノスタット（CAS登録番号864814880）；ロミデプシン（CAS登録番号128517077）；スルホラファン（CAS登録番号4478937）；チオウレイドブチロニトリル（Kevetrin（商標）；CAS登録番号6659890）；バルプロ酸（NSC93819；CAS登録番号99661）；ポリノスタット（NSC701852；CAS登録番号149647789）；ACY-1215（ロシリノスタット；CAS登録番号1316214524）；CUDC-101（CAS登録番号1012054599）；CHR-2845（テフィノスタット；CAS登録番号914382608）；CHR-3996（CAS登録番号1235859138）；4SC-202（CAS登録番号910462430）；CG200745（CAS登録番号936221339）；SB939（ブラシノスタット；CAS登録番号929016966）。

20

30

【0192】

ミトコンドリア阻害剤：パンクラチスタチン（NSC349156；CAS登録番号96281311）；ローダミン-123（CAS登録番号63669709）；エデルフォシン（NSC324368；CAS登録番号70641519）；d-アルファーコハク酸トコフェロール（NSC173849；CAS登録番号4345033）；化合物11β（CAS登録番号865070377）；アスピリン（NSC406186；CAS登録番号50782）；エリブチシン（CAS登録番号519233）；ベルベリン（CAS登録番号633658）；セルレニン（CAS登録番号17397896）；GX015-070（Obatoclax（登録商標）；1H-インドール、2-（2-（（3，5-ジメチル-1H-ピロール-2-イル）メチレン）-3-メトキシ-2H-ピロール-5-イル）-；NSC729280；CAS登録番号803712676）；セラストロール（トリプテリン；CAS登録番号34157830）；メトホルミン（NSC91485；CAS登録番号1115704）；ブリリアントグリーン（NSC5011；CAS登録番号633034）；ME-344（CAS登録番号1374524556）。

40

【0193】

抗有糸分裂剤：アロコルヒチン（NSC406042）；オーリスタチン、例えばMM

50

A E (モノメチルオーリスタチン E ; C A S 登録番号 4 7 4 6 4 5 - 2 7 - 7) および M M A F (モノメチルオーリスタチン F ; C A S 登録番号 7 4 5 0 1 7 - 9 4 - 1 ; ハリコンドリン B (N S C 6 0 9 3 9 5) ; コルヒチン (N S C 7 5 7 ; C A S 登録番号 6 4 8 6 8) ; コルヒチン (cholchicine) 誘導体 (N - ベンゾイル - デアセチルベンズアミド ; N S C 3 3 4 1 0 ; C A S 登録番号 6 3 9 8 9 7 5 3) ; ドラストチン 1 0 (N S C 3 7 6 1 2 8 ; C A S 登録番号 1 1 0 4 1 7 - 8 8 - 4) ; メイタンシン (N S C 1 5 3 8 5 8 ; C A S 登録番号 3 5 8 4 6 - 5 3 - 8) ; リゾキシソ (rhozoxin) (N S C 3 3 2 5 9 8 ; C A S 登録番号 9 0 9 9 6 5 4 6) ; タキソール (N S C 1 2 5 9 7 3 ; C A S 登録番号 3 3 0 6 9 6 2 4) ; タキソール誘導体 ((2 ' - N - [3 - (ジメチルアミノ) プロピル] グルタメート (glutaramate) タキソール ; N S C 6 0 8 8 3 2) ;

10

【 0 1 9 4 】

抗体への付着部位を含むかまたは抗体への付着部位を含むように改変できるこれらの物質のいずれも、本明細書で開示される A D C に含めることができる。

【 0 1 9 5 】

具体的な実施形態において、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質は、抗有糸分裂剤である。

20

【 0 1 9 6 】

別の具体的な実施形態において、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質は、オーリスタチン、例えば、モノメチルオーリスタチン E (「M M A E」) またはモノメチルオーリスタチン F (「M M A F」) である。

【 0 1 9 7 】

6 . 2 . 2 . リンカー

本開示の抗グリコ C D 4 4 A D C において、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質は、リンカーによって抗体に連結されている。A D C の抗体に細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を連結するリンカーは、ショート、ロング、疎水性、親水性、フレキシブルな、または硬いリンカーであってもよく、またはリンカーが異なる特性を有するセグメントを含み得るように、それぞれ独立して上述の特性の 1 つまたは複数を有するセグメントで構成されていてもよい。リンカーは、それらが 1 つより多くの薬剤を抗体上の単一の部位に共有結合で連結するように多価であってもよいし、またはそれらが単一の薬剤を抗体上の単一の部位に共有結合で連結するように 1 価であってもよい。

30

【 0 1 9 8 】

当業者は理解していると予想されるように、リンカーは、一方の位置で細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質への共有結合による連結を形成し、他方の位置で抗体への共有結合による連結を形成することによって、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を抗体に連結する。共有結合による連結は、リンカー上の官能基と薬剤および抗体上の官能基との反応によって形成される。本明細書で使用される場合、「リンカー」という表現は、(i) リンカーを細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質に共有結合で連結することが可能な官能基と、リンカーを抗体に共有結合で連結することが可能な官能基とを含む、リンカーのコンジュゲートしていない形態；(i i) リンカーを抗体に共有結合で連結することが可能であり、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質に共有結合で連結されている官能基を含むか、またはその逆である、リンカーの部分的にコンジュゲートした形態；および(i i i) 細胞傷害性物質ならびに／または細胞増殖抑制性物質および抗体の両方に共有結合で連結されている、リンカーの完全にコンジュゲートした形態を含むことが意図される。本開示のリンカーおよび抗グリコ C D 4 4 A D C に加えて、リンカー - 薬剤を抗体にコンジュゲートするのに使用されるシントンの一部の具体的な実施形態において、リンカー上の官能基およびリンカーと抗体との間で形

40

50

成された共有結合による連結を含む部分は、それぞれ R_x および X_y として具体的に例示される。

【0199】

リンカーは、好ましくは、ただし必ずしもそうでなくてもよいが、細胞の外側の条件に対して化学的に安定であり、細胞の内部で切断される、破壊される、および／またはそれ以外の方法で特異的に分解するように設計されていてもよい。代替として、細胞の内部で特異的に切断または分解されるように設計されていないリンカーを使用してもよい。安定なリンカーと不安定なリンカーとの選択は、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質の毒性によって決まる場合がある。正常細胞に対して毒性の薬剤の場合、安定なリンカーが好ましい。正常細胞に対して選択的であるかまたはそれを標的化して毒性を低める薬剤を利用してもよく、細胞外環境に対するリンカーの化学的安定性は、それほど重要ではない。ADCの状態では薬物を抗体に連結するのに有用な様々なリンカーは、当業界において公知である。これらのリンカーのいずれか、および他のリンカーは、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を、本開示の抗グリコCD44 ADCの抗体に連結するのに使用することができる。

10

【0200】

多くの細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を単一抗体分子に連結するのに使用できる例示的な多価リンカーは、例えば、その内容が参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、国際公開第2009/073445号パンフレット；国際公開第2010/068795号パンフレット；国際公開第2010/138719号パンフレット；国際公開第2011/120053号パンフレット；国際公開第2011/171020号パンフレット；国際公開第2013/096901号パンフレット；国際公開第2014/008375号パンフレット；国際公開第2014/093379号パンフレット；国際公開第2014/093394号パンフレット；国際公開第2014/093640号パンフレットに記載されている。例えば、Mersanaらにより開発されたFleximerリンカー技術は、優れた物理化学的な特性を有する高DARのADCを可能にする能力を有する。以下に示すように、Mersana技術は、エステル結合の配列を介して可溶性のポリアセタールバックボーンに薬物分子を取り込むことに基づく。この手法は、優れた物理化学的な特性を維持しながら高度にローディングされたADC（最大20のDAR）をもたらす。

20

30

【0201】

樹枝型のリンカーのさらなる例は、それぞれが参照により本明細書に組み入れられる、米国特許出願公開第2006/116422号明細書；米国特許出願公開第2005/271615号明細書；de Groot et al. (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4490-4494；Amir et al. (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4494-4499；Shamis et al. (2004) J. Am. Chem. Soc. 126:1726-1731；Sun et al. (2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12:2213-2215；Sun et al. (2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11:1761-1768；King et al. (2002) Tetrahedron Letters 43:1987-1990に見出すことができる。

【0202】

使用できる例示的な1価リンカーは、例えば、それぞれが参照により本明細書に組み入れられる、Nolting, 2013, Antibody-Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology 1045:71-100；Kitson et al., 2013, CROs/CMOs--Chemical Chemistry Today 31(4):30-38；Ducry et al., 2010, Bioconjugate Chem. 21:5-13；Zhao et al., 2011, J. Med. Chem. 54:3606-3623；米国特許第7,223,837号明細書；米国特許第8,568,728号明細書；米国特許第8,535,678号明細書；および国際公開第2004010957号パンフレットに記載されている。

40

【0203】

血液中で安定であり、部位特異的で安定なコンジュゲーションをもたらす、がん細胞で

50

見出される特異的な酵素を介してがん特異的な活性化を提供する追加の例示的なリンカーおよび関連する方法および化学が提供される。部位特異的なコンジュゲーションは、均質なADCの生産を可能にし、一方、血漿中で安定なリンカーは、がん特異的な毒素放出を可能にする。一部の実施形態において、官能化したプレニル基質は、プレニルトランスフェラーゼ（例えば、ファルネシルトランスフェラーゼ）によって、軽鎖のC末端に導入されたCaaxアミノ酸配列のCysに共有結合で合体させることができる。次いで、イソプレノイドとリンカー官能基との間のクリックケミストリーまたはオキシムライゲーションを介して、薬物コンジュゲーションを行うことができる。使用することができる例示的なリンカー、関連する方法、および関連する化学は、例えば、それぞれの内容が、これによりその全体が参照により本明細書に組み入れられる、国際公開第2012/153193号パンフレット、国際公開第2015/182984号パンフレット；国際公開第2017/089890号パンフレット；国際公開第2017/089894号パンフレット；国際公開第2017/089895号パンフレット；国際公開第2017/051249号パンフレット；国際公開第2017/051254号パンフレット；国際公開第2018/182341号パンフレット；国際公開第2020/222573号パンフレット；国際公開第2021/137646号パンフレット；および国際公開第2020/141923号パンフレットに記載されている。

10

【0204】

一例として、これらに限定されないが、本開示の抗グリコCD44 ADC中に含まれ得る一部の切断可能および切断不可能なリンカーは、後述される。

20

【0205】

6.2.3. 切断可能なリンカー

特定の実施形態において、選択されたリンカーは、インビボで切断可能である。切断可能なリンカーは、化学的または酵素的に不安定な、または分解可能な連結を含んでもよい。切断可能なリンカーは、一般的に、薬物を開放する細胞の内部のプロセス、例えば細胞質内での還元、リソソーム中での酸性条件への曝露、または細胞内の特異的なプロテアーゼまたは他の酵素による切断を頼る。切断可能なリンカーは、一般的に、化学的または酵素的のいずれかで切断可能な1つまたは複数の化学結合を取り込んでおり、それと同時に、リンカーの残部は、切断不可能である。特定の実施形態において、リンカーは、化学的に不安定性の基、例えばヒドラゾンおよび／またはジスルフィド基を含む。化学的に不安定性の基を含むリンカーは、血漿と一部の細胞質内区画との間で特性が異なることを利用する。ヒドラゾンを含有するリンカーの場合の薬物放出を容易にする細胞内条件は、エンドソームおよびリソソームの酸性環境であり、一方、ジスルフィドを含有するリンカーは、高いチオール濃度、例えばグルタチオンを含有するサイトゾル中で還元される。特定の実施形態において、化学的に不安定性の基を含むリンカーの血漿安定性は、化学的に不安定性の基付近の置換基を使用して立体障害を導入することによって増加させることができる。

30

【0206】

酸不安定性の基、例えばヒドラゾンは、血液の中性pH環境（pH7.3～7.5）での体循環の間は無傷のままであるが、ADCが細胞の弱酸性のエンドソーム（pH5.0～6.5）およびリソソーム（pH4.5～5.0）の区画に内在化されると加水分解を受けて薬物を放出する。このpH依存性の放出メカニズムは、薬物の非特異的な放出と関連付けられている。リンカーのヒドラゾン基の安定性を増加させるために、リンカーは、循環中での損失を最小化しながらもリソソーム中でのより効率的な放出を達成するように調整できる化学修飾、例えば置換によって変更してもよい。

40

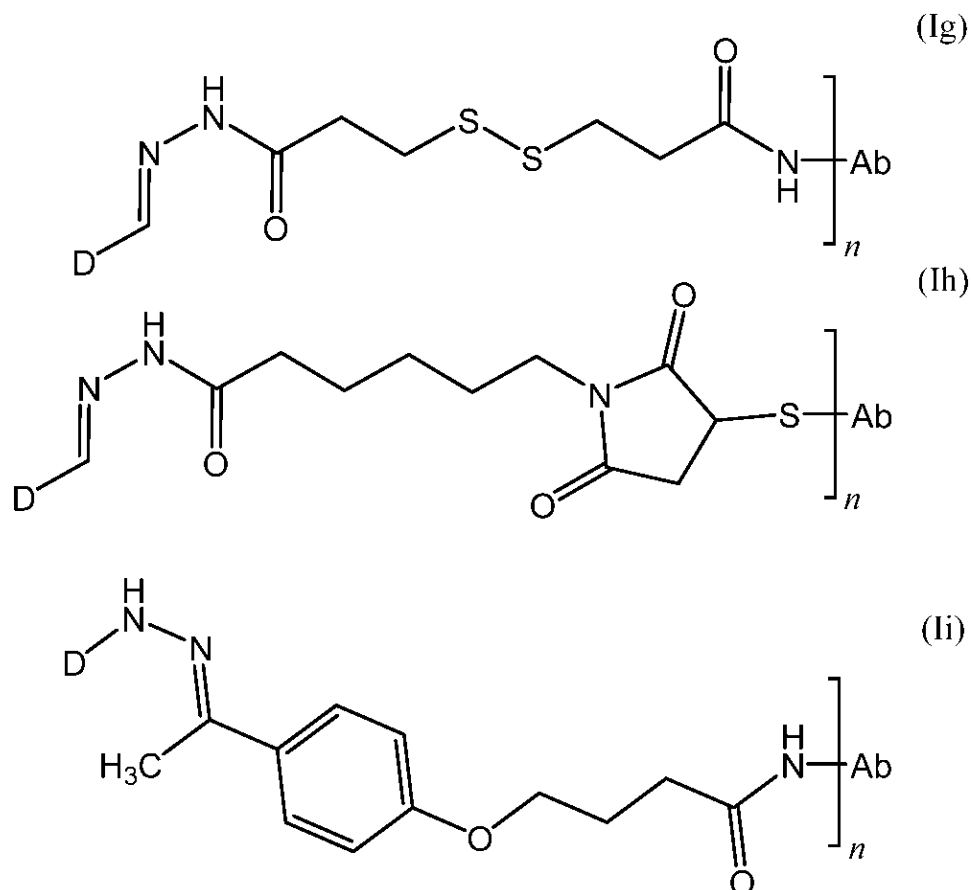
【0207】

ヒドラゾンを含有するリンカーは、追加の切断部位、例えば追加の酸不安定性の切断部位および／または酵素不安定性の切断部位を含有していてもよい。例示的なヒドラゾンを含有するリンカーを含むADCは、以下の構造を含む。

【0208】

50

【化 1】



10

20

式中、DおよびAbは、それぞれ細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質（薬物）およびAbを表し、nは、抗体に連結された薬物－リンカーの数を表す。特定のリンカー、例えばリンカー（Ig）において、リンカーは、2つの切断可能な基、すなわちジスルフィド部分およびヒドラゾン部分を含む。このようなリンカーの場合、改変されていない遊離の薬物の有効な放出は、酸性pHまたはジスルフィド還元および酸性pHを必要とする。（Ih）および（Ii）などのリンカーは、単一のヒドラゾン切断部位に有効であることが示されている。

30

【0209】

体循環の間は無傷のままであるがADCが酸性細胞区画の内部に内在化されると加水分解を受けて薬物を放出する追加のリンカーとしては、カーボネートが挙げられる。このようなリンカーは、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質が、酸素を介して共有結合で取り付けることができる場合、有用な可能性がある。

【0210】

リンカー中に含まれ得る他の酸不安定性の基としては、cis-アコニチルを含有するリンカーが挙げられる。cis-アコニチル化学は、酸性条件下でのアミド加水分解を促進するために、アミド結合に並置されたカルボン酸を使用する。

40

【0211】

切断可能なリンカーはまた、ジスルフィド基も含み得る。ジスルフィドは、生理学的なpHで熱力学的に安定であり、細胞の内部に内在化されると薬物を放出するように設計され、この場合サイトゾルは、細胞外の環境と比較してより有意に高い還元性の環境を提供する。ジスルフィド結合の分離は、一般的に、ジスルフィドを含有するリンカーが循環中で適度に安定であり、サイトゾル中で薬物を選択的に放出するように、細胞質内のチオール補因子、例えば（還元された）グルタチオン（GSH）の存在を必要とする。また、細胞内酵素タンパク質であるジスルフィドイソメラーゼ、またはジスルフィド結合の切断が

50

可能な類似の酵素も、細胞の内部におけるジスルフィド結合の優先的な切断に寄与する可能性がある。およそ5つの腫瘍細胞において、循環中でGSHまたはシステイン（これは最も豊富な低分子量チオールである）がより有意に低い濃度であることと比較して、GSHは、0.5～10mMの濃度範囲で細胞中に存在することが報告されており、この場合、不規則な血流が低酸素状態を引き起こし、還元性酵素の活性が強化され、それゆえにグルタチオン濃度がより一層高くなる。特定の実施形態において、ジスルフィドを含有するリンカーのインビボでの安定性は、リンカーの化学修飾によって、例えば、ジスルフィド結合に隣接する立体障害の使用によって強化することができる。

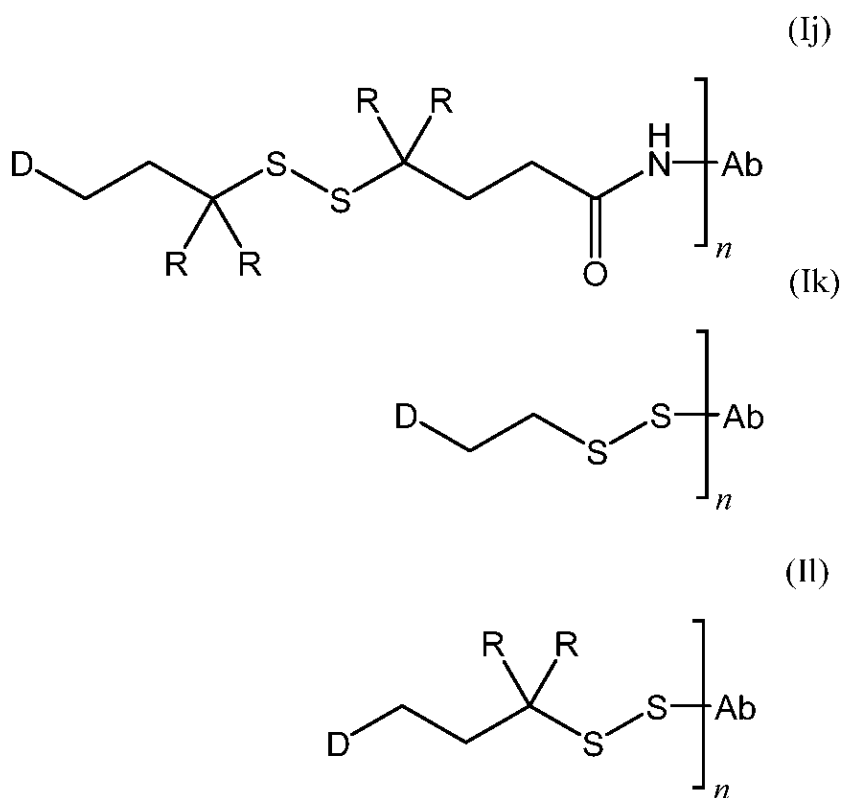
【0212】

例示的なジスルフィドを含有するリンカーを含むADCは、以下の構造を含む。

10

【0213】

【化2】



20

30

式中、DおよびAbは、それぞれ薬物および抗体を表し、nは、抗体に連結された薬物-リンカーの数を表し、Rは、各出現につき、例えば水素またはアルキルから独立して選択される。特定の実施形態において、ジスルフィド結合に隣接する立体障害を増加させることは、リンカーの安定性を増加させる。(Ij)および(II)などの構造は、1つまたは複数のR基が低級アルキルから選択され、例えばメチルである場合、インビボにおける増加した安定性を示す。

40

【0214】

使用することができる別のタイプの切断可能なリンカーは、酵素によって特異的に切断されるリンカーである。このようなリンカーは、典型的にはペプチドベースであるか、または酵素の基質として作用するペプチド領域を含む。ペプチドベースのリンカーは、血漿および細胞外環境中で、化学的に不安定性のリンカーより安定である傾向がある。リソソームのタンパク質分解酵素は、内因性阻害剤およびリソソームと比較して都合悪く高いpH値の血液のために、血液中で非常に低い活性を有するため、一般的に、ペプチド結合は血清中で優れた安定性を有する。抗体からの薬物の放出は、具体的にはリソソームのプロテアーゼ、例えばカテプシンおよびプラスミンの作用に起因して起こる。これらのプロテ

50

アーゼは、特定の腫瘍細胞中において高いレベルで存在する場合がある。

【0215】

例示的な実施形態において、切断可能なペプチドは、Gly-Phe-Leu-Gly (配列番号181)、Ala-Leu-Ala-Leu (配列番号182)などのテトラペプチド、またはVal-Cit、Val-Ala、Met-(D)Lys、Asn-(D)Lys、Val-(D)Asp、Phe-Lys、Ile-Val、Asp-Val、His-Val、NorVal-(D)Asp、Ala-(D)Asp5、Met-Lys、Asn-Lys、Ile-Pro、Me3Lys-Pro、フェニルGly-(D)Lys、Met-(D)Lys、Asn-(D)Lys、Pro-(D)Lys、Met-(D)Lys、Asn-(D)Lys、AM Met-(D)Lys、Asn-(D)Lys、AW Met-(D)Lys、およびAsn-(D)Lysなどのジペプチドから選択される。特定の実施形態において、より長いペプチドは疎水性であるため、ジペプチドが、より長いポリペプチドより好ましい。

10

【0216】

ドキソルビシン、マイトマイシン、カンプトテシン、ピロロベンゾジアゼピン、タリソマイシンおよびオーリスタチン／オーリスタチンファミリーメンバーなどの薬物を抗体に連結するのに有用な様々なジペプチドベースの切断可能なリンカーが記載されている(それぞれが参照により本明細書に組み入れられる、Dubowchik et al., 1998, J. Org. Chem. 67:1866-1872; Dubowchik et al., 1998, Bioorg. Med. Chem. Lett. 8(21):3341-3346; Walker et al., 2002, Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:217-219; Walker et al., 2004, Bioorg. Med. Chem. Lett. 14:4323-4327; Sutherland et al., 2013, Blood 122:1455-1463; およびFrancisco et al., 2003, Blood 102:1458-1465を参照)。これらのジペプチドリンカー、またはこれらのジペプチドリンカーの改変されたバージョンの全ては、本開示の抗グリコCD44 ADCで使用することができる。使用できる他のジペプチドリンカーとしては、Seattle Geneticsのブレンツキシマブベドチン(Vendotin) SGN-35 (Adcetris (商標))、Seattle GeneticsのSGN-75 (抗CD-70、Val-Cit-モノメチルオーリスタチンF (MMAF))、Seattle GeneticsのSGN-CD33A (抗CD-33、Val-Ala-(SGD-1882))、Celldex Therapeuticsのグレンバツムマブ(CDX-011) (抗NMB、Val-Cit-モノメチルオーリスタチンE (MMAE))、およびサイトジェン(Cytogen) PSMA-ADC (PSMA-ADC-1301) (抗PSMA、Val-Cit-MMAE)などのADCに見出されるものが挙げられる。

20

30

【0217】

酵素的に切断可能なリンカーとしては、酵素的切断部位から薬物を空間的に分離するための自壊性スペーサーを挙げることができる。ペプチドリンカーへの薬物の直接の取り付けは、タンパク質分解による薬物のアミノ酸付加物の放出を引き起こすことができ、それによってその活性が損なわれる。自壊性スペーサーの使用は、アミド結合の加水分解の後に、十分活性な化学的に改変されていない薬物の脱離を可能にする。

【0218】

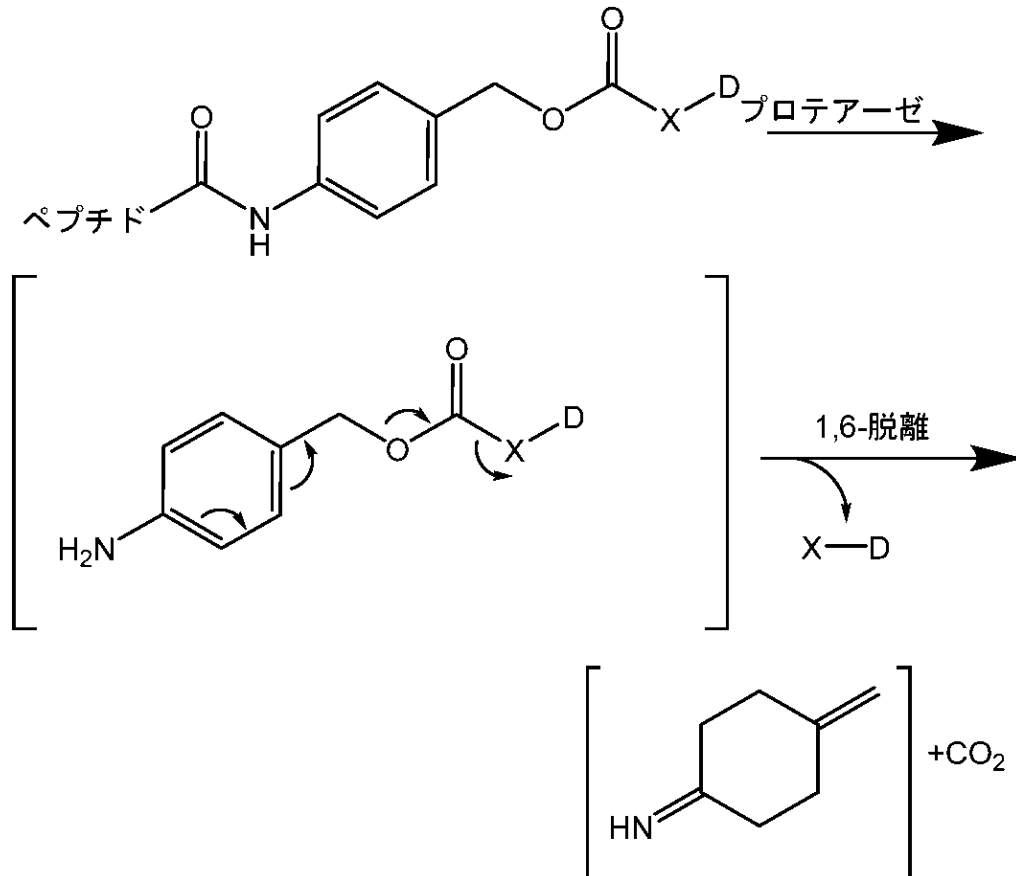
1つの自壊性スペーサーは、二機能性のパラアミノベンジルアルコール基であり、これは、アミノ基を介してペプチドに連結されてアミド結合を形成するが、アミンを含有する薬物は、リンカー(PABC)のベンジルのヒドロキシル基にカルバミン酸官能性を介して取り付けられていてもよい。得られたプロドラッグは、プロテアーゼ媒介の切断で活性化され、1,6-脱離反応を引き起こし、改変されていない薬物、二酸化炭素、およびリンカー基の残部を放出する。以下のスキームは、p-アミドベンジルエーテルのフラグメント化および薬物の放出を描写する。

40

【0219】

50

【化 3】



式中、X-Dは、改変されていない薬物を表す。

【0220】

この自壊性基の複素環式バリエーションも記載されている。例えば参照により本明細書に組み入れられる米国特許第7,989,434号明細書を参照されたい。

【0221】

一部の実施形態において、酵素的に切断可能なリンカーは、β-グルクロン酸ベースのリンカーである。薬物の容易な放出は、リソソーム酵素であるβ-グルクロニダーゼによるβ-グルクロニドグリコシド結合の切断を介して実現することができる。この酵素は、リソソーム内に豊富に存在し、一部の腫瘍タイプにおいて過剰発現されるが、細胞の外側での酵素活性は低い。β-グルクロン酸ベースのリンカーは、β-グルクロニドの親水性の性質のために凝集を受けるADCの傾向を回避するのに使用することができる。一部の実施形態において、β-グルクロン酸ベースのリンカーは、疎水性薬物に連結されたADCのためのリンカーとして好ましい。以下のスキームは、β-グルクロン酸ベースのリンカーを含有するADCからの薬物の放出を描写する。

【0222】

10

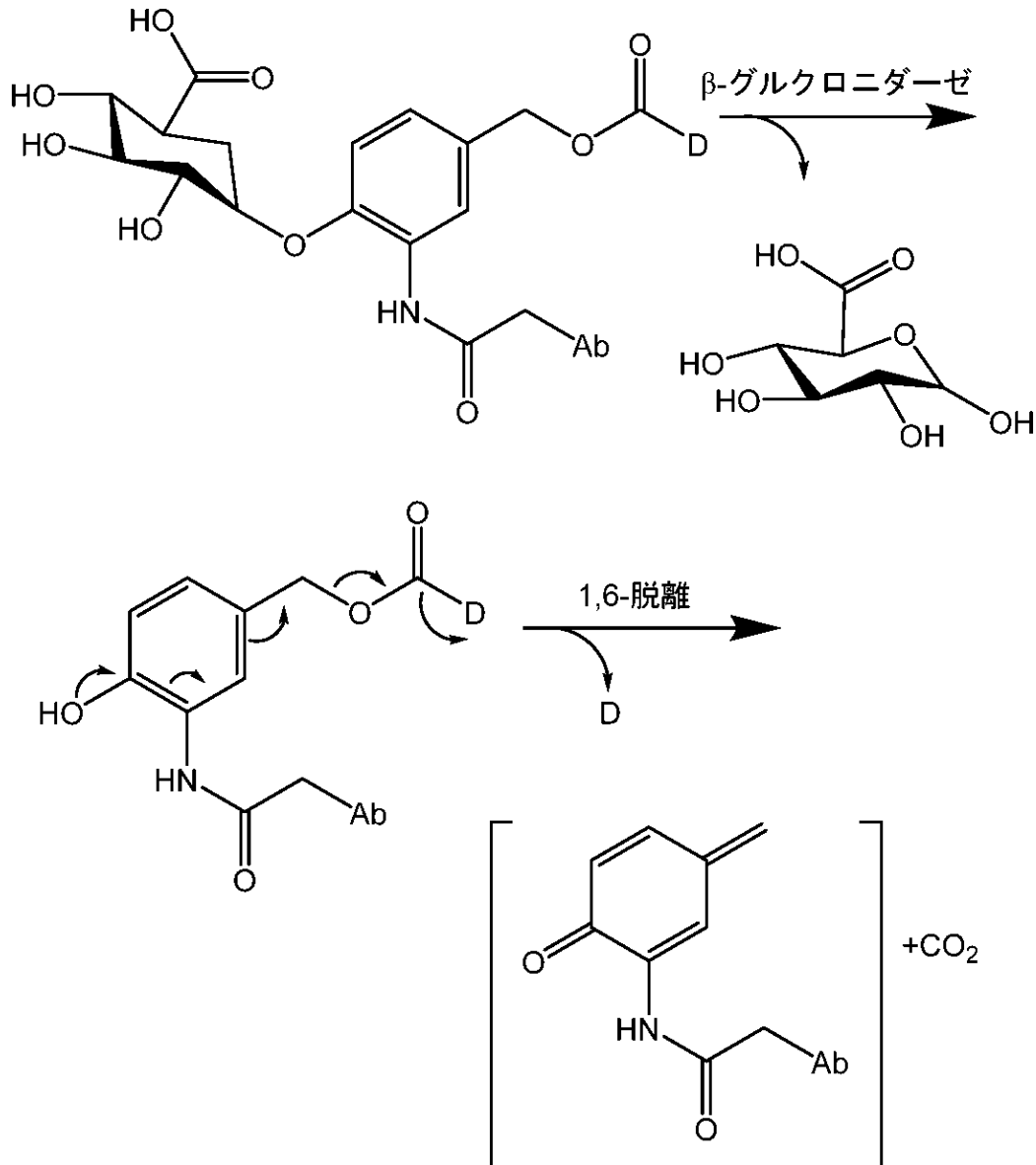
20

30

40

50

【化 4】



【0223】

オーリスタチン、カンプトテシンおよびドキソルビシン類似体、CBI副溝バインダー、およびプシムベリン (psymberin) などの薬物を抗体に連結するのに有用な、様々な切断可能なβ-グルクロン酸ベースのリンカーが記載されている（それぞれが参照により本明細書に組み入れられる、Nolting, Chapter 5 “Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates,” In: Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology, vol. 1045, pp. 71-100, Laurent Ducry (Ed.), Springer Science & Business Media, LLC, 2013; Jeffrey et al., 2006, Bioconjug. Chem. 17:831-840; Jeffrey et al., 2007, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17:2278-2280; および Jiang et al., 2005, J. Am. Chem. Soc. 127:11254-11255を参照）。これらのβ-グルクロン酸ベースのリンカーは全て、本開示の抗グリコCD44 ADCで使用することができる。

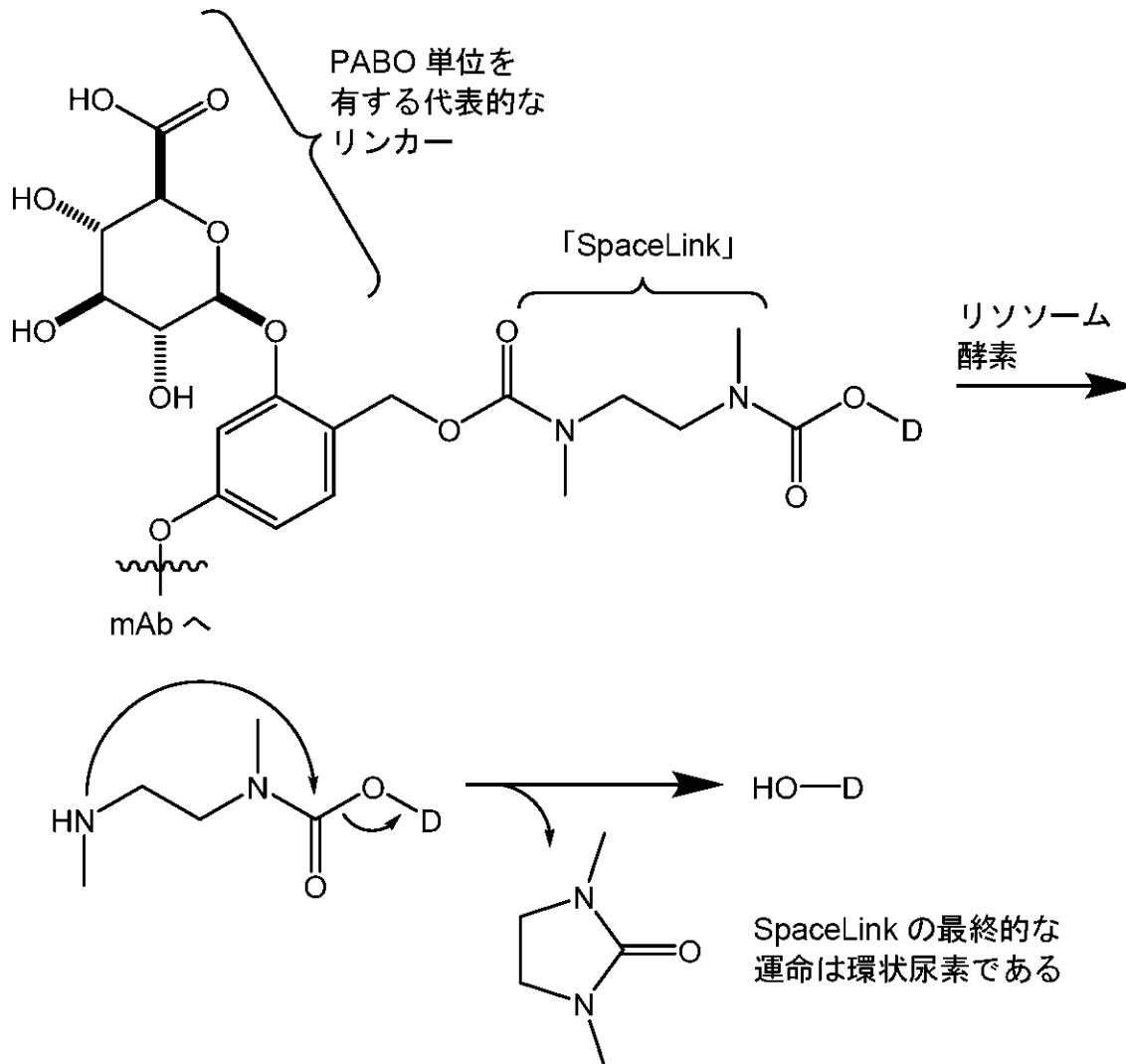
【0224】

加えて、フェノール基を含有する細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質は、フェノールの酸素を介してリンカーに共有結合で結合させることができる。1つのこのようなリンカーは、国際公開第2007/089149号パンフレットに記載されており

、ジアミノエタン「SpaceLink」を、フェノールを送達するために従来の「PABO」ベースの自壊性基と共に使用する手法を頼る。リンカーの切断は、以下に模式的に描写され、式中、Dは、フェノールのヒドロキシル基を有する細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を表す。

【0225】

【化5】



10

20

30

40

50

【0226】

切断可能なリンカーは、切断不可能な部分またはセグメントを含んでいてもよいし、および／または切断可能なセグメントまたは部分は、それを切断可能にするために、それ以外の切断不可能なリンカー中に含まれていてもよい。単なる例として、ポリエチレングリコール（PEG）および関連するポリマーは、ポリマーバックボーン中に切断可能な基を含んでいてもよい。例えば、ポリエチレングリコールまたはポリマーリンカーは、1つまたは複数の切断可能な基、例えばジスルフィド、ヒドラゾンまたはジペプチドを含んでいてもよい。

【0227】

リンカー中に含まれ得る他の分解可能な連結としては、PEGのカルボン酸または活性化されたPEGのカルボン酸と生物活性薬剤上のアルコール基との反応によって形成されたエステル連結が挙げられ、この場合、このようなエステル基は一般的に生理学的条件下で加水分解して生物活性薬剤を放出する。加水分解で分解可能な連結としては、これらに限定されないが、炭酸連結；アミンとアルデヒドの反応の結果生じるイミン連結；アルコ

ールをリン酸基と反応させることによって形成されたリン酸エステル連結；アルデヒドとアルコールの反応生成物であるアセタール連結；ギ酸塩とアルコールの反応生成物であるオルトエステル連結；ならびにこれに限定されないが、ポリマーの末端のホスホアミダイト基、およびオリゴヌクレオチドの5'ヒドロキシル基によって形成されたオリゴヌクレオチド連結が挙げられる。

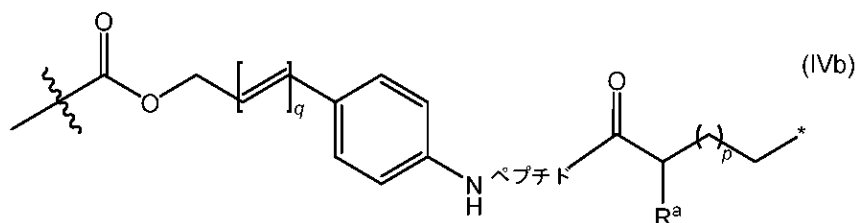
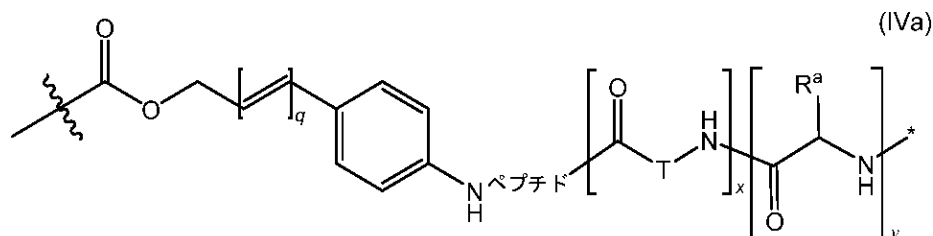
【0228】

特定の実施形態において、リンカーは、酵素的に切断可能なペプチド部分、例えば、構造式(IVa)または(IVb)：

【0229】

【化6】

10



20

を含むリンカーまたはその塩を含み、式中、ペプチドは、リソソーム酵素によって切断可能なペプチド(C→Nで例示され、カルボキシおよびアミノ「末端」は示されていない)を表し；Tは、1つまたは複数のエチレングリコール単位もしくはアルキレン鎖、またはそれらの組合せを含むポリマーを表し；R^aは、水素、アルキル、スルホネートおよびメチルスルホネートから選択され；pは、0から5の範囲の整数であり；qは、0または1であり；xは、0または1であり；yは、0または1であり；

30

【0230】

【化7】

〃

は、リンカーの細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質への取り付け点を表し；*は、リンカーの残部への取り付け点を表す。

【0231】

特定の実施形態において、ペプチドは、トリペプチドまたはジペプチドから選択される。特定の実施形態において、ジペプチドは、Val-Cit；Cit-Val；Ala-Ala；Ala-Cit；Cit-Ala；Asn-Cit；Cit-Asn；Cit-Cit；Val-Glu；Glu-Val；Ser-Cit；Cit-Ser；Lys-Cit；Cit-Lys；Asp-Cit；Cit-Asp；Ala-Val；Val-Ala；Phe-Lys；Val-Lys；Ala-Lys；Phe-Cit；Leu-Cit；Ile-Cit；Phe-Arg；およびTrp-Citから選択される。特定の実施形態において、ジペプチドは、Cit-Val；およびAla-Valから選択される。

40

【0232】

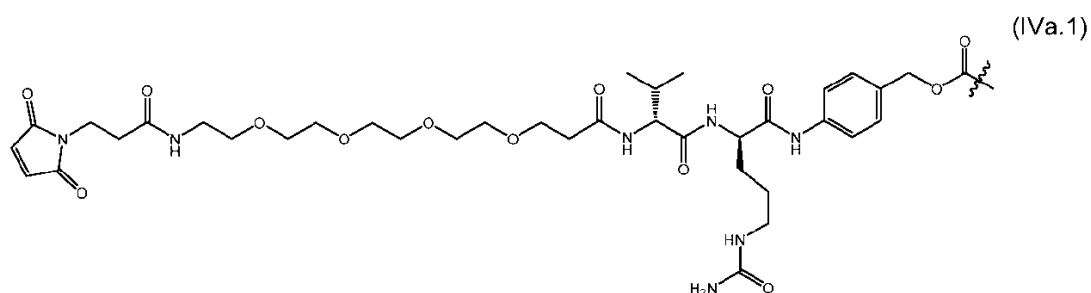
本開示の抗グリコCD44ADC中に含まれ得る構造式(IVa)によるリンカーの

50

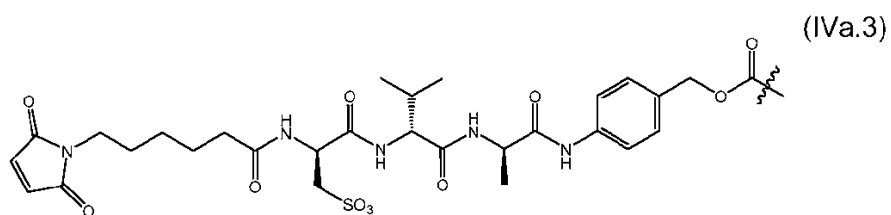
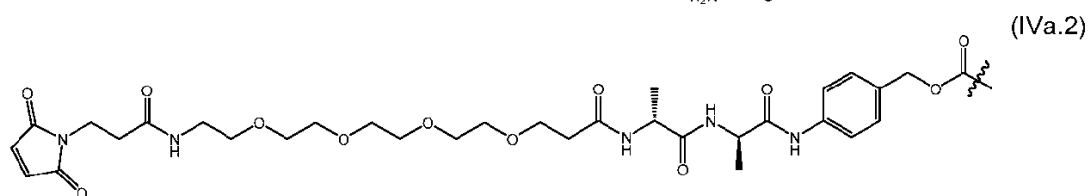
特定の例示的な実施形態としては、以下で例示されるリンカーが挙げられる（例示されるように、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合で連結するのに好適な基を含む）：

【 0 2 3 3 】

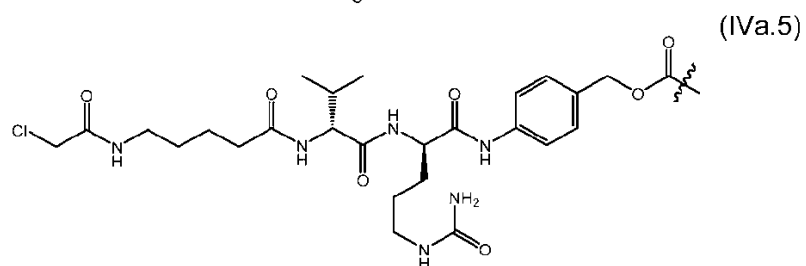
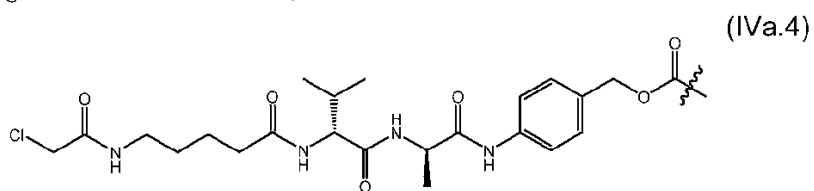
【 化 8 - 1 】



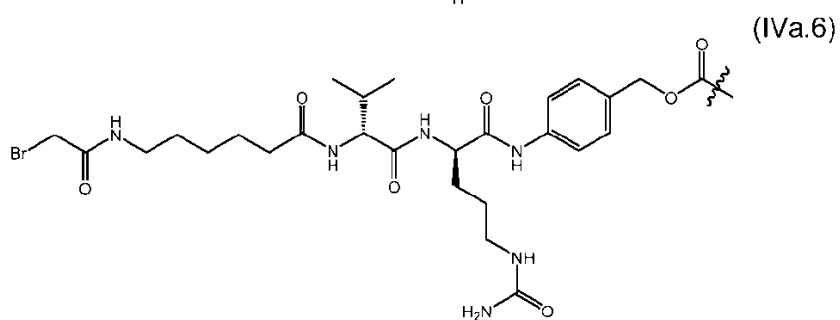
10



20



30

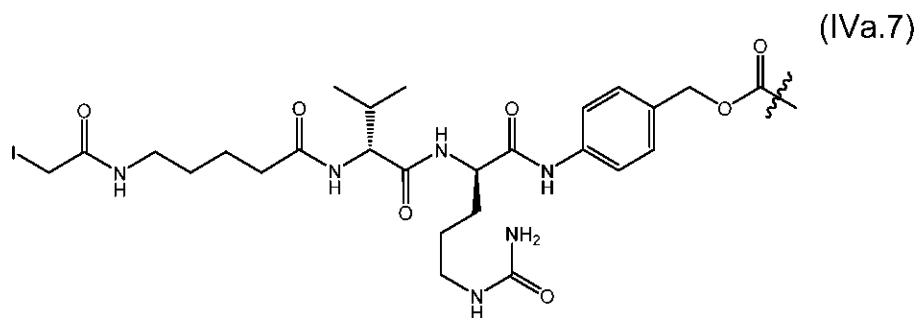


40

【 0 2 3 4 】

50

【化 8 - 2】



10

【 0 2 3 5】

本開示の抗グリコCD44ADC中に含まれ得る構造式(IVb)によるリンカーの特定の例示的な実施形態としては、以下で例示されるリンカーが挙げられる(例示されるように、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合で連結するのに好適な基を含む)：

【 0 2 3 6】

20

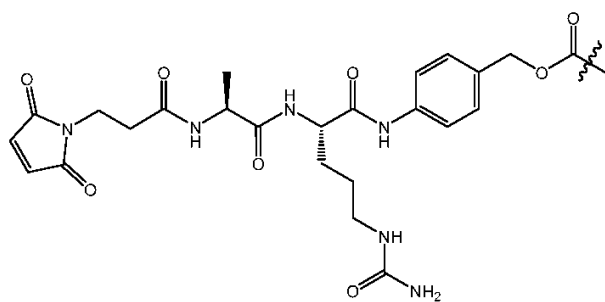
30

40

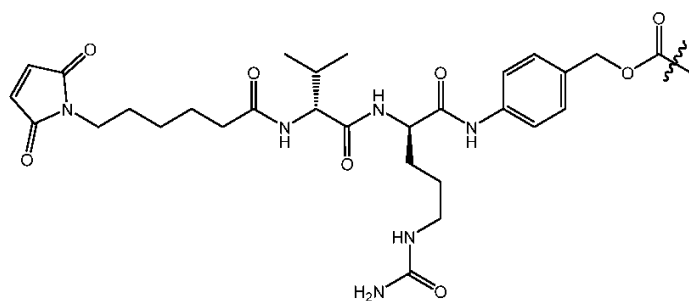
50

【化 9 - 1】

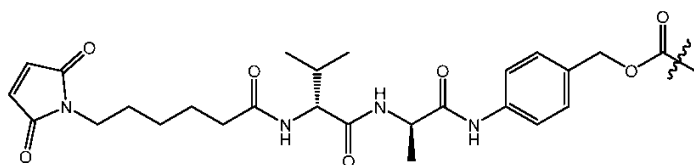
(IVb.1)



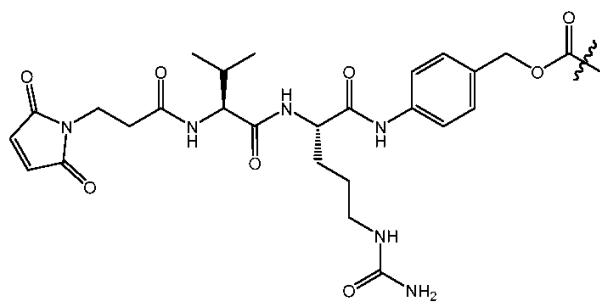
(IVb.2)



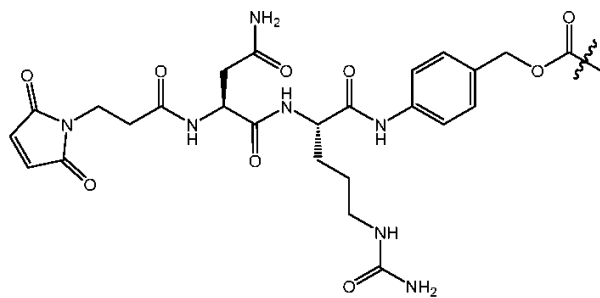
(IVb.3)



(IVb.4)



(IVb.5)



【 0 2 3 7】

10

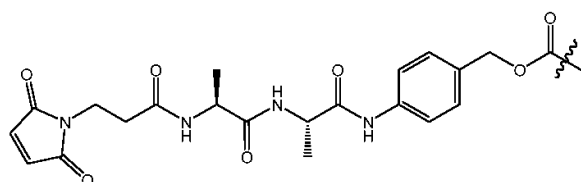
20

30

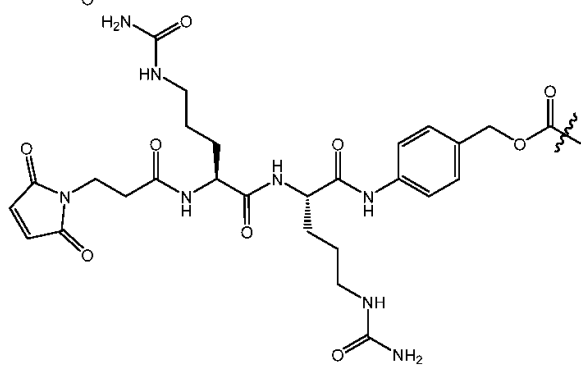
40

50

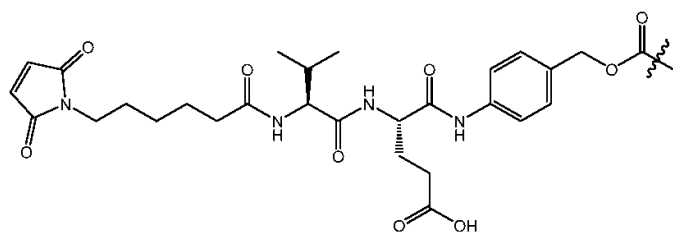
(IVb.6)



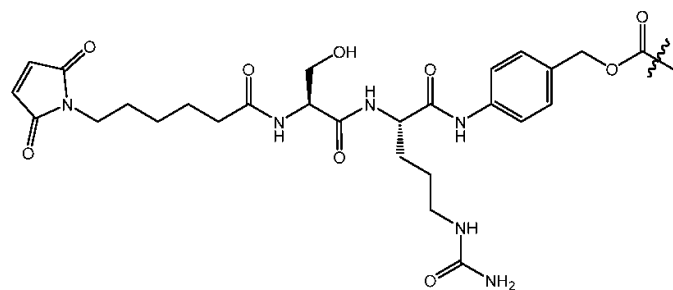
(IVb.7)



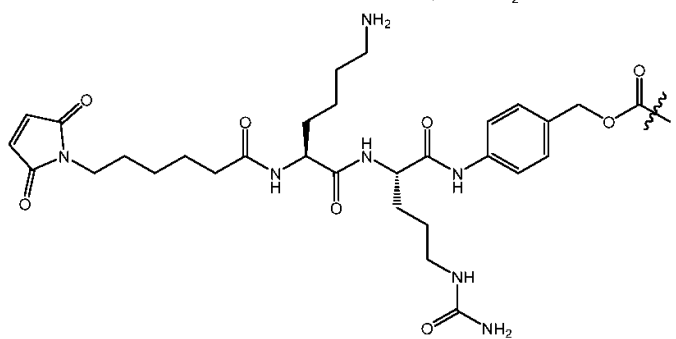
(IVb.8)



(IVb.9)



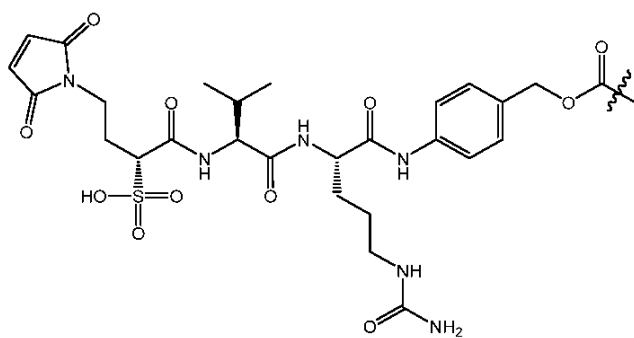
(IVb.10)



【 0 2 3 8 】

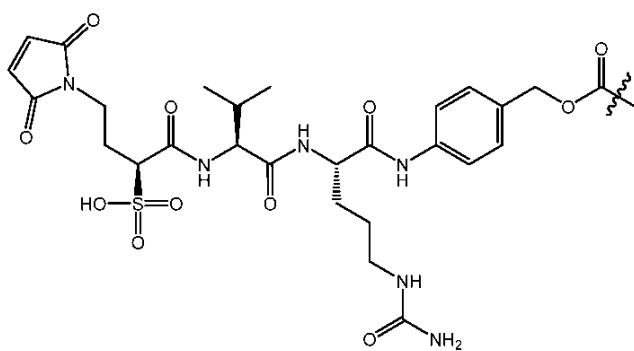
【化 9 - 3】

(IVb.11)



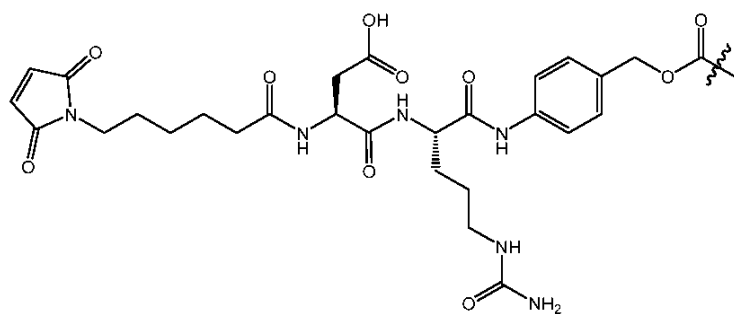
10

(IVb.12)



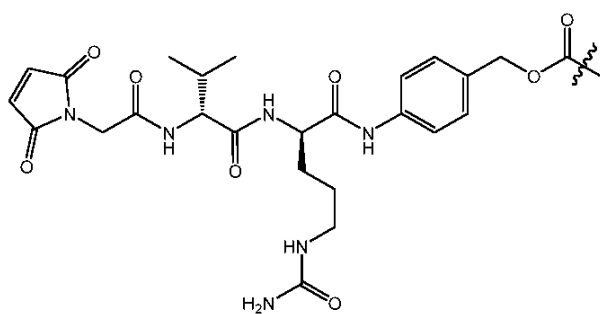
20

(IVb.13)



30

(IVb.14)



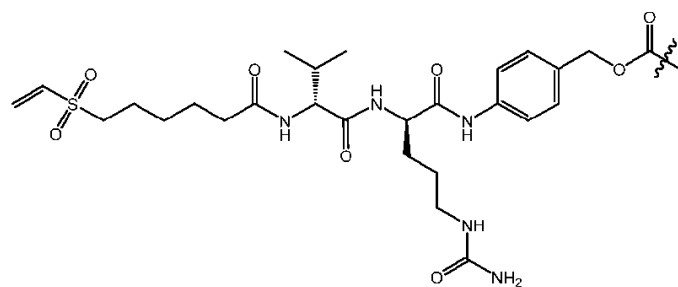
40

【 0 2 3 9】

50

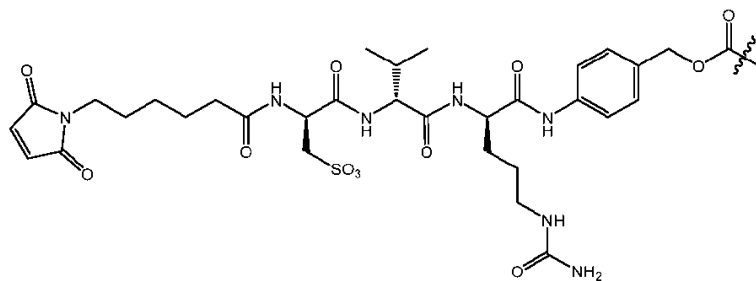
【化 9 - 4】

(IVb.15)



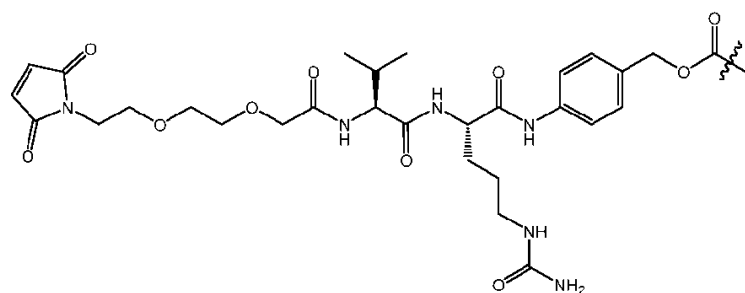
10

(IVb.16)



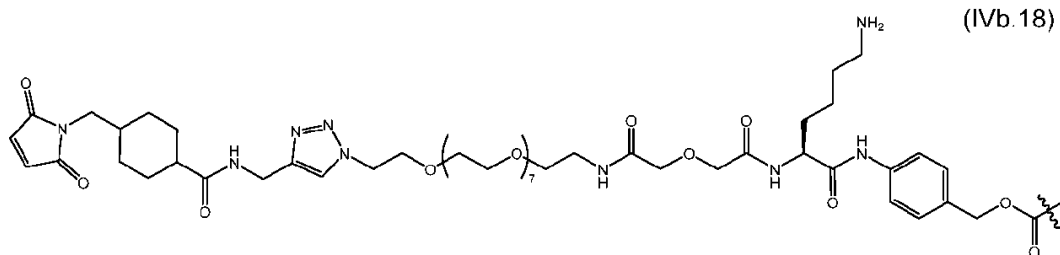
20

(IVb.17)



30

(IVb.18)



(IVb.19)

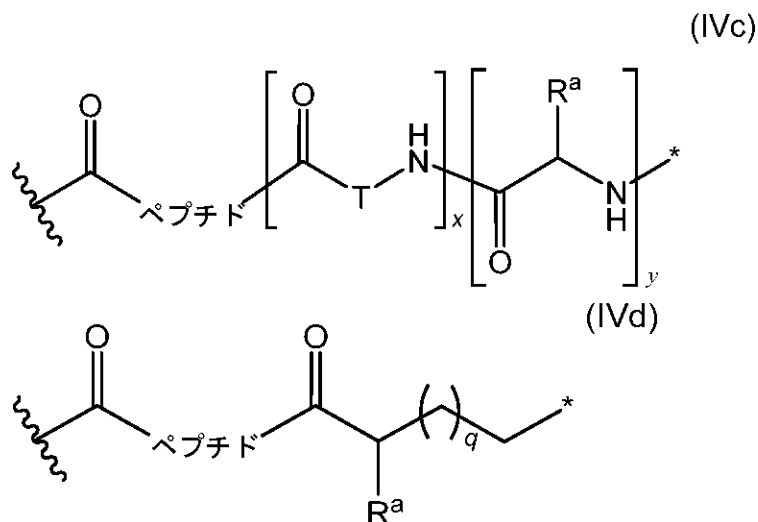
40

【0240】

特定の実施形態において、リンカーは、酵素的に切断可能なペプチド部分、例えば、構造式 (IVc) または (IVd) :

【0241】

【化 1 0】



10

を含むリンカーまたはその塩を含み、式中、ペプチドは、リソソーム酵素によって切断可能なペプチド（C→Nで例示され、カルボキシおよびアミノ「末端」は示されていない）を表し；Tは、1つまたは複数のエチレングリコール単位もしくはアルキレン鎖、またはそれらの組合せを含むポリマーを表し；R^aは、水素、アルキル、スルホネートおよびメチルスルホネートから選択され；pは、0から5の範囲の整数であり；qは、0または1であり；xは、0または1であり；yは、0または1であり；

20

【0 2 4 2】

【化 1 1】

/

は、リンカーの細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質への取り付け点を表し；*は、リンカーの残部への取り付け点を表す。

30

【0 2 4 3】

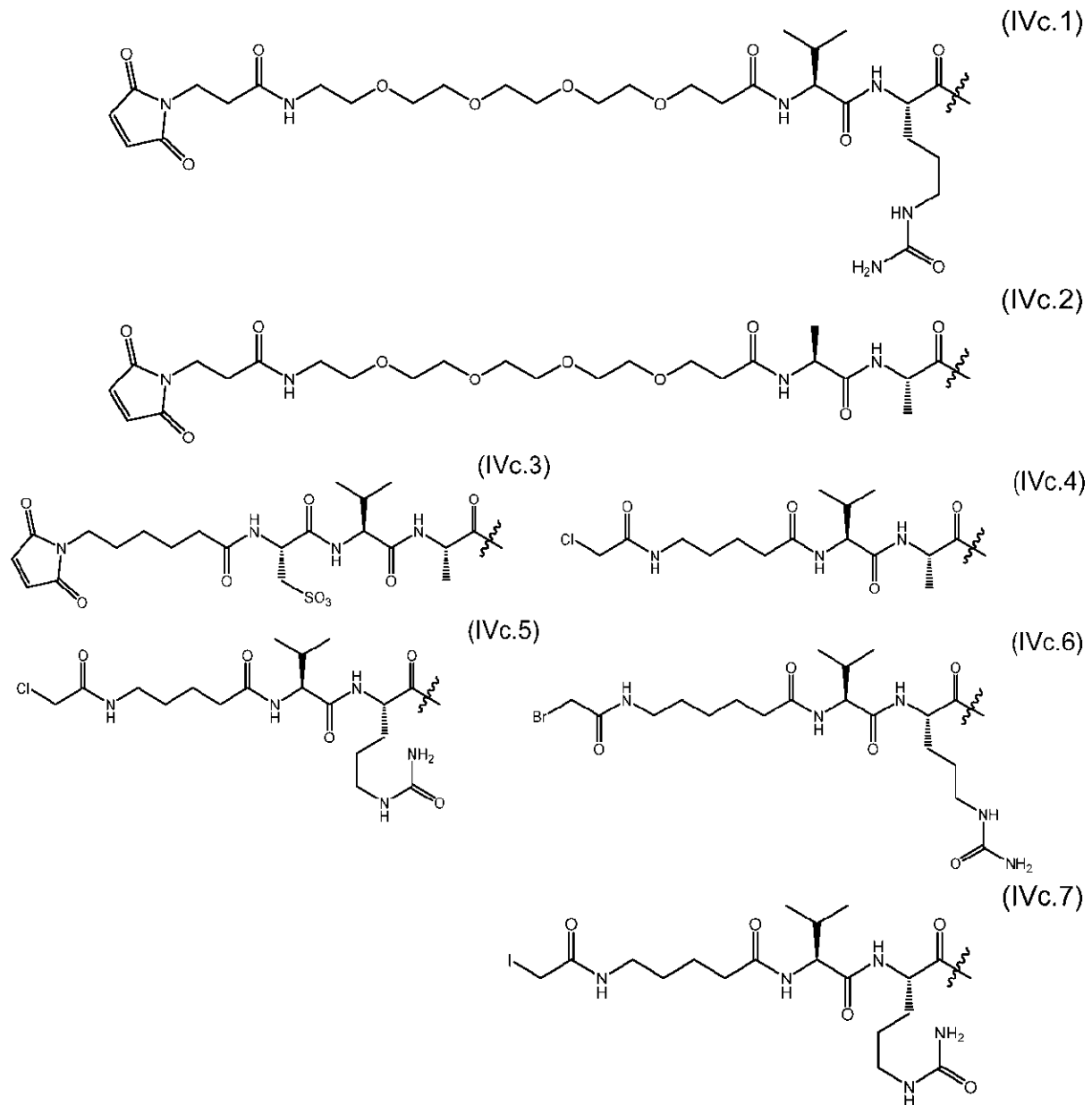
本開示の抗グリコCD44ADC中に含まれ得る構造式(IVc)によるリンカーの特定の例示的な実施形態としては、以下で例示されるリンカーが挙げられる（例示されるように、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合で連結するのに好適な基を含む）：

【0 2 4 4】

40

50

【化 1 2】



10

20

30

【0 2 4 5】

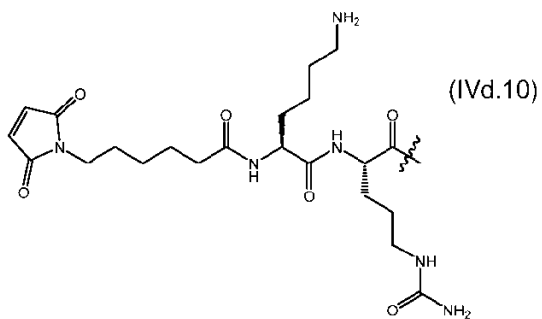
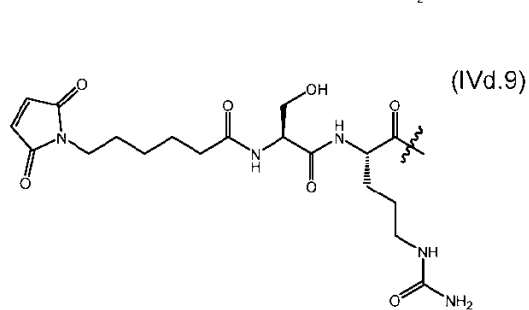
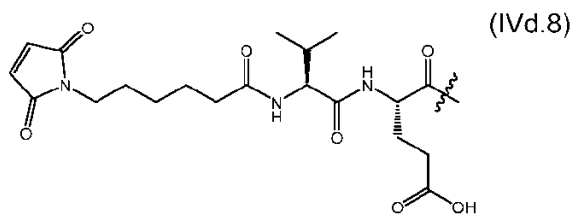
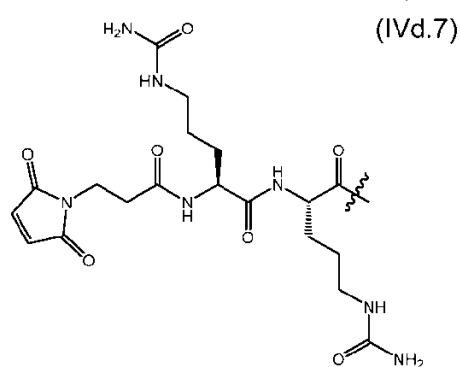
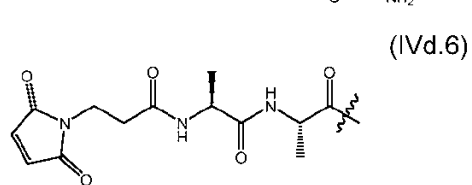
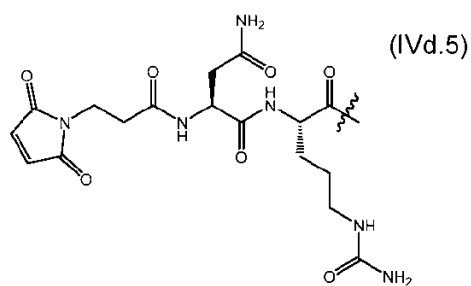
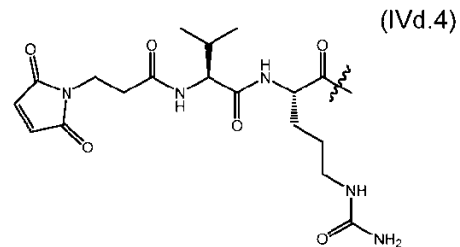
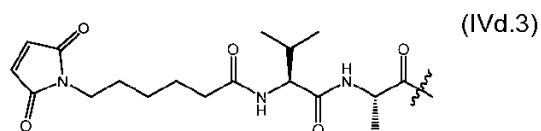
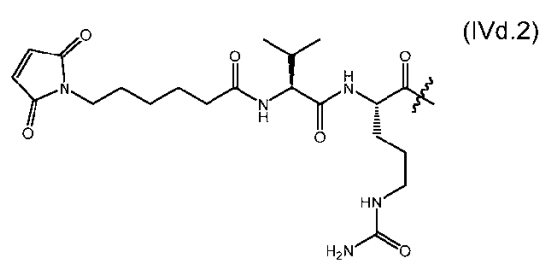
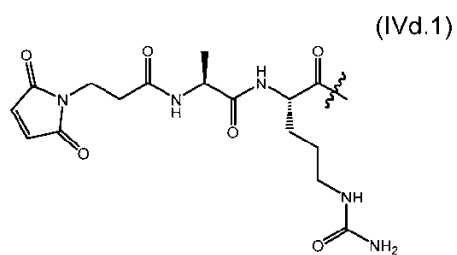
本開示の抗グリコCD44 ADC中に含まれ得る構造式(IVd)によるリンカーの特定の例示的な実施形態としては、以下で例示されるリンカーが挙げられる(例示されるように、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合で連結するのに好適な基を含む)：

【0 2 4 6】

40

50

【化 1 3 - 1】



【 0 2 4 7】

10

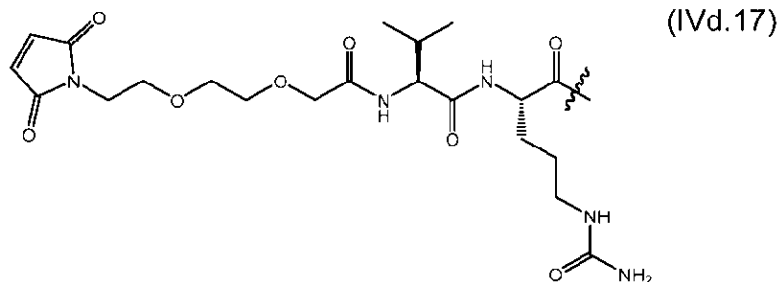
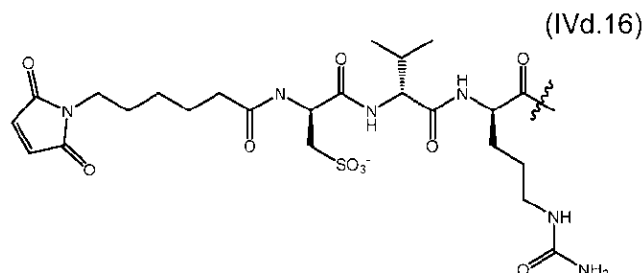
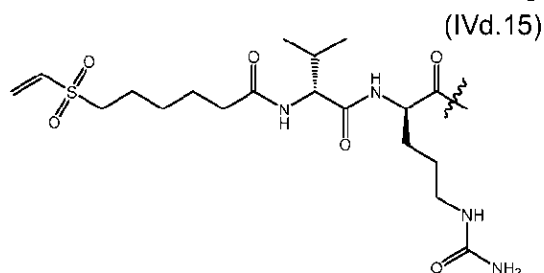
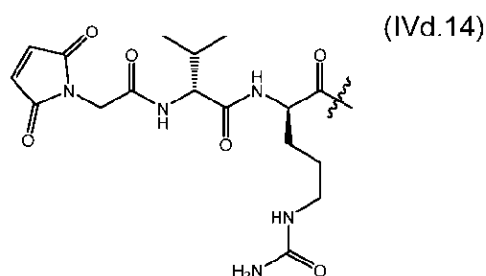
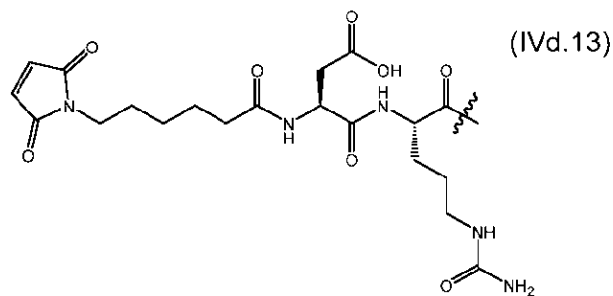
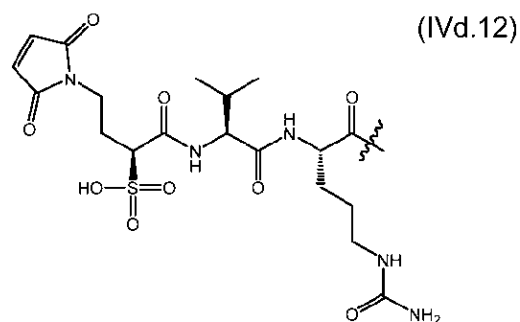
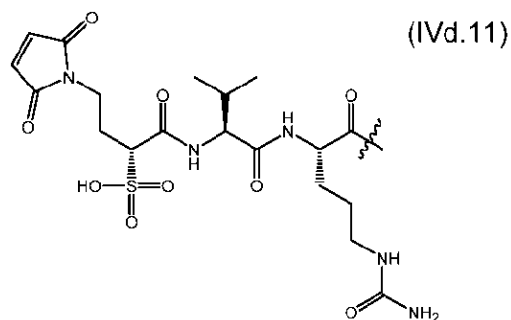
20

30

40

50

【化 1 3 - 2】



【0248】

特定の実施形態において、構造式 (IVa)、(IVb)、(IVc)、または (IVd) を含むリンカーは、酸性媒体への曝露によって切断可能なカーボネート部分をさらに含む。特定の実施形態において、リンカーは、酸素を介して細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質に取り付けられる。

【0249】

6.2.4. 切断不可能なリンカー

切断可能なリンカーは一定の利点を提供し得るが、本開示の抗グリコCD44 ADCを含むリンカーは、必ずしも切断可能でなくてもよい。切断不可能なリンカーの場合、薬物の放出は、血漿と一部の細胞質内区画との間で特性が異なることに依存しない。薬物の放出は、抗原媒介エンドサイトーシスを介したADCの内在化とリソソーム区画への送達の後に関わり、そこで抗体は、細胞内タンパク質分解を介してアミノ酸レベルに分解されると仮定されている。このプロセスは、薬物、リンカー、およびリンカーが共有結合で取り付けられたアミノ酸残基によって形成される薬物誘導体を放出する。切断不可能なリンカーとのコンジュゲートからのアミノ酸薬物代謝産物は、切断可能なリンカーとのコンジュゲートと比較して、より親水性であり、一般的にはより低い膜透過性であり、それによ

り、より少ないバイスタンダー作用およびより少ない非特異的な毒性が生じる。一般的に、切断不可能なリンカーとのADCは、循環中で切断可能なリンカーとのADCより大きい安定性を有する。切断不可能なリンカーは、アルキレン鎖であってもよく、または天然の重合体、例えば、ポリアルキレングリコールポリマー、アミドポリマーベースのものであってもよいし、またはアルキレン鎖、ポリアルキレングリコールおよび／またはアミドポリマーのセグメントを含んでいてもよい。

【0250】

薬物を抗体に連結するのに使用される様々な切断不可能なリンカーが記載されている。それぞれが参照により本明細書に組み入れられる、Jeffrey et al., 2006, Bioconjug. Chem. 17; 831-840; Jeffrey et al., 2007, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17: 2278-2280; および Jiang et al., 2005, J. Am. Chem. Soc. 127:11254-11255を参照されたい。これらのリンカーはいずれも、本開示の抗グリコCD44 ADC中に含まれていてもよい。

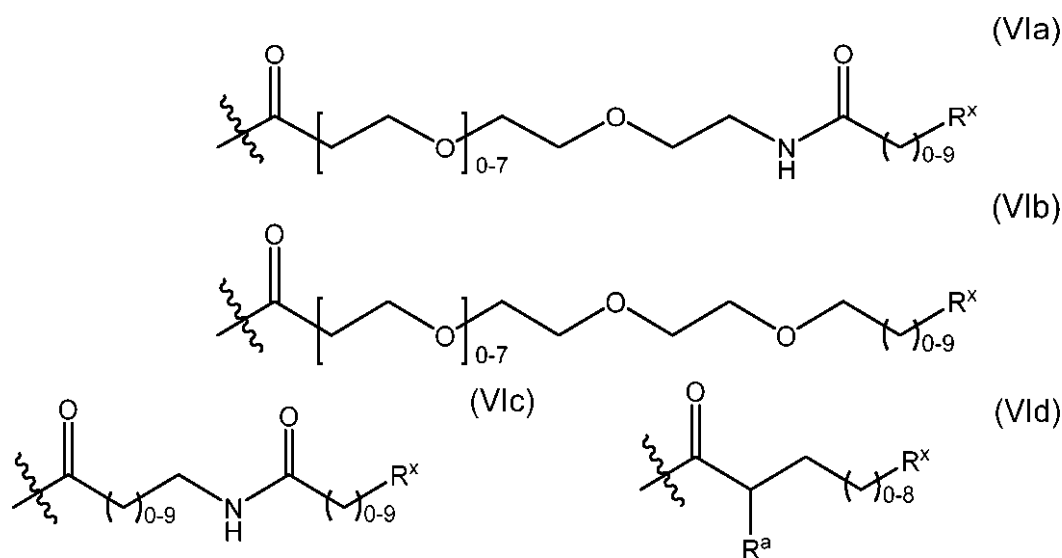
10

【0251】

特定の実施形態において、リンカーは、インビボで切断不可能であり、例えば、構造式(VIa)、(VIb)、(VIc)または(VId)によるリンカーであり(例示された通り)、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合で連結するのに好適な基：

【0252】

【化14】



20

30

またはその塩を含み、式中、 R^a は、水素、アルキル、スルホネートおよびメチルスルホネートから選択され； R^x は、リンカーを抗体に共有結合で連結することが可能な官能基を含む部分であり；

【0253】

【化15】

40

は、リンカーの細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質への取り付け点を表す。

【0254】

本開示の抗グリコCD44 ADC中に含まれ得る構造式(VIa)～(VId)によるリンカーの特定の例示的な実施形態としては、以下で例示されるリンカーが挙げられる(例示されるように、リンカーは、リンカーを抗体に共有結合で連結するのに好適な基を含み、

50

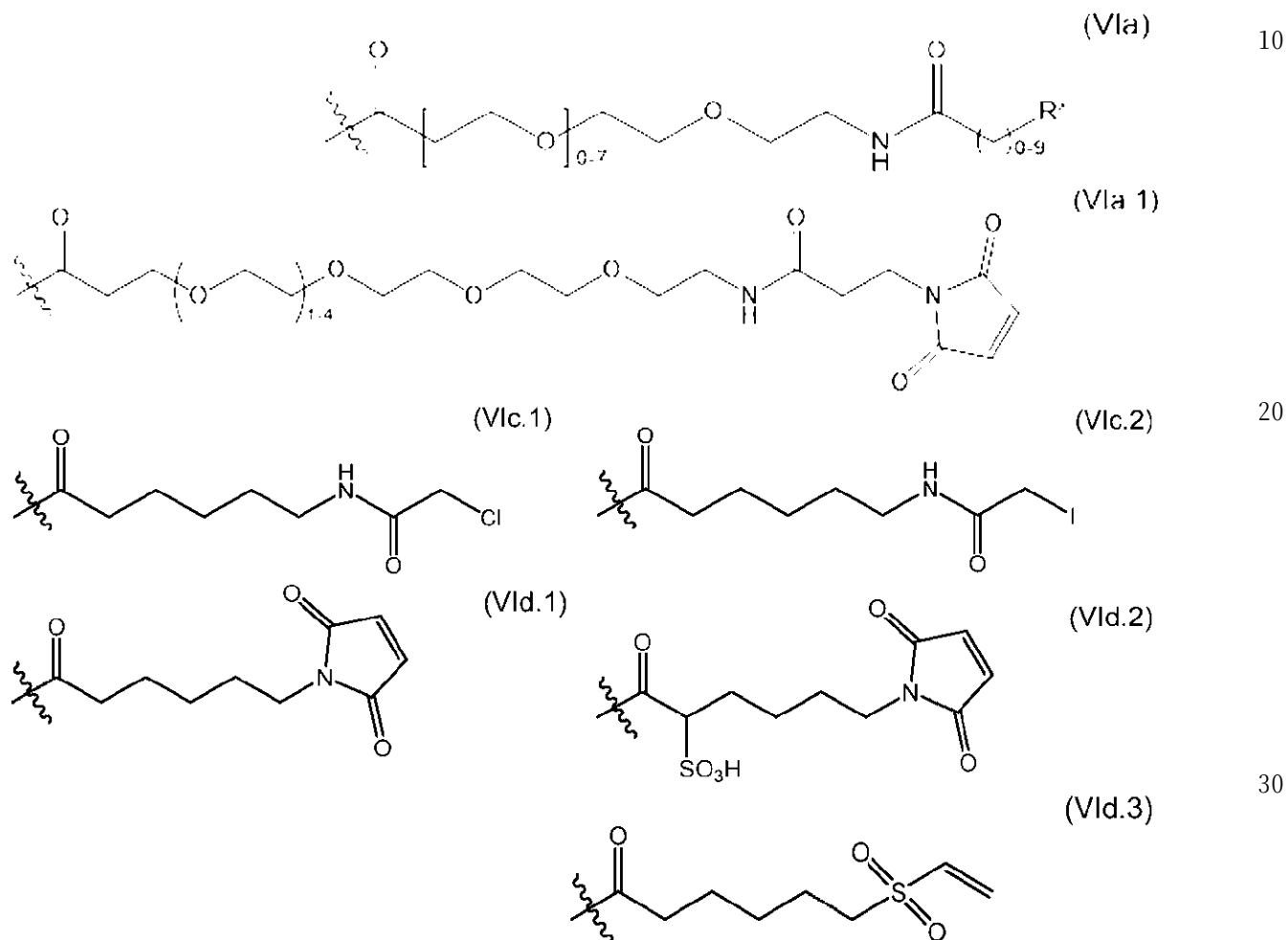
【 0 2 5 5 】

【 化 1 6 】

は、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質）への取り付け点を表す。

【 0 2 5 6 】

【 化 1 7 】



【 0 2 5 7 】

6.2.5. リンカーを抗体に取り付けるのに使用される基

リンカー-薬物シントンを抗体に取り付けてADCを得るために、様々な基を使用することができる。取り付け基は、本質的に求電子性であってもよく、その例としては、マレイミド基、活性化ジスルフィド、活性エステル、例えばNHSエステルおよびHOBtエステル、ギ酸ハロゲン化物、酸ハロゲン化物、ハロゲン化アルキルおよびベンジル、例えばハロアセトアミドが挙げられる。以下で論じられるように、本開示に従って使用することができる「自己安定化」マレイミドおよび「架橋形成ジスルフィド」に関する新興の技術もある。使用される具体的な基は、抗体への取り付け部位に一部依存すると予想される。

【 0 2 5 8 】

抗体コンジュゲーション条件下で自発的に加水分解して安定性が改善されたADC種を生じる「自己安定化」マレイミド基の一例を以下の略図に描写する。米国特許出願公開第20130309256号明細書；さらに、Lyon et al., Nature Biotech published online, doi:10.1038/nbt.2968も参照されたい。

10

20

30

40

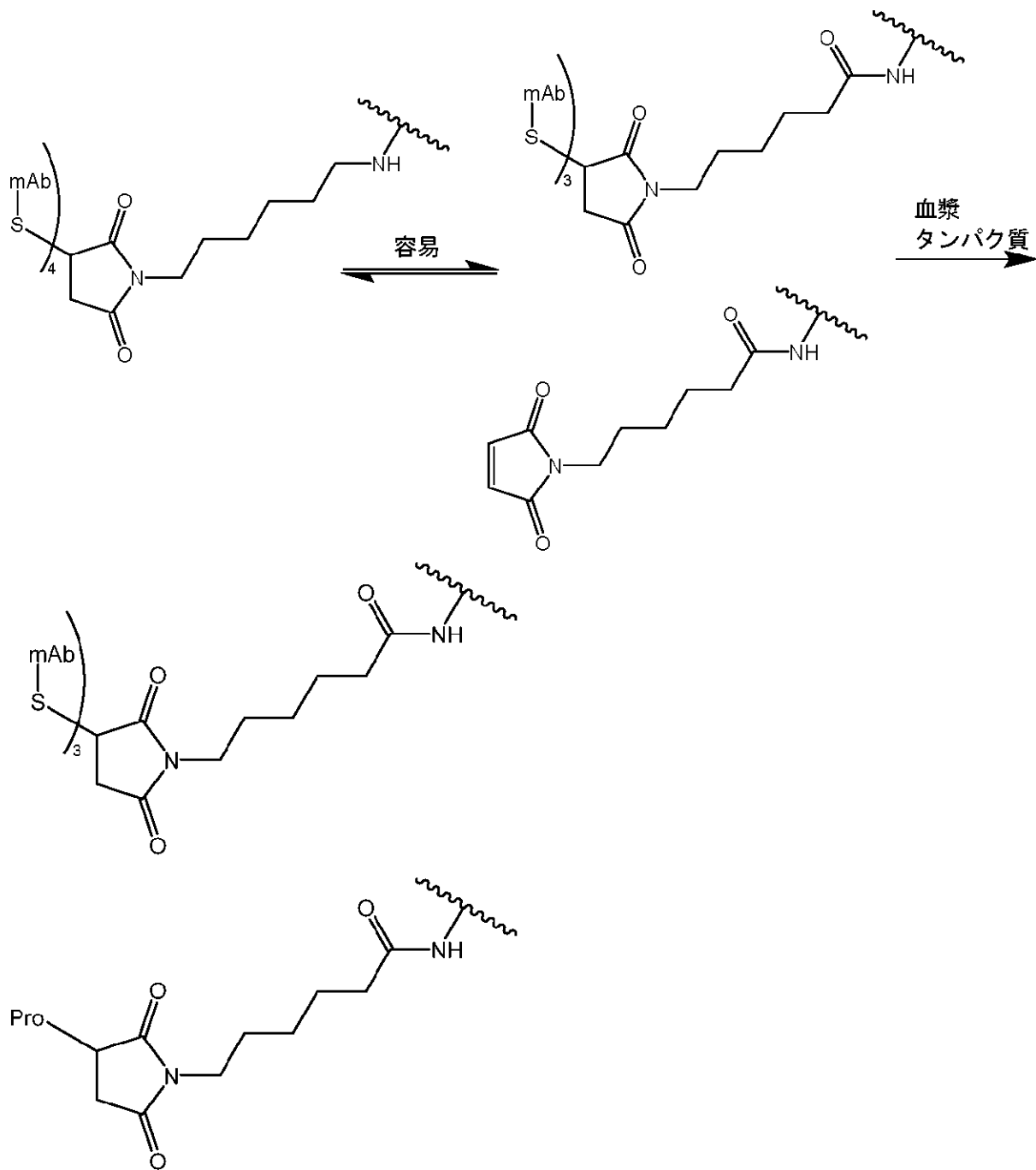
50

【 0 2 5 9 】

通常の系

【 0 2 6 0 】

【 化 1 8 】



10

20

30

40

【 0 2 6 1 】

経時的に「DAR喪失」に至る。

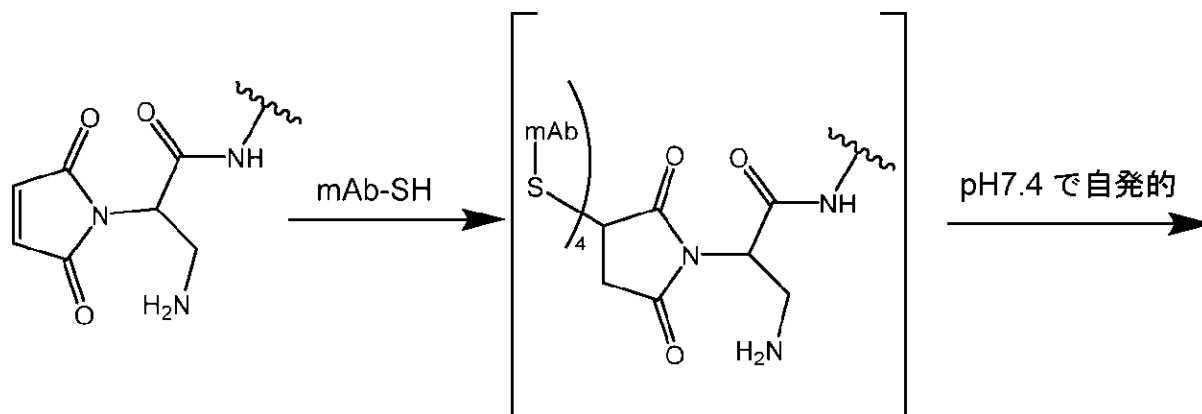
【 0 2 6 2 】

SGN MaLDPR (マレイミドジプロピルアミノ) 系

【 0 2 6 3 】

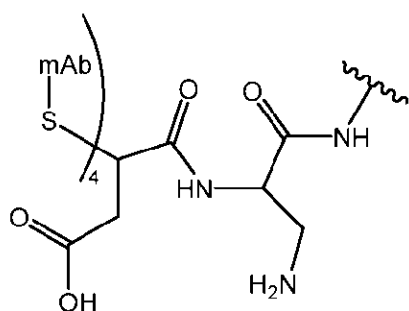
50

【化 19】



10

米国特許出願公開第 20130309256 号明細書



血漿中で安定
(上記で遅いと示された
レトロヘテロ-マイケル反応)

20

【0264】

Polytherics は、天然ヒンジジスルフィド結合の還元から誘導されたスルフィドリル基の対を架橋する方法を開示している。Badescu et al., 2014, Bioconjugate Chem. 25:1124-1136 を参照されたい。この反応を以下の略図に描写する。この手法の利点は、IgG の完全な還元（スルフィドリルの 4 つの対を生じる）とそれに続く 4 当量のアルキル化剤との反応によって富化した DAR4 ADC を合成する能力である。 「架橋されたジスルフィド」を含有する ADC も、安定性が増加したと述べられている。

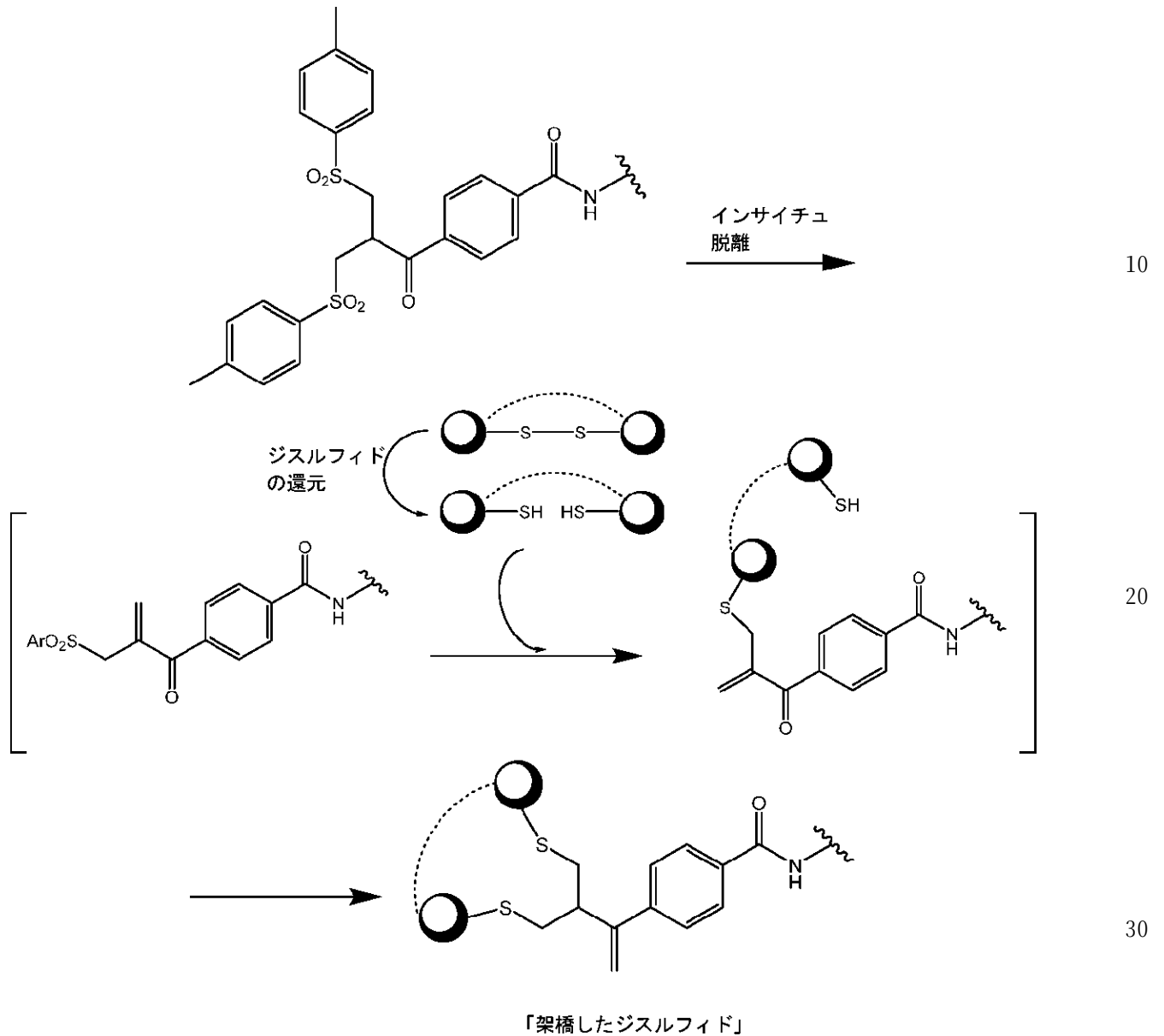
30

【0265】

40

50

【化 2 0】



【0266】

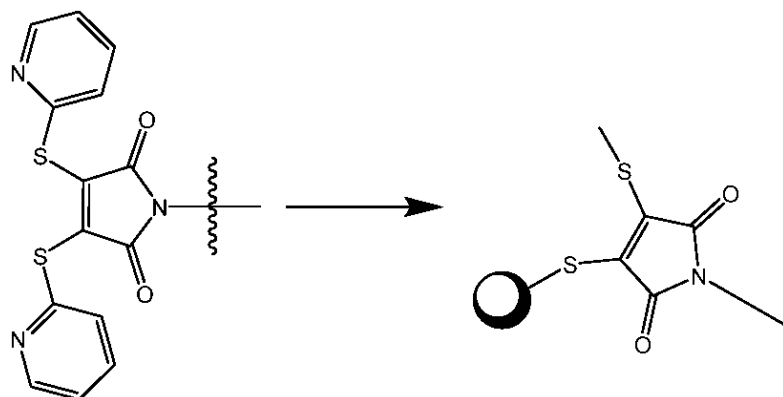
同様に、以下で描写されるように、スルフヒドリル基の対を架橋することが可能なマレイミド誘導体（1、以下）が開発されている。国際公開第2013／085925号パンフレットを参照されたい。

【0267】

40

50

【化 2 1】



10

【0268】

6.2.6. リンカー選択の考察

当業者公知のように、特定のADCのための選択されたリンカーは、これらに限定されないが、抗体への取り付けの部位（例えば、lys、cysまたは他のアミノ酸残基）、薬物の薬理作用団の構造的な拘束、および薬物の親油性などの様々な要因によって影響を受ける可能性がある。具体的なADCのための選択されたリンカーは、具体的な抗体／複合薬に対してこれらの様々な要因のバランスをとることが求められることになる。ADCにおけるリンカーの選択によって影響を受ける要因の総論に関して、Nolting, Chapter 5 “Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates,” In: Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology, vol. 1045, pp. 71-100, Laurent Ducry (Ed.), Springer Science & Business Media, LLC, 2013を参照されたい。

20

【0269】

例えば、ADCは、抗原陽性腫瘍細胞の近くに存在するバイスタンダー抗原陰性細胞を致死させることが観察されている。ADCによるバイスタンダー細胞致死のメカニズムは、ADCの細胞内プロセシング中に形成された代謝産物が役割を果たし得ることを示した。抗原陽性細胞中でのADCの代謝によって生成した中性の細胞傷害性の代謝産物は、バイスタンダー細胞致死において役割を果たすようであるが、電荷を有する代謝産物は、膜を介した媒体への拡散が阻止される可能性があり、それゆえにバイスタンダー致死に影響を与えることができない。特定の実施形態において、リンカーは、ADCの細胞代謝産物によって引き起こされるバイスタンダー致死作用を弱めるように選択される。特定の実施形態において、リンカーは、バイスタンダー致死作用を増加させるように選択される。

30

【0270】

またリンカーの特性も、使用および／または貯蔵条件下でADCの凝集に影響を与える可能性がある。典型的には、文献で報告されたADCは、抗体分子1個当たり3～4個以下の薬物分子を含有する（例えば、Chari, 2008, Acc Chem Res 41:98-107を参照）。より高い薬物対抗体の比率（「DAR」）を得ようとする試みは、特に薬物とリンカーの両方が疎水性の場合、ADCが凝集するため失敗することが多い（King et al., 2002, J Med Chem 45:4336-4343; Hollander et al., 2008, Bioconjugate Chem 19:358-361; Burke et al., 2009 Bioconjugate Chem 20:1242-1250）。多くの例において、3～4より高いDARが、効力増加の手段として有益であり得る。細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質が本質的に疎水性である例において、特に3～4より大きいDARが望ましい例において、ADC凝集を低減させる手段として、相対的に親水性のリンカーを選択することが望ましい場合がある。したがって、特定の実施形態において、リンカーは、貯蔵および／または使用中にADCの凝集を低減する化学成分を取り込んでいる。リンカーは、ADCの凝集を低減するために、極性または親水性基、例えば電荷を有する基または生理学的なpHで電荷を有するようになる基を取り込

40

50

んでいてもよい。例えば、リンカーは、生理学的な pH で、例えばカルボン酸を脱プロトン化する、または例えばアミンをプロトン化する、電荷を有する基、例えば塩または基を取り込んでいてもよい。

【0271】

20もの高いDARをもたらすと報告されている、多数の細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を抗体に連結するのに使用できる例示的な多価リンカーは、その内容が参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる、国際公開第2009/073445号パンフレット；国際公開第2010/068795号パンフレット；国際公開第2010/138719号パンフレット；国際公開第2011/120053号パンフレット；国際公開第2011/171020号パンフレット；国際公開第2013/096901号パンフレット；国際公開第2014/008375号パンフレット；国際公開第2014/093379号パンフレット；国際公開第2014/093394号パンフレット；国際公開第2014/093640号パンフレットに記載されている。

10

【0272】

特定の実施形態において、貯蔵または使用中のADCの凝集は、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって決定した場合、約10%未満である。特定の実施形態において、貯蔵または使用中のADCの凝集は、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）によって決定した場合、10%未満、例えば、約5%未満、約4%未満、約3%未満、約2%未満、約1%未満、約0.5%未満、約0.1%未満であるか、またはそれよりさらに低い。

20

【0273】

6.2.7. 抗グリコCD44 ADCを作製する方法

本開示の抗グリコCD44 ADCは、周知の化学的方法を使用して合成することができる。選択された化学的方法は、数ある中でも、細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質、リンカーを抗体に取り付けるのに使用されるリンカーおよび基の性質に依存すると予想される。一般的に、式（I）によるADCは、以下のスキームに従って調製することができる：



【0274】

式中、D、L、Ab、XYおよびnはこれまでに定義した通りであり、R^XおよびR^Yは、上記で論じられたように、互いに共有結合による連結を形成することが可能な補完的な基を表す。

30

【0275】

R^XおよびR^Y基の性質は、シントンド-L-R^Xを抗体に連結するのに使用される化学的方法に依存すると予想される。一般的に、使用される化学的方法は、抗体の完全性、例えばその標的に結合するその能力を変更しないものであるべきである。好ましくは、コンジュゲートした抗体の結合特性は、コンジュゲートしていない抗体の結合特性に極めて類似していると予想される。分子を抗体などの生体分子にコンジュゲートするための様々な化学的方法および技術が当業界において公知であり、特に抗体にコンジュゲートするためのものが周知である。例えば、Amon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy," in: Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. Eds., Alan R. Liss, Inc., 1985; Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery," in: Controlled Drug Delivery, Robinson et al. Eds., Marcel Dekker, Inc., 2nd Ed. 1987; Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in: Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al., Eds., 1985; "Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," in: Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al., Eds., Academic Press, 1985; Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58;

40

50

P C T 国際公開第 8 9 / 1 2 6 2 4 号パンフレットを参照されたい。これらの化学的方法のいずれも、シントンを抗体に連結するのに使用することができる。

【 0 2 7 6 】

接近可能なリシン残基にシントンを連結するのに有用ないくつかの官能基 R^x および化学的方法は公知であり、一例としては、これらに限定されないが、N H S - エステルおよびイソチオシアネートが挙げられる。

【 0 2 7 7 】

システイン残基の接近可能な遊離のスルフヒドリル基にシントンを連結するのに有用ないくつかの官能基 R^x および化学的方法は公知であり、一例としては、これらに限定されないが、ハロアセチルおよびマレイミドが挙げられる。

10

【 0 2 7 8 】

しかしながら、コンジュゲーションの化学的性質は、利用可能な側鎖基に限定されない。アミンなどの側鎖は、適切な小分子をアミンに連結することによって、他の有用な基、例えばヒドロキシルに変換することができる。この戦略は、抗体の接近可能なアミノ酸残基の側鎖に多官能性の小分子をコンジュゲートすることによって抗体上の利用可能な連結部位の数を増加させるために使用することができる。次いで、これらの「変換された」官能基にシントンを共有結合で連結するのに好適な官能基 R^x が、シントンの含まれる。

【 0 2 7 9 】

抗体はまた、コンジュゲーションのためのアミノ酸残基を含むように操作することができる。A D C の状態で薬物をコンジュゲートするのに有用な非遺伝子コード化アミノ酸残基を含むように抗体を操作するためのアプローチは、非コード化アミノ酸にシントンを連結するのに有用な化学的方法および官能基と共に、Axup et al., 2012, Proc Natl A cad Sci USA, 109(40):16101-16106によって記載されている。

20

【 0 2 8 0 】

典型的には、シントンは、抗体のアミノ酸残基の側鎖に、例えば、接近可能なリシン残基の一級アミノ基または接近可能なシステイン残基のスルフヒドリル基などに連結されている。遊離のスルフヒドリル基は、鎖間のジスルフィド結合を還元することにより得ることができる。

【 0 2 8 1 】

R^y がスルフヒドリル基である場合（例えば、 R^x がマレイミドである場合）の連結では、一般的に、抗体はまず完全または部分的に還元して、システイン残基間の鎖間のジスルフィド架橋を崩壊させる。

30

【 0 2 8 2 】

1 つまたは複数のコドンの突然変異によって、ジスルフィド架橋に参加しないシステイン残基が抗体に入るように操作することができる。これらの対応のないシステインの還元により、コンジュゲーションに好適なスルフヒドリル基が生じる。操作されたシステインを取り込むのに好ましい位置としては、一例として、これらに限定されないが、ヒト I g G₁ 重鎖上の、S 1 1 2 C 位、S 1 1 3 C 位、A 1 1 4 C 位、S 1 1 5 C 位、A 1 7 6 C 位、S 1 8 0 C 位、S 2 5 2 C 位、V 2 8 6 C 位、V 2 9 2 C 位、S 3 5 7 C 位、A 3 5 9 C 位、S 3 9 8 C 位、S 4 2 8 C 位（K a b a t の番号付け）、およびヒト I g カップ 40 軽鎖上の、V 1 1 0 C 位、S 1 1 4 C 位、S 1 2 1 C 位、S 1 2 7 C 位、S 1 6 8 C 位、V 2 0 5 C 位（K a b a t の番号付け）が挙げられる（例えば、米国特許第 7, 5 2 1, 5 4 1 号明細書、米国特許第 7, 8 5 5, 2 7 5 号明細書および米国特許第 8, 4 5 5, 6 2 2 号明細書を参照）。

【 0 2 8 3 】

当業者により理解されていると予想されるように、抗体分子に連結された細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質の数は様々であり得、その結果、一部の抗体が 1 つの連結された薬剤を含有する、一部の抗体が 2 つの連結された薬剤を含有する、一部の抗体が 3 つの連結された薬剤を含有するなど（一部の抗体は連結された薬剤を含有しない）、A D C の集合体は本質的に不均質であり得る。不均質性の程度は、数ある中でも、細胞

50

傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を連結するのに使用される化学的方法に依存すると予想される。例えば、抗体が還元されて取り付けのためのスルフヒドリル基が生じる場合、分子1個当たり0、2、4、6または8個の連結された薬剤を有する抗体の不均質な混合物が産生されることが多い。さらに、取り付け化合物のモル比を制限することによって、分子1個当たり0、1、2、3、4、5、6、7または8個の連結された薬剤を有する抗体が産生されることが多い。したがって、文脈に応じて、述べられるDARは、抗体の集合体の平均であり得ることが理解されると予想される。例えば、「DAR4」は、特定のDARピークを単離するために精製に供されておらず、抗体1個当たりの取り付けられた細胞増殖抑制性物質および／または細胞傷害性物質の数が異なる（例えば、抗体1個当たり0、2、4、6、8個の薬剤）ADC分子の不均質な混合物を含み得るが、平均の薬物対抗体の比率が4であるADC調製物を指すことができる。同様に、一部の実施形態において、「DAR2」は、平均の薬物対抗体の比率が2である不均質なADC調製物を指す。

10

【0284】

富化した調製物が望ましい場合、既定の数の連結された細胞傷害性物質および／または細胞増殖抑制性物質を有する抗体は、不均質な混合物の精製を介して、例えば、カラムクロマトグラフィー、例えば、疎水性相互作用クロマトグラフィーを介して得ることができる。

【0285】

純度は、当業界において公知のように、様々な方法によって評価することができる。具体的な例として、ADC調製物は、HPLCまたは他のクロマトグラフィーを介して分析してもよく、純度は、得られたピークの曲線下面積を分析することによって評価してもよい。

20

【0286】

6.3 キメラ抗原受容体

本発明の開示は、本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントを含むキメラ抗原受容体(CAR)を提供する。一部の実施形態において、CARは、本明細書に記載される1つまたは複数のscFv（例えば、1または2つ）を含む。例えば、CARは、リンカー配列（例えば、4～15アミノ酸の）によって共有結合で接続された2つのscFvを含んでいてもよい。例示的なリンカーとしては、GGGGS（配列番号183）および(GGGGS)₃（配列番号184）が挙げられる。

30

【0287】

本開示のCARは、典型的には、膜貫通ドメインに作動可能に連結した細胞外ドメインを含み、これが順にシグナル伝達のための細胞内ドメインに作動可能に連結している。CARは、細胞外ドメインのN末端にシグナルペプチドをさらに含んでいてもよい（例えば、ヒトCD8シグナルペプチド）。一部の実施形態において、本開示のCARは、アミノ酸配列MALPVTALLPLALLHAARP（配列番号175）を含むヒトCD8シグナルペプチドを含む。

【0288】

本開示のCARの細胞外ドメインは、抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの配列（例えば、セクション6.1またはグループIの番号付けされた実施形態1～359およびグループIIの1～147に記載される通り）を含む。

40

【0289】

例示的な膜貫通ドメイン配列および細胞内ドメイン配列は、それぞれセクション6.3.1および6.3.2に記載されている。

【0290】

本明細書に記載される数々の融合タンパク質（例えば、グループIの番号付けされた実施形態385～414およびグループIIの173～197）は、CARであり、CARに関連する開示は、このような融合タンパク質に適用される。本明細書に記載される他の融合タンパク質は、T細胞受容体融合タンパク質（例えば、グループIの番号付けされた

50

実施形態 462～490 およびグループ II の 236～264) であり、これは、STAR (例えば、グループ I の番号付けされた実施形態 491～517 およびグループ II の 265～309) を含む。TCR 融合タンパク質および STAR に関連する開示は、このような融合タンパク質に適用される。

【0291】

6.3.1. 膜貫通ドメイン

膜貫通ドメインに関して、CAR は、CAR の細胞外ドメインに作動可能に連結された (例えば、融合した) 膜貫通ドメインを含むように設計することができる。

【0292】

膜貫通ドメインは、天然源または合成源のいずれに由来するものでもよい。源が天然である場合、ドメインは、あらゆる膜結合または膜貫通タンパク質由来であり得る。この開示における特定の用途の膜貫通領域は、T 細胞受容体、CD28、CD3 イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154 のアルファ、ベータまたはゼータ鎖由来であってもよい (すなわち、その少なくとも膜貫通領域を含んでもよい)。一部の場合において、ヒト Ig (免疫グロブリン) ヒンジなどの様々なヒトヒンジも同様に採用することができる。

【0293】

一実施形態において、膜貫通ドメインは、合成である (すなわち、天然に存在しない)。合成膜貫通ドメインの例は、ロイシンおよびバリンなどの主として疎水性の残基を含むペプチドである。好ましくは、合成膜貫通ドメインの各末端に、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンの三つ組が見出されると予想される。任意選択で、短いオリゴまたはポリペプチドリinker、好ましくは 2 から 10 アミノ酸の長さのものが、膜貫通ドメインと CAR の細胞質内シグナル伝達ドメインとの間に連結を形成することができる。グリシン-セリンの二つ組は、特に好適なリンカーを提供する。

【0294】

一実施形態において、本開示の CAR における膜貫通ドメインは、CD8 膜貫通ドメインである。一実施形態において、CD8 膜貫通ドメインは、アミノ酸配列 Y L H L G A L G R D L W G P S P V T G Y H P L L (配列番号 185) を含む。

【0295】

一実施形態において、本開示の CAR における膜貫通ドメインは、CD28 膜貫通ドメインである。一実施形態において、CD28 膜貫通ドメインは、アミノ酸配列 F W V L V V G G V L A C Y S L L V T V A F I I F W V (配列番号 186) を含む。

【0296】

一部の場合において、本開示の CAR の膜貫通ドメインは、CD8a ヒンジドメインによって細胞外ドメインに連結されている。一実施形態において、CD8a ヒンジドメインは、アミノ酸配列 T T T 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 (配列番号 187) を含む。別の実施形態において、CD8a ヒンジドメインは、アミノ酸配列 T T T P A P R P P T P A P T I A S 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 (配列番号 176) を含む。

【0297】

一部の場合において、本開示の CAR の膜貫通ドメインは、ヒト Ig G4-ショートヒンジによって細胞外ドメインに連結されている。一実施形態において、ヒト Ig G4-ショートヒンジは、アミノ酸配列 E S K Y G P P C P S C P (配列番号 177) を含む。

【0298】

一部の場合において、本開示の CAR の膜貫通ドメインは、ヒト Ig G4-ロングヒンジによって細胞外ドメインに連結されている。一実施形態において、ヒト Ig G4-ロングヒンジは、アミノ酸配列

【0299】

10

20

30

40

50

【化 2 2】

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLY
SRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKM (配列番号 178)

を含む。

【0300】

10

6.3.2. 細胞内ドメイン

本開示のCARの細胞内シグナル伝達ドメインは、CARが発現される免疫細胞の正常なエフェクター機能の少なくとも1つの活性化に関与する。用語「エフェクター機能」は、細胞の特殊化した機能を指す。例えばT細胞のエフェクター機能は、細胞溶解活性またはサイトカインの分泌を含むヘルパー活性であり得る。したがって、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、エフェクター機能シグナルを変換し、細胞が特殊化した機能を実行するように方向付けるタンパク質の部分を目指す。通常、細胞内シグナル伝達ドメイン全体が採用できるが、多くの場合において、鎖全体を使用することは必ずしも必要ではない。細胞内シグナル伝達ドメインの短縮化された部分の使用される限りにおいて、このような短縮化された部分は、それがエフェクター機能シグナルを変換しさえすれば、無傷の鎖の代わりに使用することができる。したがって細胞内シグナル伝達ドメインという用語は、エフェクター機能シグナルを変換するのに十分な、細胞内シグナル伝達ドメインのあらゆる短縮化された部分を含むことを意味する。

20

【0301】

本開示のCARで使用するための細胞内シグナル伝達ドメインの好ましい例としては、抗原受容体と結合した後に協同的に作用してシグナル伝達を開始させるT細胞受容体(TCR)および補助受容体の細胞質内配列、加えて、これらの配列のあらゆる誘導体またはバリエーション、および同じ機能的な能力を有するあらゆる合成配列が挙げられる。

【0302】

TCR単独により生成したシグナルは、T細胞の完全な活性化には不十分な場合があり、二次または共刺激シグナルも必要である。したがって、T細胞の活性化は、2つの別個のクラスの細胞質内シグナル伝達配列、すなわち、TCRを介して抗原依存性の一次活性化を開始させるシグナル伝達配列(一次細胞質内シグナル伝達配列)、および抗原非依存性の方式で作用して、二次または共刺激シグナルをもたらすシグナル伝達配列(二次細胞質内シグナル伝達配列)によって媒介されることができる。

30

【0303】

一次細胞質内シグナル伝達配列は、刺激によるか、または阻害によるかのいずれかでTCR複合体の一次活性化を調節する。刺激による方式で作用する一次細胞質内シグナル伝達配列は、免疫受容体チロシンベース活性化モチーフまたはITAMとして公知のシグナル伝達モチーフを含有していてもよい。

40

【0304】

本開示のCARにおいて特定の用途を有するITAMを含有する一次細胞質内シグナル伝達配列の例としては、TCRゼータ、FcRガンマ、FcRベータ、CD3ガンマ、CD3デルタ、CD3イプシロン、CD5、CD22、CD79a、CD79b、およびCD66d由来のものが挙げられる。本開示のCARにおける細胞質内シグナル伝達分子は、CD3-ゼータ由来の細胞質内シグナル伝達配列を含むことが特に好ましい。

【0305】

好ましい実施形態において、CARの細胞質内ドメインは、ITAMを含有する一次細胞質内シグナル伝達配列ドメイン(例えば、CD3-ゼータのもの)そのものを含む、または本開示のCARの状況で有用な他のあらゆる望ましい細胞質内ドメインと組み合わせ

50

て含むように設計される。例えば、C A Rの細胞質内ドメインは、C D 3ゼータ鎖部分および共刺激シグナル伝達領域を含んでいてもよい。

【0306】

共刺激シグナル伝達領域は、1つまたは複数の共刺激分子の細胞内ドメインを含むC A Rの部分を目指す。共刺激分子は、抗原に対するリンパ球の効率的な応答に必要な、抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子である。このような分子の例としては、C D 27、C D 28、4-1BB (C D 137)、O X 40、C D 30、C D 40、P D-1、I C O S、リンパ球機能関連抗原-1 (L F A-1)、C D 2、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、B 7-H 3、およびC D 83、D A P 10、G I T Rと特異的に結合するリガンドなど、ならびにそれらの組合せが挙げられる。

10

【0307】

本開示のC A Rの細胞質内シグナル伝達部分内の細胞質内シグナル伝達配列は、ランダムな、または特定された順番で互いに連結されていてもよい。任意選択で、短いオリゴまたはポリペプチドリinker、好ましくは2から10アミノ酸の長さのものが、連結を形成することができる。グリシン-セリンの二つ組は、特に好適なリンカーを提供する。

【0308】

一部の実施形態において、細胞質内ドメインは、C D 3-ゼータのシグナル伝達ドメインおよびC D 28のシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態において、C D 3-ゼータのシグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列

20

【0309】

【化23】

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (配列番号
番号 180)

を含む。一部の実施形態において、C D 28のシグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列 R S K R S R L L H S D Y M N M T P R R P G P T R K H Y Q P Y A P P R D F A A Y R S (配列番号 179) を含む。

30

【0310】

別の実施形態において、細胞質内ドメインは、C D 3-ゼータのシグナル伝達ドメインおよび4-1BBのシグナル伝達ドメインを含む。

【0311】

別の実施形態において、細胞質内ドメインは、C D 3-ゼータのシグナル伝達ドメインおよびC D 2のシグナル伝達ドメインを含む。一部の実施形態において、C D 2のシグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列

【0312】

【化24】

TKRKKQRSRRNDEELETRAHRVATEERGRKPHQIPASTPQNPATSQHPPPPGHRSQAPSHR
PPPPGHRVQHQPQKRPPAPSGTQVHQKGPPLPRPRVQPKPPHGAENSLSPSSN (配列
番号 289)

40

を含む。

【0313】

別の実施形態において、細胞質内ドメインは、C D 3-ゼータのシグナル伝達ドメイン、C D 28のシグナル伝達ドメイン、およびC D 2のシグナル伝達ドメインを含む。

【0314】

50

別の実施形態において、細胞質内ドメインは、CD3-ゼータのシグナル伝達ドメイン、4-1BBのシグナル伝達ドメイン、およびCD2のシグナル伝達ドメインを含む。

【0315】

細胞質内ドメインにおけるCD2シグナル伝達ドメインの包含は、CAR T細胞のサイトカイン生産を調整することを可能にする（内容が参照によりその全体で本明細書に組み入れられる米国特許第9,783,591号明細書を参照）。米国特許第9,783,591号明細書で開示された通り、CAR細胞質内ドメインにおけるCD2シグナル伝達ドメインの包含は、プラスおよびマイナス両方の方向でCAR T細胞のサイトカイン生産を著しく変更し、その作用は、細胞質内ドメインの共刺激シグナル伝達領域における他の共刺激分子の存在および同一性に依存する。例えば、一部の実施形態において、細胞質内ドメインの共刺激シグナル伝達領域におけるCD2シグナル伝達ドメインおよびCD28シグナル伝達ドメインの包含は、CD28を有するがCD2を有さないCARを発現するT細胞と比べて、著しく少ないIL2の放出をもたらす。より少ないIL2を放出するCAR T細胞は、免疫抑制性Treg細胞の増殖の低減をもたらすことができる。一部の実施形態において、細胞質内ドメインの共刺激シグナル伝達領域におけるCD2シグナル伝達ドメインの包含は、CAR T細胞におけるカルシウム流入を著しく低減させる。これは、活性化によって誘導されたCAR T細胞死を低減させることを示した。

【0316】

6.4 T細胞受容体融合タンパク質

本発明の開示は、本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントを含むT細胞受容体(TCR)融合タンパク質を提供する。一部の実施形態において、TCR融合タンパク質は、本明細書に記載されるFabを含む。他の実施形態において、TCR融合タンパク質は、本明細書に記載されるように1つまたは複数のscFv（例えば、1または2つ）を含む。TCR融合タンパク質が2つのscFvを含む実施形態において、2つのscFvは、リンカー配列（例えば、4～15アミノ酸の）によって共有結合で接続されていてもよい。例示的なリンカーとしては、GGGGS（配列番号183）および（GGGGS）₃（配列番号184）が挙げられる。

【0317】

本開示のTCR融合タンパク質は、典型的には、膜貫通ドメインに作動可能に連結した細胞外ドメインを含み、これが順に、細胞内シグナル伝達ドメインに作動可能に連結している。特定の実施形態において、細胞外ドメインは、本開示の抗原結合フラグメントを含む。他の実施形態において、細胞外ドメインは、抗原結合フラグメントおよびTCR複合体サブユニットの細胞外ドメインまたはそのフラグメントを含む。一部の実施形態において、TCR複合体サブユニットの細胞外ドメインのフラグメントは、TCR複合体サブユニットの定常領域の全部またはそのフラグメントを含む。他の実施形態において、TCR複合体の細胞外ドメインのフラグメントは、TCR複合体サブユニットの可変領域の全部またはそのフラグメントを含む。さらに他の実施形態において、TCR複合体の細胞外ドメインのフラグメントは、TCR複合体サブユニットの定常領域の全部またはそのフラグメント、およびTCR複合体サブユニットの可変領域の全部またはそのフラグメントを含む。「TCR複合体」は、本明細書で使用される場合、αおよびβTCR鎖、またはδおよびγTCR鎖；ならびに3つのシグナル伝達二量体CD3εγ、CD3εδ、およびCD3ζζを含む八量体のTCR複合体を指す。「TCR複合体サブユニット」は、会合してTCR複合体を形成する個々の単量体（例えば、TCRα鎖、TCRβ鎖、TCRδ鎖、TCRγ鎖、CD3ε、CD3γ、CD3δ、およびCD3ζ）を指す。

【0318】

一部の実施形態において、TCR融合タンパク質は、本開示の抗原結合フラグメント、TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン、およびTCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。特定の実施形態において、TCR融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端の順で、本開示の抗原結合フラグメント、TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン、およびTCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメイ

ンを含む。TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメインおよびTCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインは、同じTCR複合体サブユニット（例えば、TCR α 鎖）由来であってもよいし、または異なるTCR複合体サブユニット（例えば、CD3 ϵ の膜貫通ドメインおよびTCR α 鎖の細胞内シグナル伝達ドメイン）由来であってもよい。

【0319】

他の実施形態において、TCR融合タンパク質は、本開示の抗原結合フラグメント、TCR複合体サブユニットの細胞外ドメインまたはそのフラグメント、TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン、およびTCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。特定の実施形態において、TCR融合タンパク質は、アミノ末端からカルボキシ末端の順で、本開示の抗原結合フラグメント、TCR複合体サブユニットの細胞外ドメインまたはそのフラグメント、TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン、およびTCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む。TCR複合体サブユニットの細胞外ドメイン、TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン、およびTCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインは、同じTCR複合体サブユニット（例えば、TCR α 鎖）由来であってもよいし、または異なるTCR複合体サブユニット（例えば、CD3 ϵ の細胞外ドメインまたはそのフラグメント、CD3 ϵ の膜貫通ドメインおよびTCR α 鎖の細胞内シグナル伝達ドメイン）由来であってもよい。

【0320】

一部の実施形態において、TCR融合タンパク質の抗原結合フラグメントは、本開示の抗グリコCD44抗体の可変重鎖（V_H）領域を含む。V_H領域に加えて、抗原結合フラグメントは、C_H1ドメインを含んでいてもよい。V_Hは、別個のポリペプチド上のV_L領域と対合していてもよい。抗原結合フラグメントがV_HおよびC_H1領域を含む場合、これらの領域は、V_LおよびC_L領域を含む別個のポリペプチドと対合して、Fabを形成していてもよい。

【0321】

一部の実施形態において、TCR融合タンパク質の抗原結合フラグメントは、本開示の抗グリコCD44抗体の可変軽鎖（V_L）領域を含む。V_L領域に加えて、抗原結合フラグメントは、C_Lドメインを含んでいてもよい。V_Lは、別個のポリペプチド上のV_H領域と対合していてもよい。抗原結合フラグメントがV_LおよびC_L領域を含む場合、これらの領域は、V_HおよびC_H1領域を含む別個のポリペプチドと対合して、Fabを形成していてもよい。

【0322】

特定の実施形態において、第1のTCR融合タンパク質は、V_H領域を含む抗原結合フラグメントを含み、第2のTCR融合タンパク質は、V_L領域を含む抗原結合フラグメントを含む。第1および第2のTCR融合タンパク質が会合して、第1のTCR融合タンパク質のV_Hと第2のTCR融合タンパク質のV_Lとを架橋して会合させることができる。例えば、第1のTCR融合タンパク質は、本開示の抗グリコCD44抗体のV_H領域、ならびに少なくともTCR α の膜間および細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいてもよく、第2のTCR融合タンパク質は、本開示の抗グリコCD44抗体のV_L領域、ならびに少なくともTCR β の膜間および細胞内シグナル伝達ドメインを含んでいてもよい。次いで第1および第2のTCR融合タンパク質が会合して、TCR α/β 二量体およびV_{H/V_L}グリコCD44結合ドメインを形成することができる。一部の実施形態において、TCR融合タンパク質は、第1および第2のTCR融合タンパク質の会合を促進する改変を含む。一部の実施形態において、改変は、TCR複合体サブユニットの細胞外定常領域（例えば、TCR α 、TCR β 、TCR γ 、またはTCR δ 鎖の定常領域）で起こる。特定の実施形態において、第1および第2のTCR融合タンパク質の会合を促進する前記改変は、いわゆる「ノブ-イントゥーホール（knob-into-hole）」の改変であり、これは、TCR融合タンパク質の1つにおける「ノブ」の改変および他のTCR融合タンパク質における「ホール」の改変を含む。TCRに関連するノブ-イントゥーホール技術は、例えば、その内容が参照によりその全体で本明細書に組み入れられる国際公開第2016／

10

20

30

40

50

187349号パンフレットに記載されている。一般的に、この方法は、ヘテロ二量体形成を促進してホモ二量体形成を妨害するように突起が空孔中に配置されるように、第1のポリペプチドの境界に突起（「ノブ」）および第2のポリペプチドの境界に対応する空孔（「ホール」）を導入することを含む。突起は、第1のポリペプチドの境界からの小さいアミノ酸側鎖を、より大きい側鎖（例えば、トリプトファン、リジン、アルギニン、フェニルアラニン、システイン、またはチロシン）で置き換えることによって構築される。突起と同一な、または類似のサイズを有する補償的な空孔は、大きいアミノ酸側鎖をより小さいもの（例えば、グリシン、セリン、スレオニン、バリン、またはアラニン）で置き換えることによって、第2のポリペプチドの境界に作り出される。

【0323】

抗原結合フラグメントおよびTCR複合体サブユニットドメインは、ペプチドリンカーを介して接続されていてもよい。一部の実施形態において、ペプチドリンカーは、グリシン-セリンリンカーを含むかまたはそれからなる。特定の実施形態において、ペプチドリンカーは、 $(G_4S)_n$ を含むかまたはそれからなり、式中、 $n = 1 \sim 4$ である（配列番号316）。

【0324】

特定の実施形態において、本開示のTCR融合タンパク質は、TCR複合体と機能的に会合することが可能であるか、またはそれ以外の方法でTCR複合体に統合することが可能である。一部の実施形態において、本開示のTCR融合タンパク質は、T細胞における少なくとも1つの内因性TCR複合体サブユニットと機能的に相互作用することが可能であり、好ましくは、内因性TCR複合体と機能的に相互作用することが可能であるか、または内因性TCR複合体に統合することが可能である。

【0325】

本開示の1つまたは複数のTCR融合タンパク質を含むTCR複合体も提供される。一部の実施形態において、TCR複合体は、 $TCR\alpha/\beta$ TCR複合体である。他の実施形態において、TCR複合体は、 $TCR\gamma/\delta$ TCR複合体である。

【0326】

別の態様において、本開示のTCR融合タンパク質を含むT細胞が本明細書で提供される。一部の実施形態において、T細胞は、本開示の1つまたは複数のTCR融合タンパク質を取り込んだTCR複合体を含む。

【0327】

TCR融合タンパク質およびそれを含むTCR複合体は、当業界において説明されており、その例としては、例えば、国際公開第2016/187349号パンフレット、国際公開第2018/026953号パンフレット、および国際公開第2019/222275号パンフレットに記載されるT細胞受容体融合コンストラクト（TRuC）およびそのサブユニット；例えば、国際公開第2017/070608号パンフレットに記載される抗体-T細胞受容体（AbTCR）コンストラクトおよびそのサブユニット；ならびに例えば、Liu et al., 2021, Sci Transl Med, 13:eabb5191および国際公開第2020/029774号パンフレットに記載される合成T細胞受容体（TCR）および抗原受容体（STAR）が挙げられる。国際公開第2016/187349号パンフレット、国際公開第2018/026953号パンフレット、国際公開第2019/222275号パンフレット、国際公開第2017/070608号パンフレット、Liu et al., 2021, Sci Transl Med, 13:eabb5191、および国際公開第2020/029774号パンフレットのそれぞれの内容は、この参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる。

【0328】

6.4.1. 合成T細胞受容体抗原受容体キメラ

本発明の開示は、本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントを含む合成T細胞受容体（TCR）および抗原受容体（STAR）を提供する。一部の実施形態において、STARは、本明細書に記載される少なくとも1つの抗グリコCD

10

20

30

40

50

4 4 可変重鎖および少なくとも1つの抗グリコCD 4 4 可変軽鎖を含む。STARは、Liu et al., 2021, Sci Transl Med, 13:eabb5191および国際公開第2020/029774号パンフレットに記載されており、それぞれの内容は、この参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる。

【0329】

本開示のSTARは、典型的には、フューリン-p 2 A切断可能ペプチドによって接続された2つのポリペプチド鎖を含む。

【0330】

一部の態様において、STARは、N末端からC末端にかけて、抗グリコCD 4 4 可変重鎖およびTCR α 鎖定常領域ドメインを含む第1のポリペプチド鎖；切断可能なペプチドリンカー；ならびに抗グリコCD 4 4 可変軽鎖およびTCR β 鎖定常領域ドメインを含む第2のポリペプチド鎖を含む（立体配置STAR1）。

【0331】

他の態様において、STARは、N末端からC末端にかけて、抗グリコCD 4 4 可変重鎖およびTCR β 鎖定常領域ドメインを含む第1のポリペプチド鎖；切断可能なペプチドリンカー；ならびに抗グリコCD 4 4 可変軽鎖およびTCR α 鎖定常領域ドメインを含む第2のポリペプチド鎖を含む（立体配置STAR2）。

【0332】

他の態様において、STARは、N末端からC末端にかけて、抗グリコCD 4 4 可変軽鎖およびTCR α 鎖定常領域ドメインを含む第1のポリペプチド鎖；切断可能なペプチドリンカー；ならびに抗グリコCD 4 4 可変重鎖およびTCR β 鎖定常領域ドメインを含む第2のポリペプチド鎖を含む（立体配置STAR3）。

【0333】

他の態様において、STARは、N末端からC末端にかけて、抗グリコCD 4 4 可変軽鎖およびTCR β 鎖定常領域ドメインを含む第1のポリペプチド鎖；切断可能なペプチドリンカー；ならびに抗グリコCD 4 4 可変重鎖およびTCR α 鎖定常領域ドメインを含む第2のポリペプチド鎖を含む（立体配置STAR4）。

【0334】

特定の実施形態において、立体配置STAR1～STAR4のいずれか1つのTCR α 鎖定常領域ドメインおよびTCR β 鎖定常領域ドメインは、それぞれTCR γ およびTCR δ 鎖定常領域ドメインで置き換えることができる。

【0335】

本発明の開示のSTARは、T細胞において内因的に発現されるCD3サブユニット（例えば、 ϵ 、 δ 、 λ 、および ζ ）との複合体を形成することができる。これらの複合体は、抗グリコCD 4 4 可変重鎖および軽鎖のその標的による結合によって制御されるTCRシグナル伝達をもたらす。

【0336】

6. 4. 1. 1 TCR定常領域ドメイン

TCR定常領域ドメインに関して、STARは、例えばヒト末梢血液T細胞から誘導される定常領域を含むように設計することができる。本開示によるSTARにおける使用のためのTCR定常領域のヌクレオチドおよび対応するアミノ酸配列は、表5に提供される。

【0337】

10

20

30

40

50

【表 3 3 - 1】

表 5 TCR 定常領域のヌクレオチドおよびアミノ酸配列		
説明	配列	配列番号
TCRα 定常領域 - 核酸(ヒト)	Gatatccagaaccctgacctgctgtctatcaactccgggactctaaatcca gtgacaagtctgtctgcctattcaccgatttgattctcaaacaatgtgtcac aaagtaaggattctgtgtgtatcacagacaaatgtgtgtagacatgag gtctatggactcaagagcaacagtgtgtggcctggagcaacaatctga cttgcattgtgcaaacgcctcaacaacagcattattccagaagacaccttct tcccagcccagaaagtctgtgtatgtcaagctggcgagaaaagcttctg aaacagatacgaacctaaacttcaaaacctgtcagtgattgggtccgaat cctcctcctgaaagtggccgggttaactgtctcatgacgctgcggctgtggt ccagc	290
TCRα 定常領域 - アミノ酸(ヒト)	XIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQS KDSDVYITDKCVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFAC ANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLN FQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS X=Asp, Asn, His, Tyr	291
TCRα 定常領域 - アミノ酸(マウス);システイン突然変異体	Aatatccagaaccagaacctgctgtgtaccagttaaagatcctcggtct caggacagcacccctgtcctgttcaccgacttgactcccaaatcaatgtgc cgaaaacctggaatctggaacgttcatcactgacaaaactgtgtggac atgaaagctatggattccaagagcaatggggccattgctggagcaacca gacaagcttcacctgccaagatatctcaaagagaccaacgccacctacc ccagttcagacgttccctgtgtgacacgttgactgagaaaagcttgaac agatatgaacctaaacttcaaaacctgtcagttatgggactccgaatcctcc tgtgaaagttagccgatttaacctgtctatgacgctgaggctgtggtccag ttga	292
TCRα 定常領域 - アミノ酸(マウス);システイン突然変異体	XIQNPEPAVYQLKDRSQDSTLCLFTDFDSQINVPKT MESGTFITDKTVLDMKAMDSKSNGAIAWSNQTSFTC QDIFKETNATYPSSDVPCDATLTEKSFETDMNLNFQN LSVMGLRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS 1 位の X、x=Asp, Asn, His, Tyr	293
TCRβ 定常領域 - 核酸(ヒト)	gaggacctgaaaaacgtgttcccacccgaagtggcgtcttgaaccatc agaagcagagatctccacacccaaaaggccacactggtgtgcctggcc acaggcttcttccccgaccacgtggagctgagctggtgggtgaatgggaa ggaggtgcacagtgggtgtgcacagaccgcagcccctcaaggagca gcccgccctcaatgactccagatactgctgagcagccgctgagggtctc ggccaccttctgagcaacccccgaaccacttccgctgtcaagtccagtt ctacgggtctcggagaatgacgagtggaaccaggataggccaaaccc gtcaccagatcgtcagcgcgaggcctgggtagagcagactgtggcttt acctgggtgtctaccagcaagggtcctgtctgccaccatcctctatgaga tctgttagggaaggccacctgtatgtgtgtgtgagcgccttgtgtg atggccatggtcaagagaaaggatttc	294
TCRβ 定常領域 - アミノ酸(ヒト)	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFP DHVELSWVWNGKEVHSGVCTDPQPLKEQPALNDSR YCLSSRLRVSATFWQNPРНHFRСQVQFYGLSENDE WTQDRAKPVТQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGV SATILYEILLGKATLYAVLVСALVLMAMVKRKD	295

【 0 3 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 3 - 2】

表 5 TCR 定常領域のヌクレオチドおよびアミノ酸配列		
説明	配列	配列番号
TCRβ 定常領域 - アミノ酸(マウス);システイン突然変異体	Gaggatctgagaaatgtgactccaccaaggtctcctgtttgagccatcaa aagcagagattgcaaacaacaaaaggctaccctcgtgtgcttggccag gggcttctccctgaccacgtggagctgagctgggtggatggcaagga gggtccacagtgggtgagcacgacgcctcaggcctacaaggagagcaat tatagctactgcctgagcagccgcctgagggtctctgctaccttctggcaca atcctcgcaaccactccgctgccaagtgcagttccatgggcttccagagga ggacaagtggccagagggtcacccaaacctgtcacacagaacatcagt gcagaggcctggggccgagcagactgtgggattacctcagcatcctatca acaaggggtctgtctgccaccatcctctatgagatcctgctagggaagcc acctgtatgtgtgctgtcagtacactggtggtgatggctatggtaaaag aaagaattca	296
TCRβ 定常領域 - アミノ酸(マウス);システイン突然変異体	EDLRNVTTPKVSLEFPSKAEIANKQKATLVCLARGFFP DHVELSWVWNGKEVHSGVSTDPQAYKESNYSYCLS SRLRVSATFWHNP RNHFRCQVQFHGLSEEDKWPEG SPKPVTQNISAEAWGRADCGITSASYQQGVLSATILY EILLGKATLYAVLVSTLVVMAMVKRKNS	297
TCRγ 定常領域 - アミノ酸(ヒト)	DKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLEKFFP DVIKIHVQEKKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLT VPEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFPIKTDVITM DPKDNCCKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLKSVMY FAITCCLLRRTAFCCNGEKS	298
TCRγ 定常領域 - アミノ酸(マウス)	XKRLDADISPKPTIFLPSVAETNLHKTGTYLCLLEKFFP DVIRVYWKEKDGNTILDSQEGDTLKTNDTYMKFSWLT VPERAMGKEHRCIVKHENNKGGADQEIIFPSIKKVAV STKPTTCWQDKNDVLQLQFTITSAYTYLLLLLKSVMY AIISFLLRRTSVCNGEKS X = 任意の天然に存在するアミノ酸	299
TCRδ 定常領域 - アミノ酸(ヒト)	SQPHTKPSVFVMKNGTNVACLKVFYPKDIRINLVSS KKITEFDPAIVISPSGKYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQH DNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCH KPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLTAK LFFL	300
TCRδ 定常領域 - アミノ酸(マウス)	XSQPPAKPSVFIMKNGTNVACLKVFYPKVETISLRSS KKIVEFDPAIVISPSGKYSAVKLGQYGDNSVTCVSVQH NSETVHSTDFEPYANSFNNEKLPEPENDTQISEPCYG PRVTVHTEKVNMMSLTVLGLRLLFAKTIAINFLTIVKLF F X = 任意の天然に存在するアミノ酸	301

【0339】

特定の実施形態において、STARのTCR定常領域は、STARの2つのTCR定常領域間の追加の結合がもたらされるように改変されていてもよい。一部の実施形態において、野生型TCRα定常領域の48位における残基は、システインに突然変異しており、野生型TCRβ定常領域の57位における残基は、システインに突然変異している。これは、TCRαおよびTCRβ定常領域の間にジスルフィド連結の形成をもたらし、結果としてSTARの第1および第2のポリペプチド鎖の間にジスルフィド結合が生じる。一部の実施形態において、野生型TCRα定常領域の85位における残基は、アラニンに突然変異しており、野生型TCRβ定常領域の88位における残基は、グリシンに突然変異している。ここでも、これは、TCRαおよびTCRβ定常領域の間にジスルフィド連結の形成をもたらす。

【0340】

10

20

30

40

50

6.4.1.2 STARリンカー

本開示のSTARの2つのポリペプチド鎖は、ペプチドリッカーを介して連結される。好ましくは、ペプチドリッカーは、切断可能なリンカーである。一部の実施形態において、STARの2つのポリペプチド鎖は、フューリン-P2Aペプチドリッカーを介して連結され、それにより2つのポリペプチド鎖間にプロテアーゼ切断部位が提供される。したがって2つのポリペプチド鎖は転写され、融合タンパク質に翻訳することができ、これがその後、プロテアーゼによって2つの別個のタンパク質サブユニットに切断される。一部の実施形態において、得られた2つのタンパク質サブユニットは、ジスルフィド結合を介して共有結合で結合し、その後、T細胞の内因性CD3サブユニット(ϵ 、 δ 、 λ 、および ζ)との複合体を形成する。

10

【0341】

一部の実施形態において、フューリン-P2Aペプチドリッカーは、配列RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP（配列番号302）を含む。

【0342】

一部の実施形態において、フューリン-P2Aペプチドリッカーは、配列ATNFSLLKQAGDVEENPGP（配列番号303）を含む。

【0343】

6.5 MicAボディ

本発明の開示は、本開示の抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメントを含むMicAボディを提供する。MicAボディは、抗体または抗原結合フラグメントおよび操作されたMHCクラスI鎖関連(MIC)タンパク質ドメインを含む融合タンパク質である。MICタンパク質は、NK細胞の表面上で発現されるヒトNKG2D受容体の天然リガンドであり、MICタンパク質の $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインは、NKG2D受容体の結合部位を提供する。操作されたMICタンパク質ドメイン（例えば操作された $\alpha 1-\alpha 2$ ドメイン）を、がんを標的化する抗体または抗原結合フラグメントに融合させることによって、操作されたMICタンパク質ドメインとの結合が可能な操作されたNKG2D受容体を発現するT細胞をがん細胞に標的化することができる。本開示のMicAボディに含まれる操作されたMICタンパク質ドメイン、ならびに操作されたMICタンパク質ドメインとの結合が可能なNKG2D受容体、NKG2D受容体を含むCARおよびCAR T細胞は、米国特許出願公開第2011/0183893号明細書、米国特許出願公開第2011/0311561号明細書、米国特許出願公開第2015/0165065号明細書、および米国特許出願公開第2016/0304578号明細書ならびにPCT国際公開第2016/090278号パンフレット、国際公開第2017/024131号パンフレット、国際公開第2017/222556号パンフレット、および国際公開第2019/191243号パンフレットに記載されており、それらの内容は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる。

20

30

【0344】

一部の実施形態において、本開示のMicAボディは、NKG2Dリガンド（例えば、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、またはOMCP）の $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインと少なくとも80%同一または相異なる $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインを含む。MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、およびOMCPの例示的なアミノ酸配列は、それぞれ国際公開第2019/191243号パンフレットの配列番号1~9として記載されており、これらの配列は、参照により本明細書に組み入れられる。他の実施形態において、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインは、NKG2Dリガンドのネイティブまたは天然の $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインと85%同一である。さらに他の実施形態において、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインは、天然NKG2Dリガンドタンパク質のネイティブまたは天然の $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインと90%同一であり、非天然NKG2Dと結合する。

40

【0345】

一部の実施形態において、本開示のMicAボディは、ヒトMICAまたはMICBタ

50

ンパク質のネイティブまたは天然の $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインと少なくとも80%同一または相同な $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインを含み、NK G 2 Dと結合する。一部の実施形態において、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインは、ヒトMICAまたはMICBタンパク質のネイティブまたは天然の $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインと85%同一であり、NK G 2 Dと結合する。他の実施形態において、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインは、ヒトMICAまたはMICBタンパク質のネイティブまたは天然の $\alpha 1-\alpha 2$ プラットフォームドメインと、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であり、NK G 2 Dと結合する。

【0346】

一部の実施形態において、NK G 2 Dリガンドの $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインにおける特定の突然変異は、天然NK G 2 Dリガンドへの親和性が低減するようにそれ自体操作された、非天然NK G 2 D受容体と結合する非天然 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインが作出するように作製することができる。これは、例えば遺伝子工学を介して行うことができる。非天然 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインで構成される分子に優先的に結合し、それによって活性化され得るNK G 2 DベースのCARを作出するために、このように改変された非天然NK G 2 D受容体は、免疫系のNKまたはT細胞の表面上に使用することができる。これらの非天然NK G 2 D受容体およびその同種の非天然NK G 2 Dリガンドの対は、従来のCAR-T細胞およびCAR-NK細胞と比較して、がんおよびウイルス感染を処置することに関して重要な安全性、有効性、および製造上の利点を提供することができる。NK G 2 DベースのCARを有するCAR-T細胞およびCAR-NK細胞の活性化は、MicAボディの投与によって制御することができる。有害事象が発生する事象において、注入されたCAR細胞を破壊するために誘導される自殺メカニズムを作動させる必要があるというより、MicAボディの用量レジメンを改変してもよい。

【0347】

MicAボディは、リンカー、例えばAPTSSSGGGGS（配列番号188）またはGGGS（配列番号189）を介して、抗体または抗原結合フラグメントを操作された $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインに付着させることによって生成することができる。例えば、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインは、例えば、国際公開第2019/191243号パンフレットに記載されるように、IgG重鎖または軽鎖のC末端に融合していてもよい。

【0348】

一部の実施形態において、本開示のMicAボディは、アミノ酸配列

【0349】

【化25】

EPHSLRYNLTVLSWDGSGFLTEVHLDGQPFLRCRQKCRAPQGQWAEDVLGNKTWD
RETRDLTGWGTLLMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLET
LEWTMPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMETDIGYRLMRADCLSELRRYLKSGVVLRRTV (配列
番号190) (MICA25.17).

を含む操作された $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインを含む。

【0350】

他の実施形態において、本開示のMicAボディは、アミノ酸配列

【0351】

【化26】

EPHSLRYNLTVLSWDGSGFLTEVHLDGQPFLRCRQKCRAPQGQWAEDVLGNKTWD
RETRDLTGWGTFLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLET
LEWTMPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMETDRSGLLMRADCLSELRRYLKSGVVLRRTV (配列
番号191) (MICA25.18).

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【0352】

他の実施形態において、本開示の Mic A ボディは、アミノ酸配列

【0353】

【化27】

AAEPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVDEKTFLLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKA
QNPVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFD
SEKRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVATTLYTWSMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAP
(配列番号 192) (ULBP2.S1).

10

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【0354】

他の実施形態において、本開示の Mic A ボディは、アミノ酸配列

【0355】

【化28】

AAEPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVDEKTFLLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKA
QNPVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFD
SEKRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVATLMRIWSMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAP
(配列番号 193) (ULBP2.S2).

20

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【0356】

他の実施形態において、本開示の Mic A ボディは、アミノ酸配列

【0357】

【化29】

AAEPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVDEKTFLLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKA
QNPVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFD
SEKRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVATKLYLWSMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAP
(配列番号 194) (ULBP2.S3).

30

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【0358】

他の実施形態において、本開示の Mic A ボディは、アミノ酸配列

【0359】

【化30】

AAEPHSLWYNFTIIHLPRHGQQWCEVQSQVDQKNFLSYDCGSDKVLSMGHLEEQLYATDAW
GKQLEMLREVGGQRLRLELADTELEDFTPSGPLTLQVRMSCESEADGYIRGSWQFSFDGRKFL
LFDSNNRKWTVVHAGARRMKEKWEKDSGLTTDLIRSMGDCKSWLRDFLMHRKKRLEPTAP
(配列番号 195) (ULBP3.S1).

40

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【0360】

50

他の実施形態において、本開示の M i c A ボディは、アミノ酸配列

【 0 3 6 1 】

【 化 3 1 】

AAEPHSLWYNFTIIHLPRHGQQWCEVQSQVDQKNFLSYDCGSDKVLSMGHLEEQLYATDAW
GKQLEMLREVGQRLRLELADTELEDFTPSGPLTLQVRMSCESEADGYIRGSWQFSFDGRKFL
LFDSNNRKWTVVHAGARRMKEKWEKDSGLTTYFYLRSMGDCKSWLRDFLMHRKKRLEPTAP
(配列番号 196) (ULBP3.S2).

10

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【 0 3 6 2 】

他の実施形態において、本開示の M i c A ボディは、アミノ酸配列

【 0 3 6 3 】

【 化 3 2 】

EPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQQQVDEKTFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKAQN
PVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFDSE
KRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVAATILWQTSMDGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPS (配列番号
197) (ULBP2.C).

20

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【 0 3 6 4 】

他の実施形態において、本開示の M i c A ボディは、アミノ酸配列

【 0 3 6 5 】

【 化 3 3 】

EPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQQQVDEKTFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKAQN
PVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFDSE
KRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVAATLLWGWSMDGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPS (配列番号
198) (ULBP2.R).

30

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【 0 3 6 6 】

他の実施形態において、本開示の M i c A ボディは、アミノ酸配列

【 0 3 6 7 】

【 化 3 4 】

EPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQQQVDEKTFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTAWKAQN
PVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFDSE
KRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVAATMFWWSMDGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPS (配列番号
199) (ULBP2.AA).

40

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【 0 3 6 8 】

他の実施形態において、本開示の M i c A ボディは、アミノ酸配列

【 0 3 6 9 】

50

【化 3 5】

EPHSLSYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVDEKTFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQN
PVLREVVDILTEQLWDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFDSE
KRMWTTVHPGARKMKEKWENDKVVATLMWQWSMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPS(配列番号
200) (ULBP2.AB).

を含む操作された $\alpha 1 - \alpha 2$ ドメインを含む。

【0 3 7 0】

例示的な操作された N K G 2 D 受容体は、アミノ酸配列

【0 3 7 1】

【化 3 6】

NSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWWYESQASCMSQNASLLKVYSKE
DQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIEMQKGDALYASSFKGYIENCST
PNTYICMQRTV (配列番号 201)

を含み、73 位のチロシンは、別のアミノ酸、例えばアラニンで置き換えられている。

【0 3 7 2】

別の例示的な操作された N K G 2 D 受容体は、アミノ酸配列

【0 3 7 3】

【化 3 7】

FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWWYESQASCMSQNASLLKVYS
KEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLLTIEMQKGDALYASSFKGYIENC
STPNTYICMQRTV (配列番号 202)

を含み、75 位および 122 位のチロシンは、別のアミノ酸で、例えば 75 位でアラニン、122 位でフェニルアラニンで置き換えられている。

【0 3 7 4】

6. 6 核酸、組換えベクターおよび宿主細胞

本発明の開示は、抗グリコCD44抗体の免疫グロブリン軽鎖および重鎖遺伝子をコードする核酸分子、このような核酸を含むベクター、および本開示の抗グリコCD44抗体を生産することが可能な宿主細胞を包含する。特定の態様において、核酸分子は、本開示の抗グリコCD44抗体および抗原結合フラグメント（例えば、セクション6.1およびグループIの番号付けされた実施形態1～384、ならびにグループIIの番号付けされた実施形態1～172に記載される通り）、加えて、融合タンパク質（例えば、グループIの番号付けされた実施形態385～414、およびグループIIの番号付けされた実施形態173～197に記載される通り）、ならびにそれらを含むキメラ抗原受容体（例えば、セクション6.3、およびグループIの番号付けされた実施形態415～451、およびグループIIの198～225に記載される通り）、ならびにTCR融合タンパク質（例えば、セクション6.4、およびグループIの番号付けされた実施形態462～490、およびグループIIの236～264に記載される通り）をコードし、宿主細胞は、それを発現することが可能である。本開示の例示的なベクターは、グループIの番号付けされた実施形態520～522、およびグループIIの312～314に記載されており、例示的な宿主細胞は、グループIの番号付けされた実施形態523～542、およびグループIIの315～335に記載されている。

10

20

30

40

50

【0375】

本開示の抗グリコCD44抗体は、宿主細胞における免疫グロブリン軽鎖および重鎖遺伝子の組換え発現によって調製することができる。抗体を組換え発現させるために、宿主細胞を、抗体の免疫グロブリン軽鎖および重鎖をコードするDNAフラグメントを有する1つまたは複数の組換え発現ベクターでトランスフェクトすることで、宿主細胞中で軽鎖および重鎖が発現されるようにし、任意選択で、宿主細胞を培養する培地に分泌させて、その培地から抗体を回収することができる。標準的な組換えDNA手法は、抗体重鎖および軽鎖遺伝子を得て、これらの遺伝子を組換え発現ベクターに組み込み、Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F. M. et al., eds., Greene Publishing Associates, 1989)および米国特許第4,816,397号明細書に記載されるものなどのベクターを宿主細胞に導入するのに使用される。

10

【0376】

このような抗グリコCD44抗体をコードする核酸を生成するために、まず、軽鎖および重鎖可変領域をコードするDNAフラグメントを得る。これらのDNAは、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を使用する、軽鎖および重鎖可変配列をコードする生殖系列DNAまたはcDNAの増幅および改変によって得ることができる。ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子の生殖系列DNA配列は、当業界において公知である(例えば、「VBASE」ヒト生殖系列配列データベースを参照; Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol. 227:116-198; およびCox et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836も参照; これらのそれぞれの内容は、参照により本明細書に組み入れられる)。

20

【0377】

抗グリコCD44抗体関連V_HおよびV_LセグメントをコードするDNAフラグメントが得られたら、これらのDNAフラグメントは、例えば、可変領域遺伝子を全長抗体鎖遺伝子、Fabフラグメント遺伝子またはscFv遺伝子に変換するように、標準的な組換えDNA技術によってさらに操作することができる。これらの操作において、V_HまたはV_LをコードするDNAフラグメントは、別のタンパク質、例えば抗体定常領域またはフレキシブルなリンカーをコードする別のDNAフラグメントに作動可能に連結されている。用語「作動可能に連結した」は、この状況で使用される場合、2つのDNAフラグメントによってコードされたアミノ酸配列がフレーム内のままであるように、2つのDNAフラグメントが合体していることを意味することが意図される。

30

【0378】

V_H領域をコードする単離されたDNAは、V_HをコードするDNAを、重鎖定常領域(CH₁、CH₂、CH₃および、任意選択で、CH₄)をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することによって、全長重鎖遺伝子に変換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は、当業界において公知であり(例えば、Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照)、これらの領域を取り囲むDNAフラグメントは、標準的なPCR増幅により得ることができる。重鎖定常領域は、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA、IgE、IgMまたはIgD定常領域であってもよいが、特定の実施形態において、IgG₁またはIgG₄定常領域である。Fabフラグメントの重鎖遺伝子の場合、V_HをコードするDNAは、重鎖CH₁定常領域のみをコードする別のDNA分子に作動可能に連結されていてもよい。

40

【0379】

V_L領域をコードする単離されたDNAは、V_LをコードするDNAを、軽鎖定常領域

50

、C Lをコードする別のD N A分子に作動可能に連結することによって、全長軽鎖遺伝子（加えてF a b軽鎖遺伝子）に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は、当業界において公知であり（例えば、Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照）、これらの領域を包含するD N Aフラグメントは、標準的なP C R増幅により得ることができる。軽鎖定常領域は、カッパまたはラムダ定常領域であってもよいが、特定の実施形態において、カッパ定常領域である。

【0380】

s c F v 遺伝子を作製するために、V_HおよびV_LをコードするD N Aフラグメントは、V_HおよびV_L配列が、V_HおよびV_L領域がフレキシブルなリンカーによって合体した連続する単鎖タンパク質として発現できるように、フレキシブルなリンカーをコードする別のフラグメント、例えばアミノ酸配列（G l y₄～S e r₃）（配列番号184）をコードする別のフラグメントに作動可能に連結されていてもよい（例えば、Bird et al., 1988, Science 242:423-426; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554を参照）。

【0381】

本開示の抗グリコC D 4 4抗体を発現させるために、上述したように得られた部分的な、または全長の軽鎖および重鎖をコードするD N Aは、遺伝子が転写および翻訳制御配列に作動可能に連結されるように発現ベクターに挿入される。この文脈において、用語「作動可能に連結した」は、ベクター内の転写および翻訳制御配列が、抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するそれらの意図した機能を発揮するように、抗体遺伝子がベクターにライゲートされることを意味することが意図される。発現ベクターおよび発現制御配列は、使用される発現宿主細胞に適合するように選択される。抗体軽鎖遺伝子および抗体重鎖遺伝子は、別個のベクターに挿入されていてもよいし、またはより典型的には、両方の遺伝子が同じ発現ベクターに挿入される。

【0382】

抗体遺伝子は、標準的な方法（例えば、抗体遺伝子フラグメントおよびベクター上の相補的制限部位ライゲーション、または制限部位が存在しない場合、平滑末端のライゲーション）によって発現ベクターに挿入される。抗グリコC D 4 4抗体関連の軽鎖または重鎖配列の挿入の前に、発現ベクターは、すでに抗体定常領域配列を有していてもよい。例えば、抗グリコC D 4 4モノクローナル抗体関連のV_HおよびV_L配列を全長抗体遺伝子に変換するための1つのアプローチは、V_Hセグメントがベクター内のC Hセグメントに作動可能に連結され、V_Lセグメントがベクター内のC Lセグメントに作動可能に連結されるように、重鎖定常および軽鎖定常領域をそれぞれ予めコードする発現ベクターにそれらを挿入することである。加えて、または代替として、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にするシグナルペプチドをコードしていてもよい。抗体鎖遺伝子は、シグナルペプチドがフレーム内で抗体鎖遺伝子のアミノ末端に連結されるように、ベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンのシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド（すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド）であってもよい。

【0383】

抗体鎖遺伝子に加えて、本開示の組換え発現ベクターは、宿主細胞中で抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を有する。用語「調節配列」は、プロモーター、エンハンサー、および抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御する他の発現制御エレメント（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことが意図される。このような調節配列は、例えば、Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif., 1990に記載されている。当業者であれば、調節配列の選択を含む発現ベクターの設計は、形質転換しようとする宿主細胞の選択、望ましいタンパク質の発現のレベルなどのような要因によって決まる可能性があることを理解していると

予想される。哺乳動物宿主細胞発現に好適な調節配列としては、哺乳動物細胞における高レベルのタンパク質発現を指示するウイルスエレメント、例えば、サイトメガロウイルス（CMV）由来のプロモーターおよび／またはエンハンサー（例えばCMVプロモーター／エンハンサー）、シミアンウイルス40（SV40）由来のプロモーターおよび／またはエンハンサー（例えばSV40プロモーター／エンハンサー）、アデノウイルス由来のプロモーターおよび／またはエンハンサー（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター（AdMLP））、ならびにポリオーマ由来のプロモーターおよび／またはエンハンサーが挙げられる。ウイルス調節エレメントおよびその配列のさらなる説明に関して、例えば、Stinskiによる米国特許第5,168,062号明細書、Belshによる米国特許第4,510,245号明細書、およびSchaffnerらによる米国特許第4,968,615号明細書を参照されたい。

10

【0384】

抗体鎖遺伝子および調節配列に加えて、本開示の組換え発現ベクターは、宿主細胞中でのベクターの複製を調節する配列（例えば、複製起点）および選択可能マーカー遺伝子などの追加の配列を有していてもよい。選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする（例えば、全てAxelらによる、米国特許第4,399,216号明細書、第4,634,665号明細書および第5,179,017号明細書を参照）。例えば、典型的には、選択可能マーカー遺伝子は、G418、ハイグロマイシンまたはメトトレキセートなどの薬物に対する耐性を、ベクターが導入された宿主細胞に付与する。好適な選択可能マーカー遺伝子としては、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子（DHFR⁻宿主細胞でメトトレキセート選択／増幅と共に使用するため）およびneo遺伝子（G418選択のため）が挙げられる。軽鎖および重鎖の発現のために、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターは、標準的な技術によって宿主細胞にトランスフェクトされる。用語「トランスフェクション」の様々な形態は、例えば、エレクトロポレーション、リポフェクション、リン酸カルシウム沈殿、DEAE-デキストラントランスフェクションなどの、原核または真核宿主細胞への外因性DNAの導入のために一般的に使用される様々な技術を包含することが意図される。

20

【0385】

原核または真核宿主細胞のいずれかで本開示の抗体を発現することが考えられる。特定の実施形態において、抗体の発現、または適切にフォールディングされ免疫学的に活性な抗体の最適な分泌は、真核細胞、例えば、哺乳動物宿主細胞で実行される。本開示の組換え抗体を発現するための例示的な哺乳動物宿主細胞としては、チャイニーズハムスター卵巣（CHO細胞）（例えば、Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220に記載されるDHFR⁻CHO細胞などであり、これは、例えば、Kaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621に記載されるようなDHFR選択可能マーカーと共に使用される）、NSO骨髓腫細胞、COS細胞およびSP2細胞が挙げられる。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが哺乳動物宿主細胞に導入される場合、抗体は、宿主細胞中での抗体の発現または宿主細胞が増殖する培養培地への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間にわたり、宿主細胞を培養することによって産生される。抗体は、標準的なタンパク質精製方法を使用して培養培地から回収することができる。宿主細胞も、無傷抗体の一部、例えばFabフラグメントまたはscFv分子を産生するために使用することができる。上記の手順のバリエーションは本発明の開示の範囲内であることが理解される。例えば、本開示の抗グリコCD44抗体の軽鎖または重鎖のいずれか（ただし両方ではない）をコードするDNAを宿主細胞にトランスフェクトすることが望ましい場合がある。

30

40

【0386】

本開示のCARの発現に関して、例えばセクション6.3およびグループIの番号付けされた実施形態415~451およびグループIIの198~225に記載される通り、好ましくは、宿主細胞はT細胞であり、好ましくはヒトT細胞である。一部の実施形態において、宿主細胞は、細胞が腫瘍細胞上のCD44と架橋されると、抗腫瘍免疫を示す。

50

本開示の T 細胞を生産するための詳細な方法は、セクション 6 . 6 . 1 に記載されている。

【 0 3 8 7 】

本開示の T 細胞受容体融合タンパク質の発現に関して、例えばセクション 6 . 4 およびグループ I の番号付けされた実施形態 4 6 2 ~ 4 9 0 およびグループ I I の 2 3 6 ~ 2 6 4 に記載される通り、好ましくは、宿主細胞は T 細胞であり、好ましくはヒト T 細胞である。一部の実施形態において、宿主細胞は、細胞が腫瘍細胞上のグリコ C D 4 4 と架橋されると、抗腫瘍免疫を示す。本開示の T 細胞を生産するための詳細な方法は、セクション 6 . 6 . 1 に記載されている。

【 0 3 8 8 】

本開示の S T A R の発現に関して、例えばセクション 6 . 4 . 1 およびグループ I の番号付けされた実施形態 4 9 1 ~ 5 1 7 およびグループ I I の 2 6 5 ~ 3 0 9 に記載される通り、好ましくは、宿主細胞は T 細胞であり、好ましくはヒト T 細胞である。一部の実施形態において、宿主細胞は、細胞が腫瘍細胞上のグリコ C D 4 4 と架橋されると、抗腫瘍免疫を示す。本開示の T 細胞を生産するための詳細な方法は、セクション 6 . 6 . 1 に記載されている。

【 0 3 8 9 】

組換え D N A 技術はまた、グリコ C D 4 4 への結合に必ずしも必要ではない軽鎖および重鎖のいずれかまたは両方をコードする D N A の一部または全部を除去するのに使用することもできる。このような短縮化された D N A 分子から発現される分子も、本開示の抗体に包含される。

【 0 3 9 0 】

本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体の組換え発現のために、宿主細胞は、2 つの本開示の発現ベクター、すなわち、重鎖由来のポリペプチドをコードする第 1 のベクターおよび軽鎖由来のポリペプチドをコードする第 2 のベクターをコトランスフェクトされてもよい。2 つのベクターは、同一な選択可能マーカ含有していてもよく、またはそれらは、それぞれ別の選択可能マーカ含有していてもよい。代替として、両方の重鎖および軽鎖ポリペプチドをコードする単一のベクターを使用してもよい。

【 0 3 9 1 】

核酸が抗グリコ C D 4 4 抗体の 1 つまたは複数の部分をコードするようになれば、例えば、異なる C D R 配列を有する抗体、F c 受容体への親和性が低減した抗体、または異なるサブクラスの抗体をコードする核酸を生成するように、さらなる変更または突然変異をコード配列に導入することができる。

【 0 3 9 2 】

本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体はまた、化学合成によって（例えば、Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill. に記載される方法によって）産生することもできる。バリエーション抗体も、無細胞プラットフォームを使用して生成することができる（例えば、Chu et al., Biochemia No. 2, 2001 (Roche Molecular Biologicals) および Murray et al., 2013, Current Opinion in Chemical Biology, 17:420-426 を参照）。

【 0 3 9 3 】

組換え発現によって本開示の抗グリコ C D 4 4 抗体が産生されたら、免疫グロブリン分子の精製に関する当業界において公知のあらゆる方法によって、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、およびサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、分別溶解によって、または他のあらゆる標準的なタンパク質精製技術によってこれを精製することができる。さらに、本発明の開示の抗グリコ C D 4 4 抗体および／または結合フラグメントは、精製を容易にするために、本明細書に記載される、またはそれ以外の当業界において公知の異種ポリペプチド配列に融合させることができる。

【 0 3 9 4 】

抗グリコ C D 4 4 抗体は、単離されたら、必要に応じて、例えば高速液体クロマトグラ

10

20

30

40

50

フィーによって (Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology, Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980を参照)、または Superdex (商標) 75カラム (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden) でのゲルろ過クロマトグラフィーによってさらに精製してもよい。

【0395】

6.6.1. T細胞におけるCAR、T細胞受容体融合タンパク質およびSTARの組換え生産

一部の実施形態において、本開示の抗グリコCD44CAR、TCR融合タンパク質、またはSTARをコードする核酸は、レトロウイルスまたはレンチウイルスベクターを使用して細胞に送達される。CAR、TCR融合タンパク質、またはSTARを発現するレトロウイルスおよびレンチウイルスベクターは、担体として形質導入された細胞を使用して、またはカプセル化された、結合した、または裸のベクターの無細胞の局所または全身送達を使用して、異なるタイプの真核細胞に、さらには組織および生物全体にも送達することができる。使用される方法は、安定な発現が必要であるかまたは十分なあらゆる目的のための方法であり得る。

10

【0396】

他の実施形態において、CAR、TCR融合タンパク質、またはSTAR配列は、インビトロで転写されたmRNAを使用して細胞に送達される。インビトロで転写されたmRNA CAR、TCR融合タンパク質、またはSTARは、担体としてトランスフェクトされた細胞を使用して、またはカプセル化された、結合した、または裸のmRNAの無細胞の局所または全身送達を使用して、異なるタイプの真核細胞に、さらには組織および生物全体にも送達することができる。使用される方法は、一過性発現が必要であるかまたは十分なあらゆる目的のための方法であり得る。

20

【0397】

別の実施形態において、望ましいCAR、TCR融合タンパク質、またはSTARは、トランスポゾンによって細胞中で発現させることができる。

【0398】

本開示のRNAトランスフェクション方法の1つの利点は、RNAトランスフェクションは、本質的に一過性であり、ベクターを含まないことであり、すなわちRNA導入遺伝子は、リンパ球に送達され、短時間のインビトロにおける細胞活性化の後、いかなる追加のウイルス配列も必要とせず、最小限の発現カセットとしてそこで発現される。これらの条件下で、宿主細胞ゲノムへの導入遺伝子の組込みが起こる可能性は低い。細胞のクローニングは、必ずしもRNAのトランスフェクション効率やリンパ球集団全体を均一に改変するその能力によるわけではない。

30

【0399】

インビトロで転写されたRNA (IVT-RNA) でのT細胞の遺伝学的改変は、両方とも様々な動物モデルで継続的に試験されている2つの異なる戦略を利用する。細胞に、リポフェクションまたはエレクトロポレーションによって、インビトロで転写されたRNAをトランスフェクトする。好ましくは、移入されたIVT-RNAの持続的な発現を達成するために、様々な改変を使用してIVT-RNAを安定化させることが望ましい。

40

【0400】

一部のIVTベクターが、インビトロでの転写のためのテンプレートとして標準化された方式で利用されており、安定化されたRNA転写物が産生されるように遺伝子改変されていることが文献公知である。現在のところ、当業界で使用されるプロトコールは、以下の構造: RNA転写を可能にする5' RNAポリメラーゼプロモーター、それに続き3' および/または5' のいずれかで非翻訳領域 (UTR) に隣接する目的の遺伝子、および50~70個のAヌクレオチド (配列番号204) を含有する3' ポリアデニルカセットを有するプラスミドベクターに基づく。インビトロでの転写の前に、環状プラスミドを、ポリアデニルカセットの下流でII型制限酵素 (認識配列は切断部位に対応する) によって

50

線形化する。したがってポリアデニルカセットは、転写物中の後期ポリ（Ａ）配列に対応する。この手順の結果として、一部のヌクレオチドは、線形化後に酵素切断部位の一部として残り、３'末端におけるポリ（Ａ）配列を伸長させるかまたはマスキングする。この非生理学的なオーバーハングが、このようなコンストラクトから細胞内で産生されたタンパク質の量に影響を与えるかどうかは不明確である。

【０４０１】

ＲＮＡは、より伝統的なプラスミドまたはウイルスアプローチを超える数々の利点を有する。ＲＮＡ源からの遺伝子発現は、転写を必要とせず、タンパク質生成物は、トランスフェクションのすぐ後に産生される。さらに、ＲＮＡは、核ではなく細胞質に侵入するだけでよい。ため、典型的なトランスフェクション方法は、極めて高いトランスフェクション率をもたらす。加えて、プラスミドベースアプローチは、研究中の細胞中で目的の遺伝子の発現を駆動させるプロモーターを活性にすることを必要とする。

【０４０２】

別の態様において、ＲＮＡコンストラクトは、エレクトロポレーションによって細胞に送達することができる。例えば、米国特許出願公開第２００４／００１４６４５号明細書、米国特許出願公開第２００５／００５２６３０号明細書、米国特許出願公開第２００５／００７０８４１号明細書、米国特許出願公開第２００４／００５９２８５号明細書、米国特許出願公開第２００４／００９２９０７号明細書で教示されるような、哺乳動物細胞への核酸コンストラクトのエレクトロポレーションの配合物および手法を参照されたい。あらゆる公知の細胞型のエレクトロポレーションに必要な電場強度などの様々なパラメータは、一般的に、この分野の関連する研究文献に加えて多数の特許および出願において公知である。例えば、米国特許第６，６７８，５５６号明細書、米国特許第７，１７１，２６４号明細書、および米国特許第７，１７３，１１６号明細書を参照されたい。エレクトロポレーションの治療適用のための装置、例えば、MedPulser（商標）DNAエレクトロポレーション治療システム（Inovio／Genetronics、San Diego、Calif.）が商業的に利用可能であり、米国特許第６，５６７，６９４号明細書；米国特許第６，５１６，２２３号明細書、米国特許第５，９９３，４３４号明細書、米国特許第６，１８１，９６４号明細書、米国特許第６，２４１，７０１号明細書、および米国特許第６，２３３，４８２号明細書などの特許に記載されており、エレクトロポレーションは、例えば米国特許出願公開第２００７０１２８７０８号明細書で記載されるように、インビトロでの細胞のトランスフェクションのためにも使用することができる。またエレクトロポレーションは、インビトロで核酸を細胞に送達することにも利用することができる。したがって、当業者公知の多くの利用可能なデバイスおよびエレクトロポレーションシステムのいずれかを利用する、発現コンストラクトを含む核酸の細胞へのエレクトロポレーション媒介投与は、標的細胞に目的のＲＮＡを送達するためのエキサイティングな新しい手段を提供する。

【０４０３】

６．６．１．１ Ｔ細胞源

Ｔ細胞源は、増加させ遺伝学的に改変する前に、対象から得られる。用語「対象」は、免疫応答を惹起できる生物（例えば、哺乳動物）を含むことが意図される。対象の例としては、ヒト、イヌ、ネコ、マウス、ラット、およびそれらのトランスジェニック種が挙げられる。好ましくは、対象は、ヒトである。

【０４０４】

Ｔ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、感染部位由来の組織、腹水、胸膜滲出液、脾臓組織、および腫瘍などのいくつかの源から得ることができる。本発明の開示の特定の実施形態において、当業界において入手可能な様々なＴ細胞株を使用することができる。本発明の開示の特定の実施形態において、Ｔ細胞は、Ficoll（商標）分離などの当業者公知の様々な技術を使用して対象から収集された血液単位から得ることができる。好ましい一実施形態において、個体の循環血液からの細胞は、アフエレーシスにより得られる。アフエレーシス生成物は、典型的には、Ｔ細胞を含むリン

パ球、単球、顆粒球、B細胞、他の有核の白血球、赤血球、および血小板を含有する。一実施形態において、アフエーシスによって収集された細胞を洗浄して、血漿画分を除去し、それに続く処理工程のために、細胞を適切な緩衝液または媒体中に入れることができる。本開示の一実施形態において、細胞は、リン酸緩衝食塩水（PBS）で洗浄される。代替の実施形態において、洗浄溶液は、カルシウムを欠いており、マグネシウムを欠いていてもよく、または部分的であっても多くの2価カチオンを欠いていてもよい。ここでも、驚くべきことに、カルシウムの非存在下における最初の活性化工程は、一層の活性化をもたらす。当業者であれば容易に理解していると予想されるように、洗浄工程は、当業者公知の方法によって、例えば、製造元の指示に従って半自動化「フロースルー」遠心分離機（例えば、Cobe 2991セルプロセッサ、Baxter Cytomate、またはHaemonetics Cell Saver 5）を使用することによって達成してもよい。洗浄後、細胞は、様々な生体適合性の緩衝液、例えば、Ca非含有、Mg非含有PBS、PlasmaLyte A、または緩衝液含有もしくは非含有の他の塩類溶液などに再懸濁してもよい。代替として、アフエーシスサンプルの不要な成分を除去して、細胞を培養培地に直接再懸濁してもよい。

10

【0405】

別の実施形態において、T細胞は、赤血球を溶解させ、例えばPERCOLL（商標）勾配による遠心分離または対向流遠心溶出法により単球を枯渇させることによって末梢血リンパ球から単離される。T細胞の特定の部分集団、例えばCD3⁺、CD28⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺およびCD45RO⁺T細胞は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離することができる。例えば、一実施形態において、T細胞は、抗CD3／抗CD28（すなわち、3×28個の）コンジュゲートビーズ、例えばDYNABEADS（登録商標）M-450 CD3／CD28Tと、望ましいT細胞の陽性選択に十分な期間にわたりインキュベートすることによって単離される。一実施形態において、期間は、約30分である。さらなる実施形態において、期間は、30分から、36時間またはそれより長い時間の範囲、その間の全ての整数値の範囲である。さらなる実施形態において、期間は、少なくとも1、2、3、4、5、または6時間である。さらに別の好ましい実施形態において、期間は、10から24時間である。好ましい一実施形態において、インキュベーション期間は、24時間である。白血病を有する患者からのT細胞の単離の場合、より長いインキュベーション時間、例えば24時間の使用は、細胞収量を上昇させることができる。より長いインキュベーション時間は、腫瘍組織または免疫不全個体から腫瘍浸潤リンパ球（TIL）を単離する場合のように、他の細胞型と比較してT細胞が極めて少ないあらゆる状況でT細胞を単離するのに使用することができる。さらに、より長いインキュベーション時間の使用は、CD8⁺T細胞の捕捉効率を増加させることができる。したがって、単にT細胞をCD3／CD28ビーズに結合させる時間を短くするまたは長くすることによって、および／またはビーズのT細胞に対する比率を増加または減少させることによって（本明細書でさらに記載される通り）、培養開始のときに、またはプロセス中の他のタイムポイントで、T細胞の部分集団を、それについてまたはそれに対立するものについて優先的に選択することができる。加えて、ビーズまたは他の表面上の抗CD3および／または抗CD28抗体の比率を増加または減少させることによって、培養開始のときに、または他の望ましいタイムポイントで、T細胞の部分集団を、それについてまたはそれに対立するものについて優先的に選択することができる。当業者であれば、本開示の状況において複数回の選択も使用できることを認識しているものと予想される。特定の実施形態において、選択手順を実行し、活性化および増加プロセスで「選択されなかった」細胞を使用することが望ましい場合がある。「選択されなかった」細胞はまた、さらなる回数の選択に供することもできる。

20

30

40

【0406】

陰性選択によるT細胞集団の濃縮は、陰性選択された細胞に固有な表面マーカーに対する抗体を併用して達成することができる。1つの方法は、陰性選択された細胞上に提示される細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体のカクテルを使用する陰性磁気免疫接

50

着またはフローサイトメトリーを介したセルソーティングおよび／または選択である。例えば、陰性選択によってCD4⁺細胞を富化するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、およびCD8に対する抗体を含む。特定の実施形態において、典型的にはCD4⁺、CD25⁺、CD62L^{hi}、GITR⁺、およびFoxP3⁺を発現する調節性T細胞を富化する、またはそれらを陽性選択することが望ましい場合がある。代替として、特定の実施形態において、調節性T細胞は、抗CD25コンジュゲートビーズまたは他の類似の選択方法によって、枯渇される。

【0407】

陽性または陰性選択による望ましい細胞集団の単離のために、細胞および表面（例えば、ビーズなどの粒子）の濃度は、様々であってもよい。特定の実施形態において、ビーズおよび細胞と一緒に混合する体積を顕著に減少させ（すなわち、細胞の濃度を増加させる）、細胞およびビーズの最大の接触を確実にすることが望ましい場合がある。例えば、一実施形態において、1ml当たり細胞20億個の濃度が使用される。一実施形態において、1ml当たり細胞10億個の濃度が使用される。さらなる実施形態において、1ml当たり細胞1億個より多くが使用される。さらなる実施形態において、1ml当たり細胞1000万、1500万、2000万、2500万、3000万、3500万、4000万、4500万、または5000万個の細胞濃度が使用される。さらに別の実施形態において、1ml当たり細胞7500万、8000万、8500万、9000万、9500万、または1億個からの細胞濃度が使用される。さらなる実施形態において、1ml当たり細胞1億2500万または1億5000万個の濃度が使用されてもよい。高濃度の使用は、細胞収量の上昇、細胞の活性化、および細胞の増加をもたらすことができる。さらに、高い細胞濃度の使用は、目的の標的抗原の発現が弱い可能性がある細胞、例えばCD28陰性T細胞のより効率的な捕捉、または多くの腫瘍細胞が存在するサンプル（すなわち、白血病の血液、腫瘍組織など）からの捕捉を可能にする。このような細胞集団は、治療的価値を有する可能性があり、入手が望ましいと予想される。例えば、高濃度の細胞の使用は、通常CD28発現が比較的弱いCD8⁺T細胞のより効率的な選択を可能にする。

【0408】

関連する実施形態において、より低い細胞濃度を使用することが望ましい場合がある。T細胞および表面（例えば、ビーズなどの粒子）の混合物を顕著に希釈することによって、粒子と細胞との間の相互作用が最小化される。これは、粒子に結合させようとする望ましい抗原を大量に発現する細胞を選択する。例えば、CD4⁺T細胞は、より高いレベルのCD28を発現し、希薄な濃度でCD8⁺T細胞より効率的に捕捉される。一実施形態において、使用される細胞濃度は、 5×10^6 / mlである。他の実施形態において、使用される濃度は、約 1×10^5 / mlから 1×10^6 / ml、およびその間のあらゆる整数値の範囲であってもよい。

【0409】

他の実施形態において、細胞は、回転器において、様々な長さの時間にわたり、様々な速度で、2℃～10℃または室温のいずれかでインキュベートしてもよい。

【0410】

刺激のためのT細胞はまた、洗浄工程後に凍結してもよい。理論に縛られるつもりはないが、凍結およびそれに続く融解工程は、細胞集団中の顆粒球やある程度の単球を除去することによって、より均質な生成物を提供する。血漿および血小板を除去する洗浄工程後に、細胞を凍結溶液中に懸濁してもよい。多くの凍結溶液およびパラメーターが当業界において公知であり、この状況において有用であると予想されるが、1つの方法は、20% DMSOおよび8%ヒト血清アルブミンを含有するPBS、または10%デキストラン40および5%デキストロース、20%ヒト血清アルブミンおよび7.5% DMSO、もしくは31.25% Plasma l y t e - A、31.25%デキストロース5%、0.45% NaCl、10%デキストラン40および5%デキストロース、20%ヒト血清アルブミン、および7.5% DMSOを含有する培養培地、または例えばHespanおよび

PlasmaLyte Aを含有する他の好適な細胞凍結培地を使用することを含み、次いで細胞は、1°/分の速度で-80℃に凍結され、液体窒素貯蔵タンクの気相中に貯蔵される。他の制御冷凍方法も、-20℃で即座の、または液体窒素中の制御されていない冷凍と同様に使用することができる。

【0411】

特定の実施形態において、本発明の開示の方法を使用して活性化する前に、低温保存された細胞を融解し、本明細書に記載される通り洗浄し、室温で1時間そのまま静置する。

【0412】

また、本明細書に記載される増加した細胞が必要と思われるときの前の期間に、対象から血液サンプルまたはアフエーシス生成物を収集することも本開示の状況において予期される。したがって、増加させようとする細胞の源は、必要なあらゆるタイムポイントで収集でき、望ましい細胞、例えばT細胞を、T細胞療法によって利益を得ると予想される様々な疾患または状態、例えば本明細書に記載される疾患または状態のためのT細胞療法での後の使用のために単離および凍結することができる。一実施形態において、血液サンプルまたはアフエーシスは、全体的に健康な対象から採取される。特定の実施形態において、血液サンプルまたはアフエーシスは、疾患を発症させるリスクがあるが疾患をまだ発症させていない全体的に健康な対象から採取され、目的の細胞は、後の使用のために単離および凍結される。特定の実施形態において、T細胞は、その後の時間で増加する、凍結する、および使用することが可能である。特定の実施形態において、サンプルは、本明細書に記載される特定の疾患の診断の直後に、ただしいずれかの処置の前に、患者から収集される。さらなる実施形態において、様々な関連する処置法、例えば、これらに限定されないが、ナタリズマブ、エファリズマブ、抗ウイルス剤、化学療法剤、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、メトトレキサート、ミコフェノール酸塩、およびFK506、抗体、または他の免疫除去剤、例えばCAMPATH、抗CD3抗体、シトキサン、フルダラビン、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、および放射線照射などの薬剤での処置の前に、細胞は、対象からの血液サンプルまたはアフエーシスから単離される。これらの薬物は、カルシウム依存性ホスファターゼであるカルシニューリンを阻害するか（シクロスポリンおよびFK506）、または増殖因子によって誘導されたシグナル伝達にとって重要なp70S6キナーゼを阻害するか（ラパマイシン）のいずれかである。（Liu et al., Cell 66:807-815, 1991; Henderson et al., Immun. 73:316-321, 1991; Bierer et al., Curr. Opin. Immun. 5:763-773, 1993）。さらなる実施形態において、細胞は、化学療法剤、例えばフルダラビン、体外照射療法（XRT）、シクロホスファミドのいずれかを使用する骨髓もしくは幹細胞移植またはT細胞除去療法を併用する（例えば、その前の、それと同時の、またはその後の）後の使用のために、患者ごとに単離され、凍結される。

【0413】

本発明の開示のさらなる実施形態において、T細胞は、処置の直後に患者から得られる。これに関して、特定のがん処置の後、特に免疫系に損傷を与える薬物での処置の後、患者が通常処置から回復すると予想される期間中の処置の直後に、得られたT細胞の品質は、そのエキスピボで増加する能力に関して最適であるかまたは改善されている可能性があることが観察されている。同様に、本明細書に記載される方法を使用するエキスピボでの操作の後、これらの細胞は、生着およびインピボでの増加の強化にとって好ましい状況にある可能性がある。したがって、本発明の開示の状況において、この回復期間中、T細胞、樹状細胞、または他の造血系統の細胞を含む血液細胞を収集することが予期される。さらに、特定の実施形態において、動員（例えば、GM-CSFでの動員）およびコンディショニングレジメンは、特に療法後の既定された時間枠中に特定の細胞型の再定着、再循環、再生、および/または増加にとって好ましい、対象における状態を生じさせるために使用することができる。例示的な細胞型としては、T細胞、B細胞、樹状細胞、および他の免疫系細胞が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0414】

6.6.1.2 T細胞の活性化および増殖

T細胞は、一般的に、例えば、米国特許第6,352,694号明細書；第6,534,055号明細書；第6,905,680号明細書；第6,692,964号明細書；第5,858,358号明細書；第6,887,466号明細書；第6,905,681号明細書；第7,144,575号明細書；第7,067,318号明細書；第7,172,869号明細書；第7,232,566号明細書；第7,175,843号明細書；第5,883,223号明細書；第6,905,874号明細書；第6,797,514号明細書；第6,867,041号明細書；第9,783,591号明細書；および米国特許公開公報第20060121005号明細書に記載されるような方法を使用して活性化および増殖される。

10

【0415】

一般的に、本開示のT細胞は、CD3／TCR複合体関連シグナルを刺激する薬剤およびT細胞表面上の共刺激分子を刺激するリガンドが取り付けられた表面と接触させることによって増加される。特に、T細胞集団は、例えば、抗CD3抗体もしくはその抗原結合フラグメント、または表面上に固定された抗CD2抗体と接触させることによって、またはカルシウムイオノフォアと共にプロテインキナーゼC活性化剤（例えば、プリオスタチン）と接触させることによって、本明細書に記載されるように刺激することができる。T細胞の表面上のアクセサリー分子の共刺激のために、アクセサリー分子と結合するリガンドが使用される。例えば、T細胞の集団は、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。CD4⁺T細胞またはCD8⁺T細胞のいずれかの増殖を刺激するために、抗CD3抗体および抗CD28抗体。抗CD28抗体の例としては、9.3、B-T3、XR-CD28（Diaclone、Besancon、France）が挙げられ、一般的に当業界で公知の他の方法と同様に使用できる（Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998；Hananen et al., J. Exp. Med. 190(9):1319-1328, 1999；Garland et al., J. Immunol Meth. 227(1-2):53-63, 1999）。

20

【0416】

特定の実施形態において、T細胞に関する一次刺激シグナルおよび共刺激シグナルは、様々なプロトコールによって提供することができる。例えば、各シグナルを提供する薬剤は、溶液の形態であってもよいし、または表面にカップリングされていてもよい。表面にカップリングされる場合、薬剤は、同じ表面に（すなわち、「cis」構成で）または別の表面に（すなわち、「trans」構成で）カップリングされていてもよい。代替として、一方の薬剤が表面にカップリングされ、他方の薬剤が溶液の形態であってもよい。一実施形態において、共刺激シグナルを提供する薬剤が、細胞表面に結合しており、一次活性化シグナルを提供する薬剤が、溶液の形態であるかまたは表面にカップリングされている。特定の実施形態において、両方の薬剤が、溶液の形態であってもよい。別の実施形態において、薬剤は、可溶性の形態であってもよく、次いで、Fc受容体を発現する細胞などの表面に、または薬剤に結合すると予想される抗体もしくは他の結合剤に架橋されてもよい。これに関して、例えば、本発明の開示においてT細胞の活性化および増加での使用に関して予期される人工抗原提示細胞（aAPC）に関して、米国特許出願公開公報第20040101519号明細書および第20060034810号明細書を参照されたい。

30

40

【0417】

一実施形態において、2つの薬剤は、同じビーズ上、すなわち「cis」、または別のビーズ上、すなわち「trans」のいずれかで、ビーズ上に固定される。一例として、一次活性化シグナルを提供する薬剤は、抗CD3抗体またはその抗原結合フラグメントであり、共刺激シグナルを提供する薬剤は、抗CD28抗体またはその抗原結合フラグメントであり、両方の薬剤は、同等の分子の量で同じビーズに共に固定される。一実施形態において、CD4⁺T細胞の増加およびT細胞増殖のために、1：1比率のビーズに結合し

50

た各抗体が使用される。本発明の開示の特定の態様において、1：1の比率を使用して観察された増加と比較してT細胞増加における上昇が観察されるような、ビーズに結合した抗CD3：CD28抗体の比率が使用される。1つの特定の実施形態において、1：1の比率を使用して観察された増加と比較して、約1から約3倍の上昇が観察される。一実施形態において、ビーズに結合したCD3：CD28抗体の比率は、100：1から、1：100の範囲、およびその間の全ての整数値の範囲である。本発明の開示の一態様において、抗CD3抗体より多くの抗CD28抗体が粒子に結合しており、すなわち、CD3：CD28の比率は、1未満である。本開示の特定の実施形態において、ビーズに結合した抗CD28抗体の抗CD3抗体に対する比率は、2：1より大きい。1つの特定の実施形態において、1：100のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。別の実施形態において、1：75のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。さらなる実施形態において、1：50のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。別の実施形態において、1：30のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。好ましい一実施形態において、1：10のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。別の実施形態において、1：3のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。さらに別の実施形態において、3：1のCD3：CD28の比率のビーズに結合した抗体が使用される。

10

【0418】

1：500から500：1、およびその間のあらゆる整数値の粒子の細胞に対する比率が、T細胞または他の標的細胞を刺激するのに使用することができる。当業者であれば容易に理解できるように、粒子の細胞に対する比率は、標的細胞に対する粒度によって決まる可能性がある。例えば、小さいサイズのビーズは数個の細胞としか結合できないが、より大きいビーズは多くの細胞と結合できる。特定の実施形態において、細胞の粒子に対する比率は、1：100から100：1の範囲、およびその間のあらゆる整数値であり、さらなる実施形態において、比率は、1：9から9：1、およびその間のあらゆる整数値を含み、これらもT細胞を刺激するのに使用することができる。T細胞刺激が起こる抗CD3および抗CD28がカップリングした粒子とT細胞の比率は、上述したように様々であってもよいが、特定の好ましい値としては、1：100、1：50、1：40、1：30、1：20、1：10、1：9、1：8、1：7、1：6、1：5、1：4、1：3、1：2、1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、および15：1が挙げられ、1つの好ましい比率は、少なくとも1：1の粒子のT細胞に対する比率である。一実施形態において、1：1またはそれより低い粒子の細胞に対する比率が使用される。1つの特定の実施形態において、好ましい粒子：細胞の比率は、1：5である。さらなる実施形態において、粒子の細胞に対する比率は、刺激の日に応じて変更することができる。例えば、一実施形態において、粒子の細胞に対する比率は、1日目に1：1から10：1であり、その後、10日まで、追加の粒子が、1：1から1：10の最終的な比率で（添加の日の細胞数に基づく）毎日または1日おきに細胞に添加される。1つの特定の実施形態において、粒子の細胞に対する比率は、刺激の1日目に1：1であり、刺激の3日目および5日目に1：5に調整される。別の実施形態において、粒子は、毎日または1日おきに添加され、1日目に1：1の最終的な比率に、刺激の3日目および5日目に1：5にする。別の実施形態において、粒子の細胞に対する比率は、刺激の1日目に2：1であり、刺激の3日目および5日目に1：10に調整される。別の実施形態において、粒子は、毎日または1日おきに添加され、1日目に1：1の最終的な比率に、刺激の3日目および5日目に1：10にする。当業者は、様々な他の比率が、本発明の開示で使用するのに適している可能性があることを理解しているものと予想される。特に、比率は、粒度および細胞のサイズおよびタイプに応じて様々であると予想される。

20

30

40

【0419】

本発明の開示のさらなる実施形態において、細胞、例えばT細胞を、薬剤でコーティングされたビーズと合わせ、その後、ビーズおよび細胞を分離し、次いで細胞を培養する。

50

代替の実施形態において、培養の前に、薬剤でコーティングされたビーズおよび細胞を分離しないが、一緒に培養する。さらなる実施形態において、まず磁力などの力の適用によってビーズおよび細胞を濃縮し、その結果として細胞表面マーカーのライゲーションを増加させ、それによって細胞の刺激を誘導する。

【0420】

一例として、細胞表面タンパク質は、抗CD3および抗CD28が取り付けられている常磁性ビーズ（ 3×28 個のビーズ）をT細胞と接触させることによってライゲートさせることができる。一実施形態において、細胞（例えば、 10^4 から 10^9 個のT細胞）およびビーズ（例えば、1:1の比率のDYNABEADS（登録商標）M-450CD3/CD28T常磁性ビーズ）を、緩衝液中で、好ましくはPBS（カルシウムおよびマグネシウムなどの2価カチオンを含まない）中で合わせる。ここでも当業者は、あらゆる細胞濃度が使用できることを容易に理解することができる。例えば、標的細胞は、サンプル中で非常に希少であってもよいし、サンプルの0.01%を構成するだけでもよく、またはサンプル全体（すなわち、100%）が目的の標的細胞で構成されていてもよい。したがって、あらゆる細胞数が、本発明の開示の内容に含まれる。特定の実施形態において、粒子および細胞と一緒に混合される体積を有意に減少させて（すなわち、細胞の濃度を増加させて）、細胞と粒子との最大の接触を確実にすることが望ましい場合がある。例えば、一実施形態において、1ml当たり細胞約20億個の濃度が使用される。別の実施形態において、1ml当たり細胞1億個より多くが使用される。さらなる実施形態において、1ml当たり、細胞1000万個、1500万個、2000万個、2500万個、3000万個、3500万個、4000万個、4500万個、または5000万個の細胞濃度が使用される。さらに別の実施形態において、1ml当たり、細胞7500万個、8000万個、8500万個、9000万個、9500万個、または1億個の細胞濃度が使用される。さらなる実施形態において、1ml当たり細胞1億2500万個または1億5000万個の濃度が使用されてもよい。高濃度の使用は、細胞収量の上昇、細胞の活性化、および細胞の増加をもたらすことができる。さらに、高い細胞濃度の使用は、目的の標的抗原の発現が弱い可能性がある細胞、例えばCD28陰性T細胞のより効率的な捕捉を可能にする。このような細胞集団は、治療的価値を有する可能性があり、特定の実施形態において入手が望ましいと予想される。例えば、高濃度の細胞の使用は、通常CD28発現が比較的弱いCD8⁺T細胞のより効率的な選択を可能にする。

【0421】

本発明の開示の一実施形態において、混合物は、数時間（約3時間）から約14日にわたり、またはその間の整数値のいずれかの時間で培養することができる。別の実施形態において、混合物は、21日間培養することができる。本開示の一実施形態において、ビーズおよびT細胞は、約8日間、一緒に培養される。別の実施形態において、ビーズおよびT細胞は、2~3日間、一緒に培養される。T細胞の培養時間を60日またはそれより長くできるように、数サイクルの刺激が望ましい場合もある。T細胞培養に適切な条件としては、血清（例えば、ウシ胎児またはヒト血清）、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-12、IL-15、TGF β 、およびTNF- α などの増殖および生存に必要な因子、または当業者公知の細胞増殖のための他のあらゆる添加剤を含有していてもよい適切な培地（例えば、最小必須培地またはRPMI培地1640または、X-vivo15（Lonza））が挙げられる。細胞増殖のための他の添加剤としては、これらに限定されないが、界面活性剤、プラスマネート、ならびにN-アセチル-L-システインおよび2-メルカプトエタノールなどの還元剤が挙げられる。培地としては、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、無血清か、または適切な量の血清（または血漿）または既定されたセットのホルモン、および/またはT細胞の増殖および増加に十分な量のサイトカインが補充されたかのいずれかの、RPMI1640、AIM-V、DMEM、MEM、 α -MEM、F-12、X-Vivo15、およびX-Vivo20、Optimizier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、実験培養でのみ含まれ、対象に注入しようとする細胞の培養には含まれない。標的細胞は、増殖を支持するのに必要な条件下で、例えば、適切な温度（例えば、37℃）および雰囲気（例えば、空気に加えて5%CO₂）下で維持される。

【0422】

様々な刺激時間に曝露されたT細胞は、異なる特徴を示し得る。例えば、典型的な血液またはアフエーシスを受けた末梢血単核細胞生成物は、細胞傷害性またはサプレッサーT細胞集団（T_C、CD8⁺）より大きいヘルパーT細胞集団（T_H、CD4⁺）を有する。エキスピボでのCD3およびCD28受容体を刺激することによるT細胞の増加は、約8～9日目の前、主としてT_H細胞からなるT細胞の集団を産生するが、約8～9日目の後、T細胞の集団は、より一層大きいT_C細胞の集団を含む。したがって、処置の目的に応じて、主としてT_H細胞を含むT細胞集団を対象に注入することが、有利な場合がある。同様に、T_C細胞の抗原特異的なサブセットが単離された場合、このサブセットをより高度に増加させることが有益な場合がある。

【0423】

さらに、CD4およびCD8マーカーに加えて、細胞増加プロセスの経過中、他の表現型マーカーは、顕著に、ただし大部分は再現性よく変化する。したがって、このような再現性は、活性化T細胞生成物を特定の目的に合わせる能力を可能にする。

【0424】

6.7 ノイラミニダーゼ

シアル酸は、細胞表面上の糖タンパク質または糖脂質のいずれかにおけるグリカンの末端の糖であり、腫瘍の悪性転換や悪性の進行中に異常に発現されることが示されている。腫瘍組織では、シアリルトランスフェラーゼ（sialyl transferases）／シアリダーゼの異常な発現のために過剰なシアル酸付加が頻繁に起こる。これは、がん進行の加速を引き起こす可能性がある。シアル化は、免疫回避を容易にし、腫瘍の増殖および転移を強化し、腫瘍の血管新生を助け、アポトーシスおよびがん療法に耐えることを助長する。

【0425】

本開示のCARを発現する宿主細胞（例えば、T細胞、NK細胞）は、CARと共に細胞表面の、または分泌されたノイラミニダーゼ（シアリダーゼ）を共発現するように操作することができる。細胞表面のノイラミニダーゼは、異種膜貫通を介して細胞表面に固定されており、宿主細胞の糖編集活性を付与する。これは、CAR-T細胞および免疫細胞、例えば自然NK細胞および単球の細胞傷害作用および抗腫瘍性の有効性を強化する。CARと操作されたノイラミニダーゼとを共発現する宿主細胞は、その全体が参照により本明細書に組み入れられるPCT国際公開第2020/236964号パンフレットに記載されている。

【0426】

ノイラミニダーゼは、宿主細胞で本明細書に記載されるCARと共に共発現させることができる。ノイラミニダーゼとCARとを共発現する例示的な宿主細胞は、具体的な実施形態に記載される。

【0427】

ノイラミニダーゼは、本明細書に記載される融合タンパク質のドメインとして含まれていてもよい。例示的な融合タンパク質は、具体的な実施形態および図7A～7Eに記載される。

【0428】

4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列は、表6Aに示される。4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質のアミノ酸配列は、表6Bに示される。

【0429】

10

20

30

40

50

【表 3 4 - 1】

表 6A 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
1 4C8-CART- T2A-HIS-グラ ニューライシン- シグナル-ノイ ラミニダーゼ	ATGGCTCTGCCC GTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTTCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAG AGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGAC CTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTACGC CAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACCACCTGTTACAGGACT GATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCA TCACAGGTGCCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTG CCCTGCTGTACTCCAACCTACTGGGTGTTGCGCGGAGGCACCA AGCTGACAGTTCTTGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGA AGTGGCGGAGGCGGATCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGG CTCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTG TAAAGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTCAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCA ACATCTACCCCTAGAAGCGGCACCACTACGACGGCTACT TCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGC ACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGC GCCGTGTACTTCTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTC GTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACCGTGTCCGCTACA ACAACCCCTGCTCCTAGGCCTCCTACACCAGCTCCTACAATC GCCTCTCCTCTGTCTCTGCGGCCTGAAGCCTGTAGACCAGCT GCTGGCGGAGCCGTGCATACCAGAGGACTGGATTTGCGCTG CGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTGCTGGCCT GTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGT CCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTACC AGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGC AGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGA AGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGA TCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAG AGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAG GCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGG CAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCAC CTAGAAGAAAGAGAGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTG CTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCTGGACCTATGGCT ACATGGGCCCTGTTGCTGCTGGCTGCTATGCTGCTTGGAAT CCTGGCGGCGGAGGAAGCCACCACCATCACCATCATGGTGG AAGCCCTGTTCTCCTGCGGAGAGCCTCTGTACACAGAACA AGACCTGGCCGTGAACGGCAGAGAGGGCTTCCCCAACTACA GAATCCCCGCTCTGACAGTGACACCCGATGGCGATCTGCTGG	304

10

20

30

40

【 0 4 3 0】

【表 3 4 - 2】

表 6A 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	CCTCCTATGATGGCAGACCTACCGGAATCGATGCCCCCTGGGC CTAACCTCTATCCTGCAGAGAAGAAGCACCGACGGCGGCAGAA CATGGGGAGAGCAGCAAGTGGTTTCTGCCGGCCAGACAACA GCCCCCTATCAAGGGCTTTAGCGACCCCAGCTACCTGGTGGAC AGAGAGACAGGCACCATCTTCAACTTCCACGTGTACAGCCAG AGACAGGGCTTTGCCGGCAGCAGACCTGGAACCGATCCTGC CGATCCTAATGTGCTGCACGCCAATGTGGCCACCTCTACAGA TGGCGGACTGACATGGTCCCACAGAACCATCACCGCCGACAT CACACCTGATCCTGGATGGCGGTCTAGATTTGCCGCATCTGG CGAGGGCATCCAGCTGAGATATGGACCTCATGCCGGCAGAC TGATCCAGCAGTACACCATCATCAATGCCGCTGGCGCCTTCC AGGCCGTGTCCGTGTATTCTGATGATCACGGCCGGAATTGGA GAGCCGGCGAAGCTGTTGGAGTTGGCATGGACGAGAACAAA ACCGTGGAAGTGAAGCGACGGCCGGGTGCTGCTGAATAGCAG AGATTCTGCCAGATCCGGCTACCGGAAGGTGGCCGTTAGTAC TGATGGCGGCCACAGCTATGGCCCCGTGACCATCGATAGAG ATCTCCCCGATCCTACCAACAACGCCAGCATCATCCGGGCCT TTCCAGATGCTCCAGCCGGCTCTGCTAGAGCCAAAGTGCTGC TGTTTAGCAACGCCGCCTCTCAGACCTCTAGAAGCCAGGGAA CCATCAGGATGAGCTGCGACGATGGACAGACATGGCCCCGTG TCCAAGGTTTTCCAGCCTGGCAGCATGAGCTACAGCACCCCTG ACAGCACTGCCCCGATGGCACATACGGCCTGCTGTATGAACCT GGCACCGGCATCAGATACGCCAACTTCAATCTGGCCTGGCTC GGCGGCTAA	10
2 4C8-CART-T2A-HIS- グラ ンザイム K-シ グナル-ノイラ ミニダーゼ	ATGGCTCTGCCCGTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTTCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAG AGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGAC CTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAAGTACGC CAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCCGACCACCTGTTACAGGACT GATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCA TCACAGGTGCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTG CCCTGCTGTACTCCAAGTACTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCA AGCTGACAGTTCTTGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGA AGTGGCGGAGGCGGATCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGG CTCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTG TAAAGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTCAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCA ACATCTACCCTAGAAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACT TCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGC ACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGC	305

【 0 4 3 1 】

【表 3 4 - 3】

コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GCCGTGTA CTTCTGTAC CAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTC GTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACCGTGTCGGCTACA ACAACCCCTGCTCCTAGGCCTCCTACACCAGCTCCTACAATC GCCTCTCCTCTGTCTCTGCGGCCTGAAGCCTGTAGACCAGCT GCTGGCGGAGCCGTGCATACCAGAGGACTGGATTTGCGCTG CGACTTCTGGGTGCTCGTGTTGTTGGCGGAGTGCTGGCCT GTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGT CCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTACC AGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGC AGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGA AGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGA TCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAG AGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAG GCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGG CAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCAC CTAGAAGAAAGAGAGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTG CTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGAC CAAGTTCTCCAGCTTCAGCCTGTTCTTCCTGATCGTGGGCGC CTACATGACCCACGTGTGCTTCAACATGGAAGGCGGCGGAAG CCACCACCACCATCACCATGGCGGTTCTCCAGTTCCTCCTGG CGGAGAGCCTCTGTACACAGAACAAGACCTGGCCGTGAACG GCAGAGAGGGCTTCCCCAACTACAGAATCCCCGCTCTGACAG TGACACCCGATGGCGATCTGCTGGCCTCCTATGATGGCAGAC CTACCGGAATCGATGCCCTGGACCTAACAGCATCCTGCAGA GAAGAAGCACCGACGGCGGCAGAACATGGGGAGAGCAGCAA GTGGTTTCTGCCGGCCAGACAACAGCCCCTATCAAGGGCTTT AGCGACCCAGCTACCTGGTGGACAGAGAGACAGGCACCAT CTTCAACTTCACGTGTACAGCCAGAGACAGGGCTTCGCCGG AAGCAGACCTGGAACCGATCCTGCCGATCCTAATGTGCTGCA CGCCAATGTGGCCACCTCTACAGATGGCGGACTGACATGGTC CCACAGAACCATACCGCCGACATCACACCTGATCCTGGCTG GCGGTCTAGATTTGCCGCATCTGGCGAGGGCATCCAGCTGA GATATGGACCTCATGCCGGCAGACTGATCCAGCAGTACACCA TCATCAATGCCGCTGGCGCCTTCCAGGCCGTGTCCGTGTATT CTGATGATCACGGCCGGACTTGGAGAGCCGGGGAAGCTGTT GGAGTTGGCATGGACGAGAAACAAACCGTGGAACCTGAGCGA CGGCCGGGTGCTGCTGAATAGCAGAGATTCTGCCAGATCCG GCTACCGGAAGGTGGCCGTTAGTACTGATGGCGGCCACAGC TATGGCCCCGTGACCATCGATAGAGATCTCCCCGATCCTACC	

10

20

30

40

【 0 4 3 2 】

【表 3 4 - 4】

表 6A 4C8 CAR-ノイラミダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
	AACAACGCCAGCATCATCCGGGCCTTTCCAGATGCTCCAGCC GGCTCTGCTAGAGCCAAAGTGCTGCTGTTTAGCAACGCCGCC TCTCAGACCTCTAGAAGCCAGGGAACCATCAGGATGAGCTGC GACGATGGACAGACATGGCCCGTGTCCAAGTTTTCCAGCCT GGCAGCATGAGCTACAGCACCTGACAGCACTGCCCGATGG CACATACGGCCTGCTGTATGAACCTGGCACCGGCATCAGATA CGCCAACTTCAATCTGGCCTGGCTCGGCGGCTAA	10
3 4C8-CART- T2A-HIS-NPY- シグナル-ノイ ラミダーゼ	ATGGCTCTGCCCCTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTTCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAG AGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGAC CTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTACGC CAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCCGACCACCTGTTACAGGACT GATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCA TCACAGGTGCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTG CCCTGCTGTACTCCAACCTACTGGGTGTTGGCGGAGGCACCA AGCTGACAGTTCTTGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGA AGTGCGGAGGCGGATCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGG CTCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTG TAAAGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTCAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCA ACATCTACCCTAGAAGCGGCACCACCACTACGACGGCTACT TCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGC ACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGC GCCGTGTACTTCTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTC GTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACCGTGTCCGCTACA ACAACCCCTGCTCCTAGGCCTCCTACACCAGCTCCTACAATC GCCTCTCCTCTGTCTCTGCGGCCTGAAGCCTGTAGACCAGCT GCTGGCGGAGCCGTGCATACCAGAGGACTGGATTTGCGCTG CGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTGCTGGCCT GTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGT CCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTACC AGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGC AGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGA AGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGA TCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAG AGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAG GCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGG CAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA	306

【0 4 3 3】

【表 3 4 - 5】

コンストラクト	核酸配列	配列番号
	CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCAC CTAGAAGAAAGAGAGGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTG CTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCGACCAATGCT GGGCAACAAGAGACTGGGACTGAGCGGACTGACACTGGCCC TGAGTCTGCTTGTGTGTCTGGGAGCACTTGCCGAAGCCGGC GGTGGATCTCACCACCATCACCATCATGGTGGCAGCCCTGTT CCTCCTGGCGGAGAGCCTCTGTACACAGAACAAGACCTGGC CGTGAACGGCAGAGAGGGCTTCCCCAACTACAGAATCCCCG CTCTGACAGTGACACCCGATGGCGATCTGCTGGCCTCCTATG ATGGCAGACCTACCGGAATCGATGCCCTTGACCTAACAGCA TCCTGCAGAGAAGAAGCACCGACGGCGGCAGAACATGGGGA GAGCAGCAAGTGGTTTCTGCCGGCCAGACAACAGCCCCTATC AAGGGCTTTAGCGACCCCAGCTACCTGGTGGACAGAGAGAC AGGCACCATCTTCAACTTCCACGTGTACAGCCAGAGACAGGG CTTCGCCGGAAGCAGACCTGGAACCGATCCTGCCGATCCTAA TGTGCTGCACGCCAATGTGGCCACCTCTACAGATGGTGGCCT GACATGGTCCCACAGAACCATCACCGCCGACATCACACCTGA TCCTGGCTGGCGGTCTAGATTTGCCGCATCTGGCGAGGGCAT CCAGCTGAGATATGGACCTCATGCCGGCAGACTGATCCAGCA GTACACCATCATCAATGCCGCTGGCGCCTTCCAGGCCGTGTC CGTGTATTCTGATGATCACGGCCGGACTTGGAGAGCCGGGG AAGCTGTTGGAGTTGGCATGGACGAGAACAAAACCGTGGAAC TGAGCGACGGCCGGGTGCTGCTGAATAGCAGAGATTCTGCC AGATCCGGCTACCGGAAGGTGGCCGTTTCTACCGATGGCGG CCACTCTTATGGCCCCGTGACCATCGATAGAGATCTCCCCGA TCCTACCAACAACGCCAGCATCATCCGGGCCCTTCCAGATGC TCCAGCCGGCTCTGCTAGAGCCAAAGTGCTGCTGTTTAGCAA CGCCGCCTCTCAGACCTCTAGAAGCCAGGGAACCATCAGGAT GAGCTGCGACGATGGACAGACATGGCCCGTGTCCAAGGTTTT CCAGCCTGGCAGCATGAGCTACAGCACCTGACAGCACTGC CCGATGGCACATACGGCCTGCTGTATGAACCTGGCACCGGC ATCAGATACGCCAACTTCAATCTGGCCTGGCTCGGCGGCTAA	

【 0 4 3 4 】

10

20

30

40

50

【表 3 4 - 6】

表 6A 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
4 4C8-CART- T2A-HIS-分泌 されたノイラ ミニダーゼ	ATGGCTCTGCCC GTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTTCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAG AGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGAC CTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTACGC CAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACCACTGTTACAGGACT GATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCA TCACAGGTGCCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTG CCCTGCTGTACTCCAACCTACTGGGTGTTCCGGCGAGGCACCA AGCTGACAGTTCTTGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGA AGTGGCGGAGGCGGATCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGG CTCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTG TAAAGCCAGCGGCTACACCTTACCAGCTACTGGATGCACTG GGTCAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCA ACATCTACCTAGAAAGCGGCACCACTACGACGGCTACT TCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGC ACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGC GCCGTGTACTTCTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTC GTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACCGTGTCCGCTACA ACAACCCCTGCTCCTAGGCCTCCTACACCAGCTCCTACAATC GCCTCTCCTCTGTCTCTGCGGCCTGAAGCCTGTAGACCAGCT GCTGGCGGAGCCGTGCATACCAGAGGACTGGATTTGCGCTG CGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTGCTGGCCT GTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGT CCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTACC AGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGC AGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGA AGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGA TCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAG AGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAG GCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGG CAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCAC CTAGAAGAAAGAGAGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTG CTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGAA GTACACCTCCTACATCCTGGCCTTCCAGCTGTGCATCGTGCT GGGATCTCTGGGCTGTGATCTGCCTGGTAGTGGCGGCGGAG GAAGCGGACACCATCACCATCATCATGGCGGAAGCCCTGTTC CTCCTGGCGGAGAGCCTCTGTACACAGAACAAGACCTGGCC GTGAACGGCAGAGAGGGCTTCCCCAACTACAGAATCCCCGCT	307

10

20

30

40

【 0 4 3 5】

【表 3 4 - 8】

表 6A 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
5 4 4C8- CART-T2A- HIS-膜貫通ノ イラミニダー ゼ	ATGGCTCTGCCCGTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTG CTTCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAG AGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGAC CTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTACGC CAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACCACTGTTACAGGACT GATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCA TCACAGGTGCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTG CCCTGCTGTACTCCAACCTACTGGGTGTTCCGGCGAGGCACCA AGCTGACAGTTCTTGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGA AGTGGCGGAGGCGGATCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGG CTCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTG TAAAGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTCAAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCA ACATCTACCTAGAAAGCGGCACCACTACGACGGCTACT TCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGC ACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGC GCCGTGTACTTCTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTC GTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTACCGTGTCCGCTACA ACAACCCCTGCTCCTAGGCCTCCTACACCAGCTCCTACAATC GCCTCTCCTCTGTCTCTGCGGCCTGAAGCCTGTAGACCAGCT GCTGGCGGAGCCGTGCATACCAGAGGACTGGATTTGCGCTG CGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTGCTGGCCT GTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTTTGGGT CCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACATGA ACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTACC AGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGC AGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGA AGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGA TCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAG AGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAG GCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGG CAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCAC CTAGAAGAAAGAGAGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTG CTGACATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGAA GTACACCTCCTACATCCTGGCCTTCCAGCTGTGCATCGTGCT GGGATCTCTGGGCTGTGATCTGCCTGGTAGTGGCGGCGGAG GAAGCGGACACCATCACCATCATCATGGCGGAAGCCCTGTTC CTCCTGGCGGAGAGCCTCTGTACACAGAACAAGACCTGGCC GTGAACGGCAGAGAGGGCTTCCCCAACTACAGAATCCCCGCT	308

10

20

30

40

【0 4 3 7】

【表 3 4 - 9】

表 6A		
4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	CTGACAGTGACACCCGATGGCGATCTGCTGGCCTCCTATGAT GGCAGACCTACCGGAATCGATGCCCTGGACCTAACAGCATC CTGCAGAGAAGAAGCACCGACGGCGGCAGAACATGGGGAGA GCAGCAAGTGGTTTCTGCCGGCCAGACAACAGCCCCTATCAA GGGCTTTAGCGACCCCAGCTACCTGGTGGACAGAGAGACAG GCACCATCTTCAACTTCCACGTGTACAGCCAGAGACAGGGCT TTGCCGGCAGCAGACCTGGAACCGATCCTGCCGATCCTAATG TGCTGCACGCCAATGTGGCCACCTCTACAGATGGCGGACTGA CATGGTCCCACAGAACCATCACCGCCGACATCACACCTGATC CTGGCTGGCGGTCTAGATTTGCCGCATCTGGCGAGGGGCATC CAGCTGAGATATGGACCTCATGCCGGCAGACTGATCCAGCAG TACACAATCATCAACGCCGCTGGCGCCTTCCAGGCCGTGTCT GTGTATTCTGACGACCACGGCAGAACTTGAGAGCCGGCGCA AGCTGTTGGCGTCGGCATGGACGAGAACAACCGTGGAAC TGGCGACGGCCGGGTGCTGCTGAATAGCAGAGATTCTGCCA GATCCGGCTACCGGAAAGTGGCTGTGTCAACCGATGGCGGC CACAGCTATGGCCCTGTGACCATCGATAGAGATCTCCCCGAT CCTACCAACAACGCCAGCATCATCCGGGCCTTTCCAGATGCT CCAGCCGGCTCTGCTAGAGCCAAAGTGTCTGCTGTTTAGCAAC GCCGCCTCTCAGACCTCTAGAAGCCAGGGAACCATCAGGATG AGCTGCGACGATGGACAGACATGGCCCGTGTCCAAGTTTTTC CAGCCTGGCAGCATGAGCTACAGCACCTGACAGCACTGCC CGATGGCACATACGGCCTGCTGTATGAACCTGGCACCGGCAT CAGATACGCCAACTTCAATCTGGCCTGGCTCGGCGGAAGCG GTGGTAGCGGAGGTGGTGGTGGTTCAGGTGGTGGCGGATCT TGGATTGTGGCCATTGGTGGGCCGCTCCTGCTGATGGGAATC GCCCTGATTATGCTGATGGCAGGCGGTGGTGGCAGCGGTGG CGGTGGATCTTAA	

【 0 4 3 8 】

10

20

30

40

50

【表 3 5 - 1】

表 6B 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質アミノ酸配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
1 4C8-CART- T2A-HIS-グラ ニューライシン- シグナル-ノイ ラミニダーゼ	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRT STGAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSL IGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGG SGGGSGGGGSSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTS YWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDT SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGGQGLTVTS ATTPAPRPPTPAPTIASPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPRRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMATWALLLL AAMLLGNPGGGGSHHHHHHGGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGR EGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQRRSTD GGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYS QRQGFAGSRPGTDPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADIT PDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQYTIINAAGAFQAVS VYSDDHGRTWRAGEAVGVGM DENKTVELSDGRVLLNSRDSAR SGYRKVAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFPDAPAGS ARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIRMSCDDGQTPVSKVFQPGSM SYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG	309

【 0 4 3 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 5 - 2】

表 6B 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質アミノ酸配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
2 4C8-CART-T2A-HIS-グラ ンザイム K-シ グナル-ノイ ラミニダーゼ	MALPVTALLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRT STGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSL IGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGG SGGGGSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTS YWMHWWKQRPQGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDT SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLVTVS ATTTAPAPRPPTPAPTIASPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPRRKRGSSEGRSLLTCGDVEENPGPMTKFSSFSL FFLIVGAYMTHVCFNMEGGGSHHHHHHGGSPVPPGGEPLYTEQ DLAVNGREGFPNYRIPALTVPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSI LQRRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDRGT IFNFHVYSQRQGFAGSRPGTDPADPNVLHANVATSTDGGLTWS HRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQYTIINAA GAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGM DENKTVELSDGRVLL NSRDSARSGYRKVAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDTNNASIIRA FPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIRMSCDDGQTWPVS KVVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG	310
3 4C8-CART-T2A-HIS-NPY- シグナル-ノイ ラミニダーゼ	MALPVTALLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRT STGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSL IGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGG SGGGGSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTS YWMHWWKQRPQGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDT SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLVTVS ATTTAPAPRPPTPAPTIASPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPRRKRGSSEGRSLLTCGDVEENPGPMLGNKRLG LSGLTLALSLLVCLGALAEAGGGSHHHHHHGGSPVPPGGEPLYT EQDLAVNGREGFPNYRIPALTVPDGDLLASYDGRPTGIDAPGP NSILQRRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDR TGTFNFHVYSQRQGFAGSRPGTDPADPNVLHANVATSTDGGLT WSHRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQYTII NAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGM DENKTVELSDGR VLLNSRDSARSGYRKVAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDTNNASII RAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIRMSCDDGQTWP VSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG G*	311

【 0 4 4 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 5 - 3】

表 6B 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質アミノ酸配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
4 4C8-CART- T2A-HIS-分泌 されたノイラ ミニダーゼ	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRT STGAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSL IGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGG SGGGGSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTS YWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDT SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLTVTVS ATTPAPRPPTPAPTIASPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPRRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMKYTSYILA FQLCIVLGS LGCDLPGSGGGGSGHHHHHHGGSPVPPGGEPLYT EQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGP NSILQRRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRE TGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGTDPADPNVLHANVATSTDGGLT WSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQLRYGPHAGR LIQQYTII NAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGM DENKTVELSDGR VLLNSRDSARSGYRKVAVSTDGGHSYGPVTIDRDL PDPTNNASII RAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIRMSCDDGQTWP VSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWL G	312

【 0 4 4 1 】

10

20

30

40

50

【表 3 5 - 4】

表 6B 4C8 CAR-ノイラミニダーゼ融合タンパク質アミノ酸配列		
コンストラクト	核酸配列	配列 番号
5 4 4C8- CART-T2A- HIS-膜貫通ノ イラミニダー ゼ	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRT STGAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSL IGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGG SGGGGSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTS YWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDT SSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLTVTVS ATTPAPRPPTPAPTIASPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC DFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMT PRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQ NQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLY NELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPRRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMKYTSYILA FQLCIVLGS LGCDLPGSGGGGSGHHHHHHGGSPVPPGGEPLYT EQDLAVNGREGFPNYRIPALTVPDGDLLASYDGRPTGIDAPGP NSILQRRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVGRE TGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGTDPADPNVLHANVATSTDGGLT WSHRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQLRYGPHAGRLIQQYTII NAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGM DENKTVELSDGR VLLNSRDSARSGYRKVAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASII RAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIRMSCDDGQTWP VSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWL GSGGGSGGGGSGGGGGSWIVAHWWAVLLMGIALIMLMAGGGGS GGGGS*	313

10

20

30

【0 4 4 2】

6. 8 組成物

本開示の抗グリコCD44抗体、融合タンパク質、および／または抗グリコCD44ADCは、抗グリコCD44抗体、融合タンパク質および／またはADC、ならびに1つまたは複数の担体、賦形剤および／または希釈剤を含む組成物の形態であってもよい。組成物は、特定の使用のために、例えば、獣医学的な使用またはヒトでの医薬的な使用のために製剤化されてもよい。使用される組成物（例えば、乾燥粉末、液体配合物など）ならびに賦形剤、希釈剤および／または担体の形態は、抗体、融合タンパク質および／またはADCの意図される使用によって、さらに治療的使用、投与様式ごとに決まると予想される。

40

【0 4 4 3】

治療的使用の場合、組成物は、医薬的に許容される担体を含む滅菌された医薬組成物の一部として供給されてもよい。この組成物は、あらゆる好適な形態であり得る（患者にそれを投与する望ましい方法に応じて）。医薬組成物は、経口、経皮、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内、腫瘍内、クモ膜下、外用または局所などの様々な経路によって患者に投与することができる。いずれかの所与の場合における最も好適な投与経路は、特定の抗体および／またはADC、対象、ならびに対象の疾患および身体的な状態の性質および重症度によって決まると予想される。典型的には、医薬組成物は、静脈内または皮下投与されると予想される。

【0 4 4 4】

50

医薬組成物は、1用量当たり予め決定された量の本開示の抗グリコCD44抗体および／または抗グリコCD44ADCを含有する単位剤形で都合よく提供することができる。単位用量に含まれる抗体および／またはADCの量は、処置されている疾患、加えて当業界において周知の他の要因によって決まると予想される。このような単位投薬は、単回投与に好適な量の抗体および／またはADCを含有する凍結乾燥された乾燥粉末の形態であってもよいし、または液体の形態であってもよい。乾燥粉末の単位剤形は、キット中に、シリンジ、好適な量の希釈剤および／または投与に有用な他の成分と共にパッケージ化されていてもよい。液体形態での単位投薬は、単回投与に好適な量の抗体および／またはADCで予め充填されたシリンジの形態で都合よく供給することができる。

【0445】

10

医薬組成物はまた、複数回投与に好適な量の抗体および／またはADCを含有するバルクの形態で供給されてもよい。

【0446】

医薬組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液として貯蔵するために、望ましい純度を有する抗体、融合タンパク質、および／またはADCを、当業界において典型的に採用される任意選択の医薬的に許容される担体、賦形剤または安定剤（これらは全て、本明細書では「担体」と称される）、すなわち、緩衝剤、安定化剤、保存剤、等張化剤、非イオン性デタージェント、抗酸化剤、および他の混成の添加剤と混合することによって調製してもよい。Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (Osol, ed.1980)を参照されたい。このような添加剤は、受容者に対して、採用された投薬および濃度で非毒性であるべきである。

20

【0447】

緩衝剤は、pHを生理学的条件に近い範囲に維持することを助ける。緩衝剤は、様々な濃度で存在していてもよいが、典型的には約2mMから約50mMの範囲の濃度で存在すると予想される。本発明の開示で使用するために好適な緩衝剤としては、例えば、クエン酸緩衝液（例えば、クエン酸－ナトリウム－クエン酸二ナトリウム混合物、クエン酸－クエン酸三ナトリウム混合物、クエン酸－クエン酸－ナトリウム混合物など）、コハク酸緩衝液（例えば、コハク酸－コハク酸－ナトリウム混合物、コハク酸－水酸化ナトリウム混合物、コハク酸－コハク酸二ナトリウム混合物など）、酒石酸緩衝液（例えば、酒石酸－酒石酸ナトリウム混合物、酒石酸－酒石酸カリウム混合物、酒石酸－水酸化ナトリウム混合物など）、フマル酸緩衝液（例えば、フマル酸－フマル酸－ナトリウム混合物、フマル酸－フマル酸二ナトリウム混合物、フマル酸－ナトリウム－フマル酸二ナトリウム混合物など）、グルコン酸緩衝液（例えば、グルコン酸－グルコン酸ナトリウム（sodium glyconate）混合物、グルコン酸－水酸化ナトリウム混合物、グルコン酸－グルコン酸カリウム混合物など）、シュウ酸緩衝液（例えば、シュウ酸－シュウ酸ナトリウム混合物、シュウ酸－水酸化ナトリウム混合物、シュウ酸－シュウ酸カリウム混合物など）、乳酸緩衝液（例えば、乳酸－乳酸ナトリウム混合物、乳酸－水酸化ナトリウム混合物、乳酸－乳酸カリウム混合物など）および酢酸緩衝液（例えば、酢酸－酢酸ナトリウム混合物、酢酸－水酸化ナトリウム混合物など）などの、有機および無機酸の両方ならびにその塩が挙げられる。加えて、リン酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液およびトリメチルアミン塩、例えばトリリスを使用することができる。

30

40

【0448】

微生物の増殖を妨害するために、保存剤が添加されていてもよく、約0.2%～1%（w/v）の範囲の量で添加することができる。本発明の開示で使用するために好適な保存剤としては、フェノール、ベンジルアルコール、メタクレゾール、メチルパラベン、プロピルパラベン、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ベンザルコニウムハロゲン化物（例えば、塩化物、臭化物、およびヨウ化物）、塩化ヘキサメトニウム、およびアルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン、カテコール、レソルシノール、シクロヘキサノール、ならびに3-ペンタノールが挙げられる。等張化剤は、時には「安定剤」としても公知であり、本発明の開示の液体組成物の等張性を確実にするため

50

に添加することができ、その例としては、多価糖アルコール、例えば3水酸基またはそれより多くの水酸基を有する糖アルコール、例えばグリセリン、エリスリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトールおよびマンニトールが挙げられる。安定剤は、賦形剤の広義のカテゴリーを指し、これは、増量剤から、治療剤を可溶化したり、または変性または容器壁への接着の防止を助けたりする添加剤まで機能面で様々なものであり得る。典型的な安定剤は、多価糖アルコール（上記列挙されたもの）；例えばアルギニン、リシン、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アラニン、オルニチン、L-ロイシン、2-フェニルアラニン、グルタミン酸、スレオニンなどのアミノ酸、例えばラクトース、トレハロース、スタキオース、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、リビトール、ミオイノシトール（myoinositol）、ガラクトクトール、グリセロールなど、例えばシクリトール、例えばイノシトールなどの有機糖または糖アルコール；ポリエチレングリコール；アミノ酸ポリマー；例えば尿素、グルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、 α -モノチオグリセロールおよびチオ硫酸ナトリウムなどの硫黄を含有する還元剤；低分子量ポリペプチド（例えば、10残基またはそれより少ない残基のペプチド）；例えばヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性（hydrophilic）ポリマー、例えばキシロース、マンノース、フルクトース、グルコースなどの単糖；例えばラクトース、マルトース、スクロースおよびトレハロースなどの二糖類；ならびに例えばラフィノースなどの三糖（trisaccharide）；ならびに例えばデキストランなどの多糖類であり得る。安定剤は、ADCの重量に対して0.5から10wt%の範囲の量で存在していてもよい。

10

20

【0449】

非イオン界面活性剤またはデタージェント（「湿潤剤」としても公知）は、糖タンパク質の可溶化を助けることに加えて、攪拌により誘発される凝集から糖タンパク質を保護するために添加されてもよく、それにより、タンパク質変性を引き起こすことなく配合物がストレスを受けた剪断面に曝されることも許容する。好適な非イオン界面活性剤としては、ポリソルベート（20、80など）、ポロキサマー（polyoxamer）（184、188など）、およびプルロニックポリオールが挙げられる。非イオン界面活性剤は、約0.05mg/mLから約1.0mg/mLの範囲、例えば約0.07mg/mLから約0.2mg/mLの範囲で存在していてもよい。

30

【0450】

追加の混成の賦形剤としては、増量剤（例えば、デンプン）、キレート剤（例えば、EDTA）、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、メチオニン、ビタミンE）、および共溶媒が挙げられる。

【0451】

6.9 使用方法

本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または結合フラグメントは、様々な診断アッセイおよび治療方法で 사용할 ことができる。一部の実施形態において、患者は、本明細書に記載されるいずれかの方法を使用して（例えば、セクション6.9.1に記載される通り）がんと診断し、その後、本明細書に記載されるいずれかの方法を使用して（例えば、セクション6.9.2に記載される通り）処置することができる。本明細書に記載される診断方法（例えば、セクション6.9.1に記載される通り）は、がん療法（例えば、これらに限定されないが、セクション6.9.2に記載されるがん療法など）の間またはその後に、患者のがんのステータスをモニターするのに利用することができる。

40

【0452】

6.9.1. 診断方法

抗グリコCD44抗体または結合フラグメント（イムノコンジュゲートならびに標識された抗体および結合フラグメントを含む）は、診断アッセイで使用する ことができる。例えば、抗体および結合フラグメントは、イムノアッセイ、例えば競合結合アッセイ、直接および間接サンドイッチアッセイ、ならびに免疫沈降アッセイ、例えば、免疫組織化学、

50

酵素結合免疫吸着測定法（E L I S A）、蛍光活性化セルソーティング（F A C S）、およびウェスタンブロットなどで採用することができる。

【0453】

本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または結合フラグメントは、サンプル中、例えば、患者由来の生物学的サンプル中のバイオマーカーを検出するために、検出アッセイおよび／または診断アッセイで 사용할 ことができる。バイオマーカーは、タンパク質バイオマーカーであってもよい（例えば、CD44の腫瘍関連グリコフォームであり、例えば、下線の太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上のG a l N A cでグリコシル化された、CD44v6のグリコフォームであるG Y R Q T P K E D S H S T T G T A A A（配列番号165）（「CD44v6グリコペプチド」）であり、これは、例えばがん細胞またはがん由来の細胞外小胞の表面上またはその中に存在する。

10

【0454】

本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントは、1種または複数のE Vを含むサンプル（例えば、液体生検）中のバイオマーカーを検出する方法で 사용할 ことができる。このような実施形態において、E V表面バイオマーカーは、本開示の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントによって認識される。バイオマーカーを検出する例示的な方法としては、これらに限定されないが、捕捉アッセイ、イムノアッセイ、例えば免疫沈降；ウェスタンブロット；E L I S A；免疫組織化学；免疫細胞化学；フローサイトメトリー；およびイムノPCRが挙げられる。一部の実施形態において、イムノアッセイは、化学発光イムノアッセイであってもよい。一部の実施形態において、イムノアッセイは、ハイスループットおよび／または自動イムノアッセイプラットフォームであってもよい。

20

【0455】

本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または結合フラグメントはまた、放射線撮像によるインビボのイメージングにも有用であり、この場合、検出可能な部分、例えば放射線不透過性物質または放射線同位体で標識された抗体が、対象に、好ましくは血流に投与され、宿主中の標識された抗体の存在および位置がアッセイされる。このイメージング技術は、悪性腫瘍の病期分類および処置において有用である。

【0456】

6.9.2. 治療方法

30

本明細書に記載される抗グリコCD44抗体または結合フラグメント、融合タンパク質、ADC、CAR、TCR融合タンパク質、およびSTARは、グリコCD44を発現するがん、例えば、乳がん、肺がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、または頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、腎臓がん、前立腺がんおよび他の泌尿生殖器がん、子宮頸がん、ならびに子宮内膜がんなどを処置するのに有用である。

【0457】

したがって、本開示は、医薬として使用するための、例えばがんの、例えば前の段落で特定されたがんのいずれかの処置における使用のための、診断アッセイにおける使用のための、および放射線撮像によるインビボのイメージングにおける使用のための、本明細書に記載される抗グリコCD44抗体、結合フラグメント、融合タンパク質、ADC、CAR、TCR融合タンパク質、およびSTARを提供する。本開示は、さらに、例えば、がんの、例えば前の段落で特定されたがんのいずれかの処置のための医薬の製造における本明細書に記載される抗グリコCD44抗体、結合フラグメント、融合タンパク質、ADC、CAR、TCR融合タンパク質、およびSTARの使用を提供する。

40

【0458】

本開示のCAR、TCR融合タンパク質、またはSTARを療法に使用する場合、本開示の治療方法は、グリコCD44を発現する腫瘍を有する対象に、本開示のCAR、TCR融合タンパク質、またはSTAR、例えば、セクション6.3もしくはグループIの番号付けされた実施形態415～451およびグループIIの198～225に記載される

50

CAR、セクション6.4もしくはグループIの番号付けされた実施形態462~490およびグループIIの236~264に記載されるTCR融合タンパク質、またはセクション6.4.1もしくはグループIの番号付けされた実施形態491~517およびグループIIの265~309に記載されるSTAR、またはセクション6.5もしくはグループIの番号付けされた実施形態391~394およびグループIIの179~182に記載されるMicAボディを発現するように操作された、有効量の遺伝子改変された細胞を投与することを含む。CAR、TCR融合タンパク質、またはSTARを発現するように、細胞、特定にはT細胞を改変する方法は、セクション6.6.1に記載される。

【0459】

本開示のMicAボディを療法に使用する場合、本開示の治療方法は、グリコCD44を発現する腫瘍を有する対象に、治療有効量の本開示のMicAボディ、例えば、セクション6.5またはグループIの番号付けされた実施形態391~394およびグループIIの179~182に記載されるMicAボディ、ならびにMicAボディに特異的に結合することが可能なNKG2D受容体を含むCARを発現するように操作された遺伝子改変T細胞を投与することを含む。

【0460】

6.10 CD44v6ペプチド

またアミノ酸GYRQTPKEDSHSTTGTA A A A（配列番号165）を含む単離されたCD44v6グリコペプチド、またはそのフラグメントも本明細書で提供される。一部の実施形態において、CD44v6グリコペプチドは、下線の太字で示されるセリンおよびスレオニン残基（すなわち、配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび／または配列番号165のアミノ酸12位のセリン）上でGalNAcでグリコシル化されているか、またはそのフラグメントである。例示的な単離されたCD44v6グリコペプチドは、グループIの番号付けされた実施形態628~633に記載される。

【0461】

本発明の開示は、単離されたCD44v6糖タンパク質の合成、および単離されたCD44v6糖タンパク質を生産するための組換え方法を包含する。

【0462】

特定の実施形態において、単離されたCD44v6ペプチドは、固相ペプチド合成（SPPS）戦略を使用して合成される。SPPS方法は、当業界において公知である。SPPSは、固体支持体上でのアミノ酸誘導体の連続反応を介したポリペプチドの迅速なアセンブリを提供する。連続したアミノ酸誘導体は、交互のN末端脱保護およびカップリング反応の繰り返しのサイクルを介して、ポリペプチドに付加される。他の実施形態において、単離されたCD44v6ペプチドは、液相ペプチド合成戦略を使用して合成される。液相ペプチド合成方法は、当業界において公知である。

【0463】

配列番号165のアミノ酸5位におけるスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位におけるセリン上にGalNAcを有する適切なO結合型グリコシル化を確認するために、予備合成されたグリコシル化アミノ酸は、セクション7.1.2.1に記載されるように、伸長反応に使用することができる。

【0464】

単離されたCD44v6グリコペプチドをコードする核酸分子、このような核酸を含むベクター、および本開示の単離されたCD44v6グリコペプチドを生産することが可能な宿主細胞が提供される。特定の態様において、核酸分子は、単離されたCD44v6グリコペプチド、加えて単離されたCD44v6糖タンパク質を含む融合タンパク質をコードし、宿主細胞は、それを発現することが可能である。

【0465】

本開示の単離されたCD44v6グリコペプチドは、宿主細胞における組換え発現によって調製することができる。単離されたCD44v6グリコペプチドを組換え発現するために、宿主細胞中でグリコペプチドが発現され、任意選択で宿主細胞を培養する培地に分

10

20

30

40

50

泌されるように、宿主細胞は、グリコペプチドをコードするDNAを有する組換え発現ベクターでトランスフェクトされ、その培地から糖タンパク質を回収することができる。標準的な組換えDNA手法を使用して、CD44v6糖タンパク質遺伝子を得て、組換え発現ベクターに遺伝子を取り込み、ベクターを、Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F. M. et al., eds., Greene Publishing Associates, 1989)および米国特許第4,816,397号明細書に記載されるものなどの宿主細胞に導入する。

【0466】

原核または真核宿主細胞のどちらでも本開示の抗体を発現させることが可能である。特定の実施形態において、抗体の発現、または適切にフォールディングされ免疫学的に活性な抗体の最適な分泌は、真核細胞、例えば、哺乳動物宿主細胞で実行される。本開示の単離されたCD44v6糖タンパク質を生産するために、宿主細胞は、配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位のセリンをグリコシル化するその能力に基づき選択される。例示的な宿主細胞は、COSMC KO HEK293細胞である。

【0467】

6.10.1. CD44v6ペプチド組成物

本開示のCD44v6ペプチドは、CD44v6ペプチドおよび1種または複数の担体、賦形剤、希釈剤および／またはアジュバントを含む組成物の形態であってもよい。組成物は、具体的な使用のために、例えば獣医学的使用またはヒトにおける医薬的な使用のために製剤化することができる。使用される組成物の形態（例えば、乾燥粉末、液体製剤など）ならびに賦形剤、希釈剤および／または担体は、抗体、融合タンパク質および／またはADCの意図される使用に、治療的使用の場合、投与様式によって決まると予想される。

【0468】

治療的使用の場合、組成物は、医薬的に許容される担体および／または医薬的に許容されるアジュバントを含む滅菌医薬組成物の一部として供給してもよい。この組成物は、どのような好適な形態をとっていてもよい（それを患者に投与する望ましい方法に応じて）。医薬組成物は、経口、経皮、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内、腫瘍内、クモ膜下、外用または局所などの様々な経路によって患者に投与することができる。いずれかの所与の場合における最も好適な投与経路は、特定のCD44v6ペプチド、対象、ならびに疾患の性質および重症度ならびに対象の身体的な状態によって決まると予想される。典型的には、医薬組成物は、静脈内または皮下に投与されると予想される。

【0469】

医薬組成物は、1用量当たり予め決定された量の本開示のCD44v6ペプチドを含有する単位剤形で都合よく供給することができる。単位用量に含まれるCD44v6ペプチドの量は、処置されている疾患に加えて、当業界において周知の他の要因によって決まると予想される。このような単位投薬量は、単回投与に好適な量のCD44v6ペプチドを含有する凍結乾燥された乾燥粉末の形態であってもよいし、または液体の形態であってもよい。乾燥粉末の単位剤形は、キット中に、シリンジ、好適な量の希釈剤および／または投与に有用な他の成分と共にパッケージ化されていてもよい。液体形態での単位投薬量は、単回投与に好適な量のCD44v6ペプチドで予め充填されたシリンジの形態で都合よく供給することができる。

【0470】

医薬組成物はまた、複数回投与に好適な量のCD44v6ペプチドを含有するバルクの形態で供給されてもよい。

【0471】

医薬組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液として貯蔵するために、望ましい純度を有するCD44v6ペプチドを、当業界において典型的に採用される任意選択の医薬的に許容

10

20

30

40

50

される担体、賦形剤、アジュバントまたは安定剤（これらは全て、本明細書では「担体」と称される）、すなわち、緩衝剤、安定化剤、保存剤、等張化剤、非イオン性デタージェント、抗酸化剤、および他の混成の添加剤と混合することによって調製してもよい。Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition (Osol, ed. 1980)を参照されたい。このような添加剤は、受容者に対して、採用された投薬および濃度で非毒性であるべきである。

【0472】

一部の実施形態において、組成物は、融合タンパク質および／またはナノ粒子に加えて、1種または複数の医薬アジュバントを含む。アジュバントとしては、例えば、アルミニウム塩（例えば、無定形アルミニウムヒドロキシホスフェートスルフェート（AAHS）、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、硫酸アルミニウムカリウム（アラム））、dsRNA類似体、リポドA類似体、フラジェリン、イミダゾキノリン、CpG ODN、サポニン（例えば、QS21）、C型レクチンリガンド（例えば、TDB）、CD1dリガンド（ α -ガラクトシルセラミド）、MF59、AS01、AS02、AS03、AS04、AS15、AF03、GLA-SE、IC31、CAF01、およびピロソームが挙げられる。また、化学的アジュバント、遺伝学的アジュバント、タンパク質アジュバント、および脂質アジュバントを含む当業界において公知の他のアジュバントも組成物に含まれていてもよい。

【0473】

緩衝剤は、pHを生理学的条件に近い範囲に維持することを助ける。緩衝剤は、様々な濃度で存在していてもよいが、典型的には約2 mMから約50 mMの範囲の濃度で存在すると予想される。本発明の開示で使用するために好適な緩衝剤としては、例えば、クエン酸緩衝液（例えば、クエン酸-ナトリウム-クエン酸二ナトリウム混合物、クエン酸-クエン酸三ナトリウム混合物、クエン酸-クエン酸-ナトリウム混合物など）、コハク酸緩衝液（例えば、コハク酸-コハク酸-ナトリウム混合物、コハク酸-水酸化ナトリウム混合物、コハク酸-コハク酸二ナトリウム混合物など）、酒石酸緩衝液（例えば、酒石酸-酒石酸ナトリウム混合物、酒石酸-酒石酸カリウム混合物、酒石酸-水酸化ナトリウム混合物など）、フマル酸緩衝液（例えば、フマル酸-フマル酸-ナトリウム混合物、フマル酸-フマル酸二ナトリウム混合物、フマル酸-ナトリウム-フマル酸二ナトリウム混合物など）、グルコン酸緩衝液（例えば、グルコン酸-グルコン酸ナトリウム混合物、グルコン酸-水酸化ナトリウム混合物、グルコン酸-グルコン酸カリウム混合物など）、シュウ酸緩衝液（例えば、シュウ酸-シュウ酸ナトリウム混合物、シュウ酸-水酸化ナトリウム混合物、シュウ酸-シュウ酸カリウム混合物など）、乳酸緩衝液（例えば、乳酸-乳酸ナトリウム混合物、乳酸-水酸化ナトリウム混合物、乳酸-乳酸カリウム混合物など）および酢酸緩衝液（例えば、酢酸-酢酸ナトリウム混合物、酢酸-水酸化ナトリウム混合物など）などの、有機および無機酸の両方ならびにその塩が挙げられる。加えて、リン酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液およびトリメチルアミン塩、例えばトリスを使用することができる。

【0474】

微生物の増殖を妨害するために、保存剤が添加されていてもよく、約0.2%～1%（w/v）の範囲の量で添加することができる。本発明の開示で使用するために好適な保存剤としては、フェノール、ベンジルアルコール、メタクレゾール、メチルパラベン、プロピルパラベン、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ベンザルコニウムハロゲン化物（例えば、塩化物、臭化物、およびヨウ化物）、塩化ヘキサメトニウム、およびアルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン、カテコール、レソルシノール、シクロヘキサノール、ならびに3-ペンタノールが挙げられる。等張化剤は、時には「安定剤」としても公知であり、本発明の開示の液体組成物の等張性を確実にするために添加することができ、その例としては、多価糖アルコール、例えば3水酸基またはそれより多くの水酸基を有する糖アルコール、例えばグリセリン、エリスリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトールおよびマンニトールが挙げられる。安定剤は、賦形剤

の広義のカテゴリーを指し、これは、増量剤から、治療剤を可溶化したり、または変性または容器壁への接着の防止を助けたりする添加剤まで機能面で様々なものであり得る。典型的な安定剤は、多価糖アルコール（上記列挙されたもの）；例えばアルギニン、リシン、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アラニン、オルニチン、Ｌーロイシン、２－フェニルアラニン、グルタミン酸、スレオニンなどのアミノ酸、例えばラクトース、トレハロース、スタキオース、マンニトール、ソルビトール、キシリトール、リビトール、ミオイノシトール、ガラクトール、グリセロールなど、例えばシクリトール、例えばイノシトールなどの有機糖または糖アルコール；ポリエチレングリコール；アミノ酸ポリマー；例えば尿素、グルタチオン、チオクト酸、チオグリコール酸ナトリウム、チオグリセロール、 α －モノチオグリセロールおよびチオ硫酸ナトリウムなどの硫黄を含有する還元剤；低分子量ポリペプチド（例えば、１０残基またはそれより少ない残基のペプチド）；例えばヒト血清アルブミン、ウシ血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー、例えばキシロース、マンノース、フルクトース、グルコースなどの単糖；例えばラクトース、マルトース、スクロースおよびトレハロースなどの二糖類；ならびに例えばラフィノースなどの三糖；ならびに例えばデキストランなどの多糖類であり得る。安定剤は、ＣＤ４４ペプチドの重量に対して０．５から１０ｗｔ％の範囲の量で存在していてもよい。

10

【０４７５】

非イオン界面活性剤またはデタージェント（「湿潤剤」としても公知）は、糖タンパク質の可溶化を助けることに加えて、攪拌により誘発される凝集から糖タンパク質を保護するために添加されてもよく、それにより、タンパク質変性を引き起こすことなく配合物がストレスを受けた剪断面に曝されることも許容する。好適な非イオン界面活性剤としては、ポリソルベート（２０、８０など）、ポロキサマー（１８４、１８８など）、およびプルロニックポリオールが挙げられる。非イオン界面活性剤は、約０．０５ｍｇ／ｍＬから約１．０ｍｇ／ｍＬの範囲、例えば約０．０７ｍｇ／ｍＬから約０．２ｍｇ／ｍＬの範囲で存在していてもよい。

20

【０４７６】

追加の混成の賦形剤としては、増量剤（例えば、デンプン）、キレート剤（例えば、ＥＤＴＡ）、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、メチオニン、ビタミンＥ）、および共溶媒が挙げられる。

30

【０４７７】

本開示の例示的なＣＤ４４ｖ６ペプチド組成物は、グループⅠの番号付けされた実施形態６３４～６３５に記載されている。

【０４７８】

６．１０．２．ＣＤ４４ｖ６ペプチドを使用する方法

本明細書に記載されるＣＤ４４ｖ６ペプチドは、ＣＤ４４ｖ６の腫瘍関連形態に対する抗体の生産において使用することができる。ＣＤ４４ｖ６ペプチドは、動物に投与することができる。投与されるペプチドの量は、動物にペプチドに対する抗体を生産させるのに有効な量であってもよい。本明細書で使用される場合、「動物」は、生物学的な動物界からの多細胞真核生物を指す。一部の実施形態において、動物は、哺乳動物である。一部の実施形態において、動物は、マウスまたはウサギである。次いで得られた抗体は、動物から収集することができる。ＣＤ４４ｖ６ペプチドは、精製したペプチドとして、または本明細書で提供される組成物の一部として投与することができる。

40

【０４７９】

本明細書に記載されるＣＤ４４ｖ６ペプチドは、ＣＤ４４ｖ６の腫瘍関連形態に対する免疫応答を惹起するのに使用することができる。ＣＤ４４ｖ６ペプチドは、動物にペプチドに対する免疫応答を開始させる（例えば、抗体を生産する）のに有効な量で動物に投与することができる。

【０４８０】

本開示のＣＤ４４ｖ６ペプチドを使用するための例示的な方法は、グループⅠの番号付

50

けされた実施形態 636～639 に記載されている。

【0481】

7. 実施例

7.1 実施例 1：抗グリコ CD44 抗体の同定および特徴付け

7.1.1. 概要

グリカンは、必須の膜の構成要素であり、ヒト細胞の新生物性形質転換は、実質的には常にタンパク質および脂質の異常なグリコシル化に関連する。N-グリコシル化および多くのタイプの O-グリコシル化を含む数々のタイプのタンパク質グリコシル化があるが、最も多様なタイプの 1 つは、ムチン型 GalNAc 型の O-グリコシル化（以降、O-グリコシル化と称する）である。O-グリカンにおけるがん関連の変化が特に興味深く、最も高頻度で観察される異常な糖表現型は、Tn (GalNAc α 1-O-Ser/Thr)、STn (NeuAc α 2-6GalNAc α 1-O-Ser/Thr)、および T (Gal β 1-3GalNAc α 1-O-Ser/Thr) 抗原と表される最も未成熟の短縮化された O-グリカン構造の発現である。短縮化された O-グリカンは、ほとんど全ての上皮がん細胞で観察され、予後不良と強く関連する。加えて、グリカンもがん発生において重要な役割を有することがますます明らかになりつつあり、短縮化された O-グリカンは、分化、細胞間および細胞-マトリックス相互作用に影響を及ぼし、罹患しやすい細胞において腫瘍形成性の特徴を直接誘導する。

【0482】

発明者らは、ヒトがん細胞における CD44 グリコペプチドエピトープを同定し、がん特異的な抗グリコ CD44 モノクローナル抗体を開発するために定義されたグリコペプチドを使用した。

【0483】

7.1.2. 材料および方法

7.1.2.1 CD44v6 グリコペプチドの合成

CD44v6 グリコペプチド、GYRQTPKEDSHSTTGTA A A（配列番号 165）は、下線の太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上に O 結合同型 GalNAc を有し、これを、標準的な FMOC ペプチド合成戦略を使用して合成した。予備合成されたグリコシル化アミノ酸を、段階的に固体または液相ペプチド化学を使用して、特定の位置で伸長するペプチドにカップリングした。全配列が完了し、全ての保護基を除去した後、得られたグリコペプチドを高速液体クロマトグラフィー（HPLC）によって精製し、質量分析（ポジティブモードでのエレクトロスプレーイオン化）によって特徴付けた。

【0484】

7.1.2.2 組換え Tn-グリコシル化 CD44 の合成

30 mL の Opti-MEM 中の 1×10^6 個の COSMC KO HEK293 細胞を、30 μ g の his タグを有するヒト CD44 をコードするプラスミドおよび 60 μ L の 293fectin（商標）トランスフェクション試薬（Gibco）を使用してトランスフェクトした。48 時間の培養後、細胞を遠沈し、50% の Ni-NTA アガローススラリーカラム（Invitrogen）を使用し、250 mM イミダゾールで溶出させることにより、上清から his タグを有する組換え CD44 タンパク質を精製した。純度を増加させるため、この精製工程を繰り返した。組換え SC-CD44 タンパク質を、Amicon Ultra 遠心フィルターを使用して PBS 中で濃縮した。

【0485】

7.1.2.3 免疫化プロトコール

雌 Balb/c マウスを、グルタルアルデヒドリンカーを介して KLH（キーホールリンペットヘモシニアン）にコンジュゲートした Tn-グリコシル化 CD44v6 グリコペプチドで、または組換え Tn-グリコシル化 CD44 を皮下に用いて免疫化した。マウスを、0、14、および 35 日目にそれぞれ 50 μ g、45 μ g、および 45 μ g の KLH-グリコペプチドで免疫化した。第 1 の免疫化は、フロイント完全アジュバントを使用した。全ての後続の免疫化は、フロイント不完全アジュバントを使用した。45 日目に、尾

部からの採血をポリクローナル応答に関して評価した。56日目またはその後に、融合させようとするマウスを、ハイブリドーマ融合の3～5日前に、フロイント不完全アジュバント中の15ugのKLH-グリコペプチドでブーストした。BTX Harvard ApparatusからのElectro Cell Manipulator (ECM 2001)を使用して、マウスからの脾細胞をSP2/0-Ag14 (ATCC、カタログ番号CRL-1581) 骨髓腫細胞と融合した。ハイブリドーマを96-ウェルプレートに播種し、培養し、重さを量り、評価し、ELISA、フローサイトメトリー、および免疫蛍光法を使用してCD44-Tnに対する特異性に関して選択して、CD44-Tnへの特異性を有するモノクローナル抗体を得た。

【0486】

ニュージーランドホワイトウサギを、グルタルアルデヒドリンカーを介してKLH (キーホールリンペットヘモシニアン) にコンジュゲートしたTn-グリコシル化CD44v6グリコペプチド、または組換えTn-グリコシル化CD44を皮下に用いて免疫化した。マウスを、0、28、および47日目にそれぞれ200μg、100μg、および100μgのKLH-グリコペプチドで免疫化した。第1の免疫化は、フロイント完全アジュバントを使用した。全ての後続の免疫化は、フロイント不完全アジュバントを使用した。58日目に、試験採血をポリクローナル応答に関して評価した。66日目またはその後に、融合させようとするマウスを、ハイブリドーマ融合の3～5日前に、フロイント不完全アジュバント中の50ugのKLH-グリコペプチドでブーストした。BTX Harvard ApparatusからのElectro Cell Manipulator (ECM 2001)を使用して、ウサギからの脾細胞をSP2/0-Ag14 (ATCC、カタログ番号CRL-1581) 骨髓腫細胞と融合した。ハイブリドーマを96-ウェルプレートに播種し、培養し、重さを量り、評価し、ELISA、フローサイトメトリー、および免疫蛍光法を使用してCD44-Tnに対する特異性に関して選択して、CD44-Tnへの特異性を有するモノクローナル抗体を得た。

【0487】

7.1.2.4 ELISA

96-ウェルのCorning high bindマイクロプレート (Fisher) を、4℃で一晩、0.2Mの炭酸水素塩-炭酸塩緩衝液 (pH 9.4) 中の様々な濃度のタンパク質、ペプチド、またはグリコペプチドでコーティングした。次いでプレートを、2.5% BSAを含有するリン酸緩衝食塩水 (PBS) (pH 7.4) で、室温で1時間ブロッキングした。プレートの内容物を捨て、ポリクローナル応答のための、精製した抗体、またはハイブリドーマ上清、または血清を様々な濃度で添加し、室温で2時間インキュベートした。プレートを、0.05% Tween-20を含むトリス緩衝食塩水で洗浄し、次いで、HRPコンジュゲートヤギ抗マウスIgG Fcγ (Sigma) の1:3000希釈物と共に、室温で1時間インキュベートした。プレートを再度洗浄し、TMBクロモゲン基質で発色させた。適した発色後 (およそ2～3分)、0.2NのH₂SO₄で反応を止め、450nmで吸光度を読んだ。GraphPad Prismソフトウェアでデータを分析した。

【0488】

7.1.2.5 フローサイトメトリー

接着細胞をTrypLE select (Gibco) で解離させ、細胞培養培地 (RPMI w/L-グルタミン、1% PenStrep、および10% FBS) でフラスコ表面から洗い落とした。細胞を、4℃で、300×gで5分間の遠心分離で数回洗浄し、続いて1% BSAを含むPBS (PBS/1% BSA) に再懸濁した。細胞を細胞5×10⁵個/ml～細胞2×10⁶個/mlで再懸濁し、次いで96ウェルのU底プレートに分配した。ポリクローナル応答のための、希釈した商業的な抗体 (0.25～2ug/ml)、またはハイブリドーマ上清、または血清を細胞に添加し、氷上で1時間インキュベートした。PBS/1% BSAで数回洗浄した後、細胞を、AlexaFluor647コンジュゲートF(ab)₂ヤギ抗マウスIgG Fcγ (Jackson Immuno

10

20

30

40

50

Research) の 1 : 1 6 0 0 希釈物と共に氷上で 3 0 分間インキュベートした。細胞を PBS / 1 % BSA で再度洗浄し、次いで PBS / 1 % BSA 中の 1 % ホルムアルデヒド中で固定した。細胞を、2 または 4 レーザー Attune NXT フローサイトメーターのいずれかで分析した。FlowJo ソフトウェアでデータを加工した。

【0489】

7. 1. 2. 6 免疫蛍光法

細胞をガラスチャンバースライド (nunc) 中で 5 0 % の密集度まで播種し、3 7 °C、5 % CO₂ で 1 2 ~ 1 8 時間インキュベートした。一晚増殖させた後、スライドから培地を除去し、細胞を、PBS (pH 7. 4) 中の 4 % ホルムアルデヒドで、室温で 1 0 分間固定した。スライドを PBS 中で洗浄した。ポリクロナル応答のための、希釈した商業的な抗体 (1 ~ 4 µg / ml)、またはハイブリドーマ上清、または血清をスライドに添加し、スライドを 4 °C で一晚インキュベートした。スライドを PBS 中で洗浄し、Alexa Fluor 488 コンジュゲート F (ab)₂ ウサギ抗マウス IgG (H+L) (Invitrogen) の 1 : 8 0 0 希釈物で室温で 4 5 分間染色した。スライドを PBS 中で洗浄し、DAPI を含む Prolong Gold Antifade Mountant (サーモフィッシャー) を使用してマウントし、オリンパス FV 3 0 0 0 共焦点顕微鏡を使用して検査した。

【0490】

7. 1. 2. 7 免疫組織化学

パラフィン包埋組織マイクロアレイ (TMA) または組織切片を、キシレンおよびエタノールで脱パラフィンし、その後、クエン酸緩衝液 (pH 6. 0) で抗原賦活化し、マイクロ波で 1 8 分間加熱した。TMA を、Ultra Vision Quanto Detection System HRP DAB で染色した。短時間で TMA を TBS 中で洗浄し、mAb 上清と共に 2 時間インキュベートした。TBS で 2 回洗浄した後、TMA を Primary Antibody Amplifier Quanto と共に 1 0 分間インキュベートした。TBS 中で洗浄した後、TMA を、HRP ポリマー quanto (1 0 分間)、続いて DAB クロモゲンと共にインキュベートした。スライドをヘマトキシリンで対比染色し、脱水し、マウントした。

【0491】

7. 1. 3. 結果

7. 1. 3. 1 Tn-CD44 に対するグリコペプチド特異的抗体

グリコペプチドに反応性を有する抗体を、Tn-グリコシル化 CD44 v6 グリコペプチドおよび組換え Tn-グリコシル化 CD44 の両方を使用して生成したが、4C8、2B2、18G9、1D12、および 10H4 を含む CD44 v6 グリコペプチドを使用して生成した抗体は、選択性が優れていることが証明された。さらなる特徴付けのために、抗体 4C8 を選択した。

【0492】

7. 1. 3. 2 mAb 4C8 の結合特異性の特徴付け

4C8 の結合特異性の特徴付けるために、グリコシル化されていない、および Tn-グリコシル化 CD44 に対する ELISA を実行した。Tn 抗原との交差反応性を評価するために、Tn-グリコシル化 MUC1 に対しても ELISA を実行した。ELISA の環境で、4C8 は、Tn-グリコシル化 CD44 のみと反応し、そのグリコシル化されていないカウンターパートも MUC1 とも反応しなかったことが見出された (図 1A)。CD44 v6 グリコペプチドに対する 4C8 の親和性は、Biacore で測定したところ、128 nM であることが決定された。Octet システムを使用して、CD44 v6 グリコペプチドに対する 4C8 の見かけの親和性 (結合活性を考慮に入れて) を測定したところ、7.9 nM であった (図 1B)。表 7 は、CD44 v6 ペプチドの様々なグリコフォーム、加えてグリコシル化されていない CD44 v6 および MUC1-Tn に対する 4C8 の解離定数 (K_D) を要約する。

【0493】

10

20

30

40

50

【表 3 6】

表 7 解離定数(K _D)					
	CD44v6-Tn(S+T)	CD44v6-Tn(S)	CD44v6-Tn(T)	CD44v6	MUC1-Tn
Biacore	128 nM	NA	NA	NA	NA
Octet	7.9 nM	6.4 nM	ND	ND	ND
「NA」は、所与の技術を使用して親和性が測定されなかったことを示す。 「ND」(決定されず)は、親和性が検出限界未満であったことを示す。					

10

【0 4 9 4】

より天然のコンフォメーションの状態での4C8の特異性をさらに評価するために、4C8を使用して、フローサイトメトリーおよび免疫蛍光法のためにHaCaT細胞を染色した。ケラチノサイト由来のHaCaT細胞株は本来的にTn陰性であるが、COSMCシャペロンのKOによってTn抗原を発現するように誘導することができる。フローサイトメトリーのために染色するのに4C8を使用する場合、4C8は、COSMC KO HaCaT細胞を選択的に染色したが、その野生型カウンターパートは、どちらの細胞もCD44v6に対して陽性染色されるにもかかわらず、染色されなかったことが見出された(図1C)。4C8の反応性は、細胞がゴルジマーカに関して陽性染色されなかったことから、分泌経路に局在するTn陽性中間CD44タンパク質の細胞内染色が原因とすることができなかった。これらの結果に一致して、免疫蛍光法は、CD44v6⁺Tn⁺HaCaT COSMC KO細胞のみが4C8で染色されたが、それに対してCD44v6⁺Tn⁻HaCaT WT細胞は染色されなかったことを示した(図1D)。加えて、HaCaT細胞を使用してインビトロの器官型皮膚モデルを形成した場合、4C8は、COSMC KO皮膚のみを染色したが、野生型皮膚は染色しなかった(図1E)。他のCD44抗体を試験する臨床試験は、重度の皮膚毒性を報告したことから、健康なヒト皮膚への4C8結合も評価した。ヒト皮膚はCD44v6に対して陽性染色されたが、4C8は、ヒト皮膚との反応性を示さなかったことが見出された(図1F)。総合すると、これらの結果は、4C8は、Tnグリコシル化CD44と選択的に反応し、健康なヒト皮膚と交差反応しないことを実証する。

20

30

【0 4 9 5】

7. 1. 3. 3 4C8によって認識されたTnグリコシル化CD44v6エピトープの組織発現

免疫蛍光法のためにホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を染色したところ、7/10の肺、7/24の卵巣、7/14のHNSCC、3/16の結腸、9/20の胃、3/8の腎臓、および3/10の乳がん切片において4C8との陽性染色が観察された。加えて、組織マイクロアレイの免疫組織化学は、4C8を使用して、結腸癌において22/89の強い染色および38/89の弱い染色、膵臓癌において4/24の強い染色および12/24の弱い染色、肺癌において6/22の強い染色および8/22の弱い染色、乳癌において6/26の強い染色および7/26の弱い染色、ならびに前立腺癌において2/24の弱い染色を示した(図2A~2B)。この染色パターンは、正常なCD44発現の染色と相関していたことから、これらの癌腫におけるCD44発現は4C8への反応性を予測したことを示す。重要なことに、健康な隣接する組織を染色するのに4C8を使用した場合、反応性は観察されなかった(図2A)。結論として、4C8は、数々のがん組織切片と反応するが、それらの健康なカウンターパートと反応しないことが明確に見出された。

40

【0 4 9 6】

7. 2 実施例2: 4C8ベースのCAR

50

4 C 8 の V H および V L ドメインを有するキメラ抗原受容体 (C A R) を設計した。次いで選択された C A R を、標的特異的細胞傷害性アッセイで評価した。

【0497】

7. 2. 1. 材料および方法

7. 2. 1. 1. ベクター設計

4 C 8 の s c F v を有する V H および V L ドメインを有する様々な C A R コンストラクトを設計した。一部のコンストラクトにおいて、V H および V L は、1つの長いリンカー (G G G G S)₃ (配列番号 184) と一緒に取り付けられたが、他のコンストラクトは、V H と V L との間に1つの短いリンカー G G G G S (配列番号 183)、および各 s c F v の間に1つの長いリンカー (G G G G S)₃ (配列番号 184) とタンデムの形態で2つの s c F v を含む (図 5 A ~ 5 H を参照)。V H および V L を、様々な方向で、3つの異なるヒンジ (C D 8 a、I g G 4 - ショート、I g G 4 - ロング)、それに続いて第2世代 C A R - T (C D 28 細胞内シグナルドメイン、および C D 3 - ゼータ細胞内鎖) に取り付けた。s c F v の N 末端を C D 8 a シグナル配列に取り付けた。4 C 8 C A R - T を、V i r a p o w e r レンチウイルスベクター p L E N T I 6 . 3 - V 5 - D E S T (I n v i t r o g e n) にサブクローニングした。

10

【0498】

C A R をコードするヌクレオチド配列は、表 8 A に示される。C A R のアミノ酸配列は、表 8 B に示される。コンストラクト 1、2、3、4、5、6、7、および 8 は、蛍光レポーター m C h e r r y を含まないが、コンストラクト 1. 1、2. 1、3. 1、4. 1、5. 1、6. 1、7. 1、および 8. 1 は、C 末端 T 2 A 配列、それに続いて m C h e r r y を含む。

20

【0499】

30

40

50

【表 3 7 - 1】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
1 (LH-4C8-CD8a-CART)	ATGGCTCTGCCCCGTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAGAGC GCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGACCTGCA GAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTACGCCAATTGG GTGCAAGAGAAGCCCCGACCACCTGTTACAGGACTGATCGGCG GCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCAGATTTCAGCGG ATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCATCACAGGTGCC CAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTGCCCTGCTGTACTC CAACTACTGGGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTTCTT GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGCGGAGGCGGA TCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGGCTCTGAACTCGTTAGACC TGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACC TTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTCAAGCAGAGGCCTGGAC AGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCTACCCTAGAAGCGGCAC CACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCG TGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCT GACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGTACCAGAAGCGGC TACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTAC CGTGTCCGCTACAACAACCCCTGCTCCTAGACCTCCTACACCAG CTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTGCGGCCTGAGGCT TGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATACAAGAGGACTGG ATTCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTG CTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTT TGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACA TGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTA CCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGCA GGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGAAGA GAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGATCCTG AGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAGAGGGCCT GTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGC GAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGGCAAGGGACAC GATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGGATACCT ATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTAGATAG	317

【0500】

【表 3 7 - 2】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
1.1 (LH-4C8-CD8a-CART + mCherry)	ATGGCTCTGCCC GTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAGAGC GCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGACCTGCA GAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACACTACGCCAATTGG GTGCAAGAGAAGCCCCGACCACCTGTTACAGGACTGATCGGCG GCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCAGATTGAGCGG ATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCATCACAGGTGCC CAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTGCCCTGCTGTACTC CAACTACTGGGTGTTGCGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTTCTT GGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGCGGAGGCGGA TCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGGCTCTGAACTCGTTAGACC TGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCCAGCGGCTACACC TTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTCAAGCAGAGGCCTGGAC AGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCTACCCTAGAAGCGGCAC CACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGGCCACTCTGACCG TGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTACATGCAGCTGTCTAGCCT GACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGTACCAGAAGCGGC TACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTTAC CGTGTCCGCTACAACAACCCCTGCTCCTAGACCTCCTACACCAG CTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTGCGGCCTGAGGCT TGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATACAAGAGGACTGG ATTTGCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGTG CTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCTTT TGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTACA TGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCACTA CCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTCCA GAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAGCA GGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGAAGA GAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGATCCTG AGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAGAGGGCCT GTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGC GAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGGCAAGGGACAC GATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGGATACCT ATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTAGAAGAAAGAG AGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTGCTGACATGTGGCGAC GTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGGTGTCCAAGGGCGAAGAGG ACAACATGGCCATCATCAAAGAATTCATGCGGTTCAAGGTGCAC ATGGAAGGCAGCGTGAACGGCCACGAGTTGAGATTGAAGGCG AAGGCGAGGGCAGACCTTACGAGGGAACACAGACCGCCAAGCT GAAAGTGACCAAAGGCGGCCCTCTGCCATTTGCCTGGGACATTC TGAGCCCTCAGTTTATGTACGGCAGCAAGGCCTACGTGAAGCAC CCCGCCGATATTCCCGACTACCTGAAACTGAGCTTCCCCGAGG	167

10

20

30

40

【 0 5 0 1 】

【表 3 7 - 3】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GCTTCAAGTGGGAGAGAGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGT CGTGACCGTGACTCAAGATAGCTCTCTGCAGGACGGCGAGTTC ATCTACAAAGTGAAGCTGCGGGGCACCAACTTTCCCTCTGATGG CCCCGTGATGCAGAAAAAGACCATGGGCTGGGAAGCCAGCAGC GAGAGAAATGTACCCTGAAGATGGCGCCCTGAAAGGCGAGATCA AGCAGCGGCTGAAGCTGAAGGATGGCGGCCACTACGACGCCGA AGTGAAAACCACTACAAGGCCAAGAAACCCGTGCAGCTGCCA GGCGCCTACAACGTGAACATCAAGCTGGACATCACCAGCCACAA CGAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAGAGAGCCGAAGGC AGGCATAGCACAGGCGGAATGGACGAGCTGTATAAGTAG	10
2 (LH-4C8-IgG4-CART)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGCCGTGGTGACCCAGGAGA GCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAGACCGTGACCCTGACCTG CAGGACCAGCACC GGCGCCGTGAGCATCAGGAACACGCCAAC TGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACTGTTACCCGGCCTGATCG GCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGCGCTGCCCGCCAGGTTCA GCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCCGCCCTGACCATCACCG GCGCCAGCCCGAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGCT GTACAGCAACTACTGGGTGTTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGACC GTGCTGGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGG CGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCGGCAGCGAGCT GGTGAGGCCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAGGCCAG CGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACCCCA GGAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGGC CACCCCTGACCGTGACACCAGCAGCAGCACC GCCTACATGCAG CTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGCA CCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTGGGGCCAGGG CACCCCTGGTGACCGTGAGCGCCGAGAGCAAGTACGGCCCCCCC TGCCCCAGCTGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGC GTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGAC TACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCGCCTACAG GAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCCTA CCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGC AGGAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCAGG GACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCAGGAGGAAGAACCCCCAG GAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGG CCTACAGCAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCA AGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACC GCCACCAA GGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAGG TAG	318

【0502】

【表 3 7 - 4】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
2.1 (LH-4C8-IgG4-CART + mCherry)	ATGGCCCTGCCCCTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGCCGTGGTGACCCAGGAGA GCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAGACCGTGACCTGACCTG CAGGACCAGCACCGGCGCCGTGAGCATCAGGAACACGCCAAC TGGGTGCAGGAGAAGCCCCGACCACCTGTTCAACGGCCTGATCG GCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCA GCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCCGCCCTGACCATCACCG GCGCCCAGCCCCGAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGCT GTACAGCAACTACTGGGTGTTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGACC GTGCTGGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGG CGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCCGGCAGCGAGCT GGTGAGGCCCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAGGCCAG CGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACCCCA GGAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGGC CACCCTGACCGTGACACCAGCAGCAGCAACGCCTACATGCAG CTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTAATTCTGCA CCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTAAGTGGGGCCAGGG CACCCTGGTGACCGTGAGCGCCGAGAGCAAGTACGGCCCCCCC TGCCCCAGCTGCCCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGC GTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGAC TACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCGCCTACAG GAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCCTA CCAGCAGGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGC AGGAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCGAGG GACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAACCCCCAG GAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGG CCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCA AGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAA GGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAGG AGAAAGAGAGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTGCTAACAT GCGGTGACGTGAGGAGAATCCTGGACCTATGGTGAGCAAGGG CGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCA AGGTGCACATGGAGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGAT CGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCAGAC CGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCC TGGGACATCCTGTCCCTCAGTTCATGTACGGCTCCAAGGCCTA CGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCT TCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGA CGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAGGAC	168

10

20

30

40

【0503】

【表 3 7 - 5】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCC CCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGA GGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAA GGGCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCA CTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAAGGCCAAGAAGCCC GTGCAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACAT CACCTCCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAAC GCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGCTGT ACAAGTAG	10
3 (LH-4C8-IgG4-ロング-CART)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGCCGTGGTGACCCAGGAGA GCGCCCTGACCACCGCCCCGGCGAGACCGTGACCCTGACCTG CAGGACCAGCACCGGCGCCGTGAGCATCAGGAACACGCCAAC TGGGTGCAGGAGAAGCCCGACACCTGTTACCCGGCCCTGATCG GCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGCGTGCCCCGCCAGGTTCA GCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCCGCCCTGACCATCACCG GCGCCCAGCCCCGAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGCT GTACAGCAACTACTGGGTGTTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGACC GTGCTGGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGG CGGCGGCAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCGGCAGCGAGCT GGTGAGGCCCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAGGCCAG CGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCCGGCCAGGGCCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACCCCA GGAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGGC CACCTTGACCGTGACACACGAGCAGCAGCAGCCGCTACATGCAG CTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTAATTCTGCA CCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTGGGGCCAGGG CACCTGGTGACCGTGAGCGCCGAGAGCAAGTACGGCCCCCCCC TGCCCCCCCCCTGCCCCGCCCCCCCCGTGGCCGGCCCCAGCGTG TTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAG GACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGACGTGAGCCAGGA GGACCCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCCAGA GCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAG GGCCTGCCAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGCCA GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTG AAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCCCCGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAGGCTGACCGTG	319 20 30 40

【0504】

【表 3 7 - 6】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTG GGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCT TCATCATCTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCCCACC AGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCC CGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAAC CTGGGCAGGAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGG GGCAGGGACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAAC CCCCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGA GGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCG CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCC CCCCAGGTAG	10
3.1 (LH-4C8-IgG4-ロング-CART + mCherry)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGCCGTGGTGACCCAGGAGA GCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAGACCGTGACCTGACCTG CAGGACCAGCACCGGCGCCGTGAGCATCAGGAACACGCCAAC TGGGTGCAGGAGAAGCCCCGACCACCTGTTACCCGGCCTGATCG GCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCA GCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCCGCCCTGACCATCACCG GCGCCCAGCCCCGAGGACGAGGCCATCTACTTCTGCGCCCTGCT GTACAGCAACTACTGGGTGTTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGACC GTGCTGGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGG CGGCGGAGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCCGGCAGCGAGCT GGTGAGGCCCGGCGGCCAGCGTGAAGCTGAGCTGCAAGGCCAG CGGCTACACCTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAG AGGCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAACATCTACCCCA GGAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGGC CACCTGACCGTGACACCAAGCAGCAGCAGCCCTACATGCAG CTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTTCTGCA CCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTGGGGCCAGGG CACCTGGTGACCGTGAGCGCCGAGAGCAAGTACGGCCCCCCC TGCCCCCCTGCCCGCCCCCCCCCGTGCCCGGCCCCAGCGTG TTCCTGTTCCCCCACAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAG GACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA GGACCCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCCAGA GCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA	169

【0505】

コンストラクト	核酸配列	配列番号
	CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAG GGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCA GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTG AAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAGGCTGACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGCAACGTGTTACAGTGCAGCG TGATGCACGAGGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTG GGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCT TCATCATCTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCACC AGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCC CGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAAC CTGGGCAGGAGGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGG GGCAGGGACCCCCGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAAC CCCCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGA GGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCG CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCC CCCCAGGAGAAAGAGAGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCT GCTAACATGCGGTGACGTGAGGAGAATCCTGGACCTATGGTG AGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCA TGCGCTTCAAGGTGCACATGGAGGGCTCCGTGAACGGCCACGA GTTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGG CACCAGACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTG CCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTCATGTACGGCTC CAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTG AAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGA ACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGC ACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCAT GGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCGAGGACGG CGCCCTGAAGGGCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGAC GGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAAGGCCA AGAAGCCCGTGACGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAA GTTGGACATCACCTCCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAAC AGTACGAACGCGCCGAGGGGCCGCACTCCACCGGCGGCATGG ACGAGCTGTACAAGTAG	

40

【表 3 7 - 8】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
4 (HL-4C8-CD8a-CART)	ATGGCTCTGCCCCGTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGGCT CTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAA GCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTCA AGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCTA CCCTAGAAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGC AAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTACA TGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACTT CTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGCC AGGGCACACTGGTTACCGTGTCCGCTGGAGGCGGAGGATCTGG CGGAGGTGGAAGTGGCGGAGGCGGATCTCAGGCCGTGGTCAC ACAAGAGAGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACC CTGACCTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTA CGCCAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACCACCTGTTACAGGA CTGATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCAT CACAGGTGCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTGCC CTGCTGTACTCCACTACTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCAAGC TGACAGTTCTTACAACAACCCCTGCTCCTAGACCTCCTACACCA GCTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTGCGGCCTGAGGC TTGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATACAAGAGGACTG GATTTTCGCCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTGTTGGCGGAGT GCTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTCAACCGTGGCCTTCATCATCT TTTGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTA CATGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAGCAC TACCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTC CAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAG CAGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGAA GAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGATCC TGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAGAGGGC CTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAG CGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGGCAAGGGACA CGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAAGGATACC TATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTAGATAG	320

10

20

30

40

【0 5 0 7】

50

【表 3 7 - 9】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
4.1 (HL-4C8-CD8a-CART + mCherry)	ATGGCTCTGCCC GTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAAGTTCAGCTGCAGCAGCCTGGCT CTGAACCTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAA GCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTCA AGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCTA CCCTAGAAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGC AAGGCCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTACA TGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTA CTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGCC AGGGCACACTGGTTACCGTGTCCGCTGGAGGCGGAGGATCTGG CGGAGGTGGAAGTGGCGGAGGCGGATCTCAGGCCGTGGTCAC ACAAGAGAGCGCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACC CTGACCTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGA ACTACGCCAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACCACTGTTCA CAGGACTGATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCTGGCGT GCCAGCCA GATTCAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCAT CACAGGTGCCAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTGCC CTGCTGTACTCCAACTACTGGGTGTTCCGGCGGAGGCACCAAGC TGACAGTTCTTACAACAACCCCTGCTCCTAGACCTCCTACACCA GCTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTGCGGCCTGAGGC TTGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATACAAGAGGACTG GATTCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGTTGTTGGCGGAGT GCTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGGCCTTCATCATCT TTTGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTGCACAGCGACTA CATGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACCAGAAAAGCAC TACCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCCGCCTACCGGTC CAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTCCCGCCTATCAG CAGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGGAGAA GAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGCAGAGATCC TGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATCCTCAAGAGGGC CTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCGAGGCCTACAG CGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAGGCAAGGGACA CGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCCGACCAAGGATACC TATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTAGAAGAAAGAG AGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGTAGCCTGCTGACATGTGGCGAC GTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGGTGTCCAAGGGCGAAGAGG ACAACATGGCCATCATCAAAGAATTCATGCGGTTCAAGGTGCAC ATGGAAGGCAGCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATTGAAGGCG AAGGCGAGGGCAGACCTTACGAGGGAACACAGACCGCCAAGCT GAAAGTGACCAAAGGCGGCCCTCTGCCATTTGCCTGGGACATTC TGAGCCCTCAGTTTATGTACGGCAGCAAGGCCTACGTGAAGCAC CCCGCCGATATTCCCGACTACCTGAACTGAGCTTCCCGGAGG	170

10

20

30

40

【 0 5 0 8 】

【表 3 7 - 1 0】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GCTTCAAGTGGGAGAGAGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGT CGTGACCGTGACTCAAGATAGCTCTCTGCAGGACGGCGAGTTC ATCTACAAAGTGAAGCTGCGGGGCACCAACTTTCCCTCTGATGG CCCCGTGATGCAGAAAAAGACCATGGGCTGGGAAGCCAGCAGC GAGAGAAATGTACCCTGAAGATGGCGCCCTGAAAGGCGAGATCA AGCAGCGGCTGAAGCTGAAGGATGGCGGCCACTACGACGCCGA AGTGA AAAACCACTACAAGGCCAAGAAACCCGTGCAGCTGCCA GGCGCCTACAACGTGAACATCAAGCTGGACATCACCAGCCACAA CGAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAGAGAGCCGAAGGC AGGCATAGCACAGGCGGAATGGACGAGCTGTATAAGTAG	10
5 (HL-4C8-IgG4-CART)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCG GCAGCGAGCTGGTGAGGCCCGGCCAGCGTGAAGCTGAGCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTGAAGCAGAGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAA CATCTACCCAGGAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCA AGAGCAAGGCCACCCCTGACCGTGACACCAGCAGCAGCACCCG CTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG TACTTCTGCACAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTG GGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCCGGCGGCGGCG GCAGCGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGAGCCAGGCC GTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAG ACCGTGACCCCTGACCTGCAGGACCAGCACCGGCGCCGTGAGCA TCAGGAACCTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACT GTTCAACCGGCCTGATCGGCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGC GTGCCCGCCAGGTTGAGCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCC GCCCTGACCATACCGGCGCCAGCCCGAGGACGAGGCCATCT ACTTCTGCGCCCTGCTGTACAGCACTACTGGGTGTTGCGCGG CGGCACCAAGCTGACCGTGCTGGAGAGCAAGTACGGCCCCCCC TGCCCCAGCTGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGC GTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGAC TACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCGCCTACAG GAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCCTA CCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGC AGGAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCAGG GACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCAGGAGGAAGAACCCCCAG GAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGG CCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCA AGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCACCAA GGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAGG TAG	321

【0509】

【表 3 7 - 1 1】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
5.1 (HL-4C8-IgG4-CART + mCherry)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCG GCAGCGAGCTGGTGAGGCCCGGCCAGCGTGAAGCTGAGCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTGAAGCAGAGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAA CATCTACCCCAGGAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCA AGAGCAAGGCCACCCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACC GC CTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG TACTTCTGCACCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTG GGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCCGGCGGCGGCG GCAGCGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGAGCCAGGCC GTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAG ACCGTGACCCCTGACCTGCAGGACCAGCACC GGCGCCGTGAGCA TCAGGAAC TACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACCT GTTACCCGGCCCTGATCGGCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGC GTGCCCGCCAGGTTTCAGCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCC GCCCTGACCATCACCGGCGCCCAGCCCGAGGACGAGGCCATCT ACTTCTGCGCCCTGCTGTACAGCACTACTGGGTGTT CGGCGG CGGCACCAAGCTGACCGTGCTGGAGAGCAAGTACGGCCCCCCC TGCCCCAGCTGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGC GTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCTTCATCAT CTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCACAGCGAC TACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCCCACCAGGAAGC ACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCGCCTACAG GAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCCCGCCTA CCAGCAGGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGC AGGAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGGGGCGAGG GACCCCGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAACCCCCAG GAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGGCCGAGG CCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGAGGGGCA AGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACC GCCACCAA GGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCAGG AGAAAGAGAGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCTGCTAACAT GCGGTGACGTGAGGAGAATCCTGGACCTATGGTGAGCAAGGG CGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCA AGGTGCACATGGAGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGAT CGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGGCACCCAGAC CGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCC TGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTCATGTACGGCTCCAAGGCCTA CGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCT TCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGA CGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTCCCTGCAGGAC	171

10

20

30

40

【 0 5 1 0 】

【表 3 7 - 1 2】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCC CCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGA GGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAA GGGCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCA CTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAAGGCCAAGAAGCCC GTGCAGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACAT CACCTCCCACAACGAGGACTACCCATCGTGGAACAGTACGAAC GCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGCTGT ACAAGTAG	10
6 (HL-4C8-IgG4-ロング-CART)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCCG GCAGCGAGCTGGTGAGGCCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGAGCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTGAAGCAGAGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAA CATCTACCCCAGGAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCA AGAGCAAGGCCACCCTGACCGTGACACCAAGCAGCAGCAGCCGC CTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG TACTTCTGCACCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTG GGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCCGGCGGCGGCG GCAGCGGCGGCGGCGGCGAGCGGCGGCGGCGGCGAGCCAGGCC GTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAG ACCGTGACCCCTGACCTGCAGGACCAGCACCAGCGCCGTGAGCA TCAGGAACCTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACT GTTACCCGGCCCTGATCGGCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGC GTGCCCCGCCAGGTTTCAGCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCC GCCCTGACCATCACCGGCGGCCAGCCCGAGGACGAGGCCATCT ACTTCTGCGCCCTGCTGTACAGCAACTACTGGGTGTTTCGGCGG CGGCACCAAGCTGACCGTGCTGGAGAGCAAGTACGGCCCCCCCC TGCCCCCCCCCTGCCCCGCCCCCCCCCGTGCGCGGCCCCAGCGTG TTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAG GACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA GGACCCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCCAGA GCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAG GGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCA GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTG AAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCCCCGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAGGCTGACCGTG	322 20 30 40

【 0 5 1 1】

【表 3 7 - 1 3】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCG TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTG GGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCT TCATCATCTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCACC AGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCC CGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAAC CTGGGCAGGAGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGG GGCAGGGAGCCCCGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAAC CCCCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGA GGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCG CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCC CCCCAGGTAG	10
6.1 (HL-4C8- IgG4- ロング- CART + mCherry)	ATGGCCCTGCCCCGTGACCGCCCTGCTGCTGCCCCCTGGCCCTGC TGCTGCACGCCGCCAGGCCCCAGGTGCAGCTGCAGCAGCCCCG GCAGCGAGCTGGTGAGGCCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGAGCT GCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTG GGTGAAGCAGAGGCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCAA CATCTACCCCAGGAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCA AGAGCAAGGCCACCCTGACCGTGACACCAGCAGCAGCACCGC CTACATGCAGCTGAGCAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTG TACTTCTGCACCAGGAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTACTG GGGCGAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCGCCGGCGGGCGCG GCAGCGGCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGCAGCCAGGCC GTGGTGACCCAGGAGAGCGCCCTGACCACCAGCCCCGGCGAG ACCGTGACCCTGACCTGCAGGACCAGCACCGGCGCCGTGAGCA TCAGGAACCTACGCCAACTGGGTGCAGGAGAAGCCCGACCACCT GTTACCGGCCTGATCGGCGGCACCAACAACAGGGCCCCCGGC GTGCCCGCCAGGTTTCAGCGGCAGCCTGATCGGCGACAAGGCC GCCCTGACCATCACCGGCGGCCAGCCCGAGGACGAGGCCATCT ACTTCTGCGCCCTGCTGTACAGCAACTACTGGGTGTTGCGCGG CGGCACCAAGCTGACCGTGCTGGAGAGCAAGTACGGCCCCCCC TGCCCCCCCCTGCCCCGCCCCCCCCGTGGCCGGCCCCAGCGTG TTCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAG GACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGA GGACCCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAG GTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCCAGA GCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA	172

【 0 5 1 2 】

コンストラクト	核酸配列	配列番号
	CTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGAGCAACAAG GGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCCAAGG GCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCA GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTG AAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCGTGCT GGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAGGCTGACCGTG GACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGCAACGTGTTACAGTGCAGCG TGATGCACGAGGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCT GAGCCTGAGCCTGGGCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTG GGCGGCGTGCTGGCCTGCTACAGCCTGCTGGTGACCGTGGCCT TCATCATCTTCTGGGTGAGGAGCAAGAGGAGCAGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCCAGGAGGCCCGGCCACC AGGAAGCACTACCAGCCCTACGCCCCCCCCAGGGACTTCGCCG CCTACAGGAGCAGGGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCC CGCCTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAAC CTGGGCAGGAGGGGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGGAGG GGCAGGGACCCCCGAGATGGGCGGCAAGCCCAGGAGGAAGAAC CCCCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGACAAGATGG CCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGGAGGA GGGGCAAGGGCCACGACGGCCTGTACCAGGGCCTGAGCACCG CCACCAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCC CCCCAGGAGAAAGAGAGGAAGCGGAGAGGGCAGAGGAAGTCT GCTAACATGCGGTGACGTGAGGAGAATCCTGGACCTATGGTG AGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCA TGCCTTCAAGGTGCACATGGAGGGCTCCGTGAACGGCCACGA GTTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCTACGAGGG CACCAGACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTG CCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTCATGTACGGCTC CAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTG AAGCTGTCTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGA ACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGC ACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTAATGCAGAAGAAGACCAT GGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCGAGGACGG CGCCCTGAAGGGCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGAC GGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAAGGCCA AGAAGCCCGTGACGCTGCCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAA GTTGGACATCACCTCCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAAC AGTACGAACGCGCCGAGGGGCCGCACTCCACCGGCGGCATGG ACGAGCTGTACAAGTAG	

40

【表 3 7 - 1 5】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
7 (LHx2-4C8-CD8-CART)	ATGGCTCTGCCC GTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAGAGC GCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGACCTGCA GAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACACGCCAATTGG GTGCAAGAGAAGCCCGACCACTGTTACAGGACTGATCGGCG GCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCAGATTACAGCGG ATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCATCACAGGTGCC CAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTGCCCTGCTGTACTC CAACTACTGGGTGTTGCGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTTCTT GGAGGCGGAGGATCCCAGGTTGAGCTGCAACAGCCTGGCTCTG AACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCC AGCGGCTACACCTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTCAAGCA GAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCTACCCT AGAAGCGGCACCACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGG CCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTACATGCA GCTGAGCAGCCTGACCAGCGAAGATAGCGCCGTGTAATTCTGC ACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGCCAGG GCACACTGGTTACAGTGTCTGCTGGCGGAGGCGGATCTGGTGG TGGTGGATCTGGCGGCGGTGGTTCTCAAGCCGTTGTGACCCAA GAGTCTGCCCTGACCACATCTCCCGGCGAAACCGTGACACTGA CATGCCGGACTAGCACCGGCGCTGTGTCTATCAGAAATTATGCC AACTGGGTCCAAGAAAAACCGGATCATCTGTTTACCGGCCTGAT TGGCGGAACAAACAACCGCGCTCCAGGGGTGCCCGCTAGATTT TCTGGCTCCCTGATTGGAGATAAGGCTGCCCTCACCATTACCGG CGCTCAGCCTGAAGATGAAGCTATCTATTTCTGCGCCCTGCTCT ACAGCAATTATTGGGTTTTGCGAGGCGGGACAAAGCTGACCGTG CTCGGTGGCGGCGGATCTCAAGTTCAACTCCAGCAGCCTGGAA GCGAACTTGTCAGACCAGGCGCCAGCGTGAAACTGTCTTGCAA GGCCTCCGGCTATACCTTTACCTCTTATTGGATGCATTGGGTTAA GCAAAGACCCGGCCAAGGCCTGGAATGGATCGGAAATATCTATC CAAGATCTGGGACGACGAATTACGATGGATACTTTAAGTCCAAG GCAACCCTCACCGTGGATACCTCCAGCTCCACCGCTTATATGCA GCTGTCTCTCTGACCTCCGAGGACTCCGCTGTGTATTTCTGTA CAAGATCCGGCTACGATTATCCGTTTGTCTACTGGGGACAGGGA ACCCTGGTCACCGTGTCCGCTACAACAACCCCTGCTCCTAGACC TCCTACACCAGCTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTGC GGCCTGAGGCTTGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATAC AAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTG TTGGCGGAGTGCTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTTACCGTGGCC TTCATCATCTTTTGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCCGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACC AGAAAGCACTACCAGCCATACGCTCCTCCAAGAGACTTCGCCGC	323

10

20

30

40

【 0 5 1 4】

【表 3 7 - 1 6】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	CTACCGGTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCAGATGCCCT GCCTATCAGCAGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAATCT CGGCAGACGGGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGAAGAGG CAGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGAAGAAAGAACCCT CAAGAGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCG AGGCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAG GAAAGGGACACGACGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACAGCCAC CAAGGATACCTATGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTA GATAG	
7.1 (LHx2-4C8-CD8-CART + mCherry)	ATGGCTCTGCCCCGTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGCCGTGGTCACACAAGAGAGC GCCCTGACAACAAGCCCTGGCGAGACAGTGACCCTGACCTGCA GAACATCTACAGGCGCCGTGTCCATCCGGAACCTACGCCAATTGG GTGCAAGAGAAGCCCCGACCACCTGTTACAGGACTGATCGGCG GCACCAACAATAGAGCACCTGGCGTGCCAGCCAGATTACGCGG ATCTCTGATCGGAGACAAGGCCGCACTGACCATCACAGGTGCC CAGCCTGAGGACGAGGCCATCTACTTTTGTGCCCTGCTGTACTC CAACTACTGGGTGTTTCGGCGGAGGCACCAAGCTGACAGTTCTT GGAGGCGGAGGATCCCAGGTTTCAGCTGCAACAGCCTGGCTCTG AACTCGTTAGACCTGGCGCCTCTGTGAAGCTGAGCTGTAAAGCC AGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTCAAGCA GAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCTACCCT AGAAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAGCAAGG CCACTCTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTACATGCA GCTGAGCAGCCTGACCAGCGAAGATAGCGCCGTGTACTTCTGC ACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGCCAGG GCACACTGGTTACAGTGTCTGCTGGCGGAGGCGGATCTGGTGG TGGTGGATCTGGCGGCGGTGTTCTCAAGCCGTTGTGACCCAA GAGTCTGCCCTGACCACATCTCCCGGCGAAACCGTGACACTGA CATGCCGACTAGCACCGGCGCTGTGTCTATCAGAAATTATGCC AACTGGGTCCAAGAAAAACCGGATCATCTGTTTACCGGCCTGAT TGCGGGAACAAACAACCGCGCTCCAGGGGTGCCCGCTAGATTT TCTGGCTCCCTGATTGGAGATAAGGCTGCCCTCACCATTACCGG CGCTCAGCCTGAAGATGAAGCTATCTATTTCTGCGCCCTGCTCT ACAGCAATTATTGGGTTTTTCGGAGGCGGGACAAAGCTGACCGTG CTCGGTGGCGGCGGATCTCAAGTTCAACTCCAGCAGCCTGGAA GCGAACTTGTGAGACCAGGCGCCAGCGTGAAACTGTCTTGCAA GGCCTCCGGCTATACCTTTACCTCTTATTGGATGCATTGGGTTAA GCAAAGACCCGGCCAAGGCCTGGAATGGATCGGAAATATCTATC CAAGATCTGGGACGACGAATTACGATGGATACTTTAAGTCCAAG GCAACCCTCACCGTGGATACCTCCAGCTCCACCGCTTATATGCA	173

【 0 5 1 5 】

10

20

30

40

50

表 8A
CAR をコードするヌクレオチド配列

コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GCTGTCCTCTCTGACCTCCGAGGACTCCGCTGTGTATTTCTGTA CAAGATCCGGCTACGATTATCCGTTTGTCTACTGGGGACAGGGA ACCCTGGTCACCGTGTCCGCTACAACAACCCCTGCTCCTAGACC TCCTACACCAGCTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTGC GGCCTGAGGCTTGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATAC AAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTTG TTGGCGGAGTGCTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTTACCGTGGCC TTCATCATCTTTTGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCCGGCTGCTGCA CAGCGACTACATGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTACC AGAAAGCACTACCAGCCATACGCTCCTCCAAGAGACTTCGCCGC CTACCGGTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCAGATGCCCCCT GCCTATCAGCAGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAATCT CGGCAGACGGGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGAGAAGAGG CAGGGACCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGAAGAAAGAACCCT CAAGAGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCCG AGGCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGAG GAAAGGGACACGACGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACAGCCAC CAAGGATACCTATGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCTA GAAGAAAAAGAGGCAGCGGCGAAGGCAGAGGATCTCTGCTGAC ATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGGTGTCCAAG GGCGAAGAGGACAACATGGCCATCATCAAAGAATTCATGCGGTT CAAGGTGCACATGGAAGGCAGCGTGAACGGCCACGAGTTCGAG ATTGAAGGCGAAGGCGAGGGCAGACCATACGAGGGAACACAGA CCGCCAAGCTGAAAGTGACCAAAGGCGGCCCTCTGCCATTTGC CTGGGACATTCTGAGCCCTCAGTTTATGTACGGCAGCAAGGCCT ACGTGAAGCACCCCGCCGATATTCCCGACTACCTGAAACTGAGC TTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGAGAGTGATGAACTTCGAGG ACGGCGGCGTCGTGACAGTGACACAAGATAGCAGTCTGCAGGA CGGCGAGTTCATCTACAAAGTGAAGCTGCGGGGACCAACTTTC CCTCTGATGGCCCCGTGATGCAGAAAAAGACCATGGGCTGGGA AGCCAGCAGCGAGAGAATGTACCCAGAAGATGGCGCCCTGAAA GGCGAGATCAAGCAGCGGCTGAAGCTGAAGGATGGCGGCCACT ATGATGCCGAAGTGA AAACCACTACAAGGCCAAGAAACCCGTG CAGCTGCCAGGCGCCTACAACGTGAACATCAAGCTGGACATCA CCAGCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAGAG AGCCGAAGGCAGGCATAGCACAGGCGGAATGGACGAGCTGTAT AAGTAG	

40

50

【表 3 7 - 1 8】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
8 (HLx2-4C8-CD8-CART)	ATGGCTCTGCCC GTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGTCCAGCTGCAGCAGCCAGGA TCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCCGTGAAGCTGAGCTGTAA AGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTC AAGCAGAGGCCTGGACAGGGA CTGAGTGGATCGGCAACATCT ACCCTAGAAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAG CAAGGCCACACTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTAC ATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACT TCTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGC CAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTGCTGGTGGCGGAGGCTCTC AGGCCGTGGTTACACAAGAAAGCGCCCTGACAACAAGCCCTGG CGAGACAGTGACCCTGACCTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTG TCCATCCGGAAC TACGCCAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACC ACCTGTTACAGGACTGATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCT GGCGTGCCAGCCAGATT CAGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGG CCGCTCTGACAATCACTGGCGCCCAGCCTGAGGACGAGGCCAT CTATTTTTGCGCCCTGCTGTACTCCA ACTACTGGGTGTTGCGCG GAGGCACCAAGCTGACAGTTCTTGAGGCGGAGGATCTGGCGG CGGAGGAAGCGGAGGCGGCGGTTCTCAAGTTCAGCTGCAACAA CCTGGCAGCGAACTTGTCAGACCAGGGGCCAGCGTGAAACTGT CTTGCAAGGCCTCCGGCTATACCTTTACCTCTTATTGGATGCATT GGGTTAAGCAAAGACCCGGCCAAGGCCTGGAATGGATCGGAAA TATCTATCCAAGATCTGGGACGACGAATTACGATGGATACTTTAA GTCCAAGGCTACCCTCACC GTGGATACCTCCAGCTCCACCGCTT ATATGCAACTGAGCAGCCTGACCTCCGAGGATTCCGCTGTGTAT TTCTGCACAAGATCCGGCTACGATTATCCGTTTGTCTACTGGGG ACAGGGAACCCTGGTCACTGTTAGTGTCTGGCGGTGGTGGATCT CAGGCTGTCTGACTCAAGAGTCTGCCCTGACCACCTCTCCAG GCGAAACCGTGACACTGACATGCCGGACAAGCACCGGCGCTGT GTCTATCAGAAATTATGCCAACTGGGTCCAAGAAAAACCGGATC ATCTGTTTACCGGCCTGATTGGCGGAACAAACAACCGCGCTCCA GGGGTGCCCGCTAGATTTTCTGGCTCCCTGATTGGAGATAAGGC AGCCCTCACCATCACCGGGGCTCAGCCTGAAGATGAAGCTATCT ACTTCTGTGCCCTGCTCTACAGCAATTATTGGGTTTTCGGAGGC GGGACAAAGCTGACCGTGCTGACAACAACCCCTGCTCCTAGAC CTCCTACACCAGCTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTG CGGCCTGAGGCTTGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATA CAAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTT GTTGGCGGAGTGTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGG CCTTCATCATCTTTTGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTG CACAGCGACTACATGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTA CCAGAAAGCACTACCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCC	324

10

20

30

40

【 0 5 1 7 】

【表 3 7 - 1 9】

表 8A CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
	GCCTACCGGTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTC CTGCCTATCAGCAGGGGCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAA CCTGGGGAGAAGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGA GGCAGAGATCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATC CTCAAGAGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCC GAGGCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGA GGCAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCT AGA	10
8.1 (HLx2-4C8-CD8-CART + mCherry)	ATGGCTCTGCCCCGTTACAGCTCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCT TCTGCATGCTGCTAGACCTCAGGTCCAGCTGCAGCAGCCAGGA TCTGAACTCGTTAGACCTGGCGCCTCCGTGAAGCTGAGCTGTAA AGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCTACTGGATGCACTGGGTC AAGCAGAGGCCTGGACAGGGACTCGAGTGGATCGGCAACATCT ACCCTAGAAGCGGCACCACCAACTACGACGGCTACTTCAAGAG CAAGGCCACACTGACCGTGGACACCAGCAGCAGCACAGCCTAC ATGCAGCTGTCTAGCCTGACCAGCGAGGACAGCGCCGTGTACT TCTGTACCAGAAGCGGCTACGACTACCCCTTCGTGTATTGGGGC CAGGGCACACTGGTTACAGTGTCTGCTGGTGGCGGAGGCTCTC AGGCCGTGGTTACACAAGAAAGCGCCCTGACAACAAGCCCTGG CGAGACAGTGACCCTGACCTGCAGAACATCTACAGGCGCCGTG TCCATCCGGAACCTACGCCAATTGGGTGCAAGAGAAGCCCGACC ACCTGTTACAGGACTGATCGGCGGCACCAACAATAGAGCACCT GGCGTGCCAGCCAGATTACGCGGATCTCTGATCGGAGACAAGG CCGCTCTGACAATCACTGGCGCCCAGCCTGAGGACGAGGCCAT CTATTTTTCGCGCCCTGCTGTACTCCAATACTGGGTGTTTCGGCG GAGGCACCAAGCTGACAGTTCCTTGAGGCGGAGGATCTGGCGG CGGAGGAAGCGGAGGCGGCTTCTCAAGTTCAGCTGCAACAA CCTGGCAGCGAACTTGTGACAGCAGGGGCCAGCGTGAACTGT CTTGCAAGGCCTCCGGCTATACCTTTACCTCTTATTGGATGCATT GGGTTAAGCAAAGACCCGGCCAAGGCCTGGAATGGATCGGAAA TATCTATCCAAGATCTGGGACGACGAATTACGATGGATACTTTAA GTCCAAGGCTACCCTCACCCTGGATACCTCCAGCTCCACCGCTT ATATGCAACTGAGCAGCCTGACCTCCGAGGATTCCGCTGTGTAT TTCTGCACAAGATCCGGCTACGATTATCCGTTTGTCTACTGGGG ACAGGGAACCCTGGTCACTGTTAGTGCTGGCGGTGGTGGATCT CAGGCTGTCGTGACTCAAGAGTCTGCCCTGACCACCTCTCCAG GCGAAACCGTGACACTGACATGCCGGACAAGCACCGGCGCTGT GTCTATCAGAAATTATGCCAACTGGGTCCAAGAAAAACCGGATC ATCTGTTTACCGGCCTGATTGGCGGAACAAACAACCGCGCTCCA GGGGTGCCCGCTAGATTTTCTGGCTCCCTGATTGGAGATAAGGC	174

【 0 5 1 8 】

表 8A
CAR をコードするヌクレオチド配列

コンストラクト	核酸配列	配列番号
	AGCCCTCACCATCACCGGGGCTCAGCCTGAAGATGAAGCTATCT ACTTCTGTGCCCTGCTCTACAGCAATTATTGGGTTTTCGGAGGC GGGACAAAGCTGACCGTGCTGACAACAACCCCTGCTCCTAGAC CTCCTACACCAGCTCCTACAATCGCCTCTCAACCTCTGTCTCTG CGGCCTGAGGCTTGTAGACCAGCTGCTGGCGGAGCCGTGCATA CAAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGACTTCTGGGTGCTCGTGGTT GTTGGCGGAGTGCTGGCCTGTTACTCTCTGCTGGTCACCGTGG CCTTCATCATCTTTTGGGTCCGAAGCAAGCGGAGCAGACTGCTG CACAGCGACTACATGAACATGACCCCTAGACGGCCCGGACCTA CCAGAAAGCACTACCAGCCTTACGCTCCTCCTAGAGACTTCGCC GCCTACCGGTCCAGAGTGAAGTTCAGCAGATCCGCCGATGCTC CTGCCTATCAGCAGGGGCAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAA CCTGGGGAGAAGAGAAGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGA GGCAGAGATCCTGAGATGGGCGGCAAGCCCAGACGGAAGAATC CTCAAGAGGGCCTGTATAATGAGCTGCAGAAAGACAAGATGGCC GAGGCCTACAGCGAGATCGGAATGAAGGGCGAGCGCAGAAGA GGCAAGGGACACGATGGACTGTACCAGGGCCTGAGCACCGCCA CCAAGGATACCTATGATGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCACCT AGAAGAAAGAGAGGCTCTGGCGAAGGCAGAGGCTCCCTGCTTA CATGTGGCGACGTGGAAGAGAACCCCGGACCAATGGTGTCCAA GGGCGAAGAGGACAACATGGCCATCATCAAAGAATTCATGCGGT TCAAGGTGCACATGGAAGGCAGCGTGAACGGCCACGAGTTTGA GATCGAAGGCGAAGGCGAGGGCAGACCTTATGAGGGAACACAG ACCGCCAAGCTGAAAGTGACCAAAGGCGGCCCTCTGCCATTTG CCTGGGACATTCTGAGCCCTCAGTTTATGTACGGCAGCAAGGCC TACGTGAAGCACCCCGCCGATATTCCCGACTACCTGAAACTGAG CTTCCCCGAGGGCTTCAAGTGGGAGAGAGTGATGAACTTCGAG GACGGCGGCGTCTGTACAGTGACACAAGATAGCTCACTGCAGG ACGGCGAGTTCATCTACAAAGTGAAGCTGCGGGGACCAACTTT CCCTCTGATGGCCCCGTGATGCAGAAAAGACCATGGGCTGGG AAGCCAGCAGCGAGAGAATGTACCCAGAAGATGGCGCCCTGAA AGGCGAGATCAAGCAGCGGCTGAAGCTGAAGGATGGCGGCCAC TACGACGCCGAAGTGAAAACCACTACAAGGCCAAGAAACCCGT GCAGCTGCCAGGCGCCTACAACGTGAACATCAAGCTGGACATC ACCAGCCACAACGAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAGA GAGCCGAAGGCAGGCATAGCACAGGCGGAATGGACGAGCTGTA TAAGTAG	

【 0 5 1 9 】

【表 3 8 - 1】

表 8B CAR アミノ酸配列		配列 番号
コンストラ クト	アミノ酸配列	
1 (LH-4C8- CD8a- CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPQGQLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLLTVSATTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLLVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKH QPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRGS G	157
1.1 (mCherry を有する LH-4C8- CD8a- CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPQGQLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLLTVSATTTPAPRP PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLLVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKH QPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRGS GRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMVSKGEEDNMAIIEFMRFK VHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDI LSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVV TVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEASSER MYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYN VNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK	325
2 (LH-4C8- IgG4- CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPQGQLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLLTVSAESKYGPPC PSCPFWVLLVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMT TPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPRRKRGS	158

【 0 5 2 0 】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 2】

表 8B CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
2.1 (LH-4C8-IgG4-CART + mCherry)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLTVTVSAESKYGPPC PSCPFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNM TPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPRRKRGSGRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMVSKGEE DNMAIIEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPEYEGTQTAKLK VTKGGPLPFAWDILSPQFMYSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKW ERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSPDGPVMQK KTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKA KKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDEL YK	326
3 (LH-4C8-IgG4-ロング-CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLTVTVSAESKYGPPC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKMFVWL VVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTTPRRPGPTR KHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKR GSG	159

【0 5 2 1】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 3】

表 8B CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
3.1 (LH-4C8-IgG4-ロング-CART + mCherry)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYM QLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLLTVSAESKYGPCC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKMFVWL VVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKR GSGRKRGSSEGRGSLTTCGDVEENPGPMVSKGEEDNMAIIEFEM RFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFA WDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDG GVVTVTQDSSLQDGEFIYVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEAS SERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPG AYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK	327
4 (HL-4C8-CD8a-CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLLV TVSAGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTS TGAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGD KAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLTTTPAPRPP TPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG VLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQ PYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRGS	160

【 0 5 2 2 】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 4】

表 8B CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
4.1 (HL-4C8-CD8a-CART + mCherry)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLV TVSAGGGGSGGGGSGGGGSSQAVVTQESALTTSPGETVTLTCTRS TGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGD KAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLTTTPAPRPP TPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVG VLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKH PYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG MKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRGS KRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMVSKGEEDNMAIKEFMRFKVH MEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTGGPLPFAWDILS PQFMYGSKAYVKHPADIPDYKLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVTV TQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSPDGPVMQKKTMGWEASSERMY PEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNI KLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK	328
5 (HL-4C8-IgG4-CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLV TVSAGGGGSGGGGSGGGGSSQAVVTQESALTTSPGETVTLTCTRS TGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGD KAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLESKYGPPC PSCPFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMT TPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDLGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPRRKRGS	161

【 0 5 2 3 】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 5】

表 8B CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
5.1 (HL-4C8-IgG4-CART + mCherry)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLV TVSAGGGGSGGGGSGGGGSSQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTS TGAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGD KAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLESKYGPPC PSCPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMT TPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPRRKRGSGRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMVSKGEE DNMAIIEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPEYEGTQTAKLK VTKGGPLPFAWDILSPQFMYSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKW ERV MNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSPDGPVMQK KTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKA KKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDEL YK	329
6 (HL-4C8-IgG4-ロング-CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGTLV TVSAGGGGSGGGGSGGGGSSQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTS TGAVSIRNYANWVQEKPDLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGD KAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLESKYGPPC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKMFVWL VVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTTPRRPGPTR KHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKR GSG	162

【 0 5 2 4】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 6】

表 8B CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
6.1 (HL-4C8- IgG4- ロング- CART + mCherry)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGT TVSAGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTS TGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGD KAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLESKYGPPC PPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLKMFVWL VVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTR KHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY SEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKR GSGRKRGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMVSKGEEDNMAIIEFM RFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTGGPLPFA WDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYKLKSFPEGFKWERVMNFEDG GVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEAS SERMPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPG AYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK	330
7 (LHx2-4C8-CD8- CART)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTST GAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSQVQL QQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWI GNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVY FCTRSGYDYPFVYWGQGT TVSAGGGGSGGGGSGGGGSGQAVV TQESALTTSPGETVTLTCRTSTGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLI GGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNY WVFGGGTKLTVLGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGY TFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTV DTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVS ATTPAPRPPTPAPTASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD FWVLVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRR PGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PPRKRGS	163

【 0 5 2 5 】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 7】

表 8B CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
7.1 (LHx2-4C8-CD8-CART + mCherry)	MALPVTALLPLALLLHAARPQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTSTGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSYDYPFVYWGQGLTVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTSTGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSYDYPFVYWGQGLTVTVSATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRGSGRKRGSGEGRSLLTCGDVEENPGPMVSKGEEDNMAIKEFMRFKVHMEGVSNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTGGPLPFAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYKLKSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK	331
8 (HLx2-4C8-CD8-CART)	MALPVTALLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSYDYPFVYWGQGLTVTVSAGGGGSGQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTSTGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSYDYPFVYWGQGLTVTVSAGGGGSGQAVVTQESALTTSPGETVTLTCRTSTGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRRKRGS	164

【 0 5 2 6 】

10

20

30

40

50

【表 3 8 - 8】

表 8B CAR アミノ酸配列		配列 番号
コンストラ クト	アミノ酸配列	
8.1 (HLx2- 4C8-CD8- CART + mCherry)	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKAS GYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKAT LTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGT TVSAGGGGSQAVVTQESALTTSPGETVTLTCTRTSTGAVSIRNYAN WVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITGAQP EDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGL EWIGNIYPRSGTTNYDGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYFCTRSGYDYPFVYWGQGT LTVSAGGGGSQAVVTQESALTT SPGETVTLTCTRTSTGAVSIRNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNNRAP GVPARFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGT KLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLD FACDFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMN TPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNEL QKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM QALPPRRKRGSGRKRGSGEGRGSLLTCGDVEENPGPMVSKGEE DNMAIIEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLK VTKGGPLPFAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKW ERV MNFEDGGVTVTQDSSLQDGEFIYKVKL RGTNFP SDGPVMQK KTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLDGGHYDAEVKTTYKA KKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDEL YK	332

10

20

30

【0527】

7.2.1.2 形質導入および拡大増殖

レンチウイルスを、pGO-4C8、pVSVG、およびpPAX2でトランスフェクトしたHEK293T細胞中で、PEIを使用して一晚生産した。24時間後、レンチウイルスの上清を回収した。健康なドナーのPBMCを、Lymphoprep比重遠心分離を使用して単離して、続いてプラスチック接着を用いて接着細胞を除去した。非接着性のPBMCを、10%FBS、50μMの2-メルカプトエタノール、および20ng/mlのrIL-2を含むRPMI-1640Dutch改変中で培養し、ヒトT活性化剤CD3/CD28 Dynabeadsを使用して活性化した。活性化した後、T細胞を、24時間にわたりウイルス上清で2回形質導入した。形質導入されたCAR T細胞を、細胞0.5×10⁶個/mL～細胞1×10⁶個/mLの密度で、研究に使用されるまで培養培地中で拡大増殖した。

40

【0528】

7.2.1.3 細胞傷害性アッセイ

HaCaT WTおよびCOSMC KO細胞を、96-ウェルプレート中にウェル当たり細胞20,000個の密度で播種し、一晚接着させた。2日後、CAR T細胞を、5:1または3:1のエフェクター-標的細胞の比率で添加し、6時間インキュベートした。CAR T細胞と共培養された標的細胞の細胞傷害性を、乳酸デヒドロゲナーゼ細胞傷害性アッセイ(abcam)によって、製造元の説明書に従って評価した。100%細胞死対照のために、PBS中の1% tweenを、全ての細胞の完全な溶解物のために使

50

用した。CAR T細胞によるIFN- γ 生産を評価するために、上清を共培養物から回収し、ELISAを製造元の説明書（abcam）に従って実行した。

【0529】

7.2.2. 結果

4C8 CAR T細胞（コンストラクト1）が、COSMC KO HaCaT細胞に対して、その野生型カウンターパートよりおよそ2～3倍高い細胞傷害性を発揮したが、HaCaT WT共培養物で約45%の細胞傷害性も観察されたことが見出された（図3A）。一貫して、WT HaCaT細胞と比べて、COSMC KO HaCaT細胞との共培養物におけるIFN- γ のより一層多くの生産が見出されたことから、COSMC KO細胞によるCAR T細胞のより一層強い活性化が示される（図3B）。

10

【0530】

トランスフェクトされていないT細胞は、HaCaT WT細胞またはCOSMC KO HaCaT細胞のいずれに対しても著しい細胞傷害性を示さなかった（図4）。加えて、VHのN末端側にVLが配置された場合、CAR-Tは、より機能的であったことが観察された（図4）。

【0531】

7.3 実施例3：10H4ベースのCAR

10H4のVHおよびVLドメインを有するキメラ抗原受容体（CAR）を設計した。

【0532】

7.3.1. 材料および方法

7.3.1.1 ベクター設計

10H4のVHおよびVLドメインを有するscFvを有するCARコンストラクトを設計した。VHおよびVLを、1つの長いリンカー（GGGGG）₃（配列番号184）と一緒に取り付けた（図6を参照）。VHおよびVLを、CD8aヒンジ、それに続いて第2世代CAR-T（CD28細胞内シグナルドメイン、およびCD3-ゼータ細胞内鎖）に取り付けた。scFvのN末端を、CD8aシグナル配列に取り付けた。10H4 CAR-Tを、VirapowerレンチウイルスベクターpLENTI6.3-V5-DEST（Invitrogen）にサブクローニングした。

【0533】

10H4 CARをコードするヌクレオチド配列は、表9Aに示される。10H4 CARのアミノ酸配列は、表9Bに示される。

30

【0534】

40

50

【表 3 9】

表 9A 10H4 CAR をコードするヌクレオチド配列		
コンストラクト	核酸配列	配列番号
LH-10H4- CD8a- CART	ATGGCTCTGCCTGTCACCGCGCTGCTCCTTCCCTTAGCCCTGCT GCTGCACGCTGCTCGTCCAGCGCAGGTCCTGACTCAGACACCC GCGTCCGTGTCCGCAGCGGTCTGGGGGCACTGTGACCATCAACT GCCAGGCAAGCCAGTCCGTGTACAATAACAACCAGCTGAGTTG GTACCAACAGAAGCCTGGGCAGCCCCCTAAAGCAGCTGATTTAC AAGGCTTCCACCCTTGCTTCCGGCGTCCCCTCTAGGTTTAAGGG CTCTGGGAGCGGTTCCAGTTCACCCTGACCATCAGCGATCTG GAATGCGATGACGCCGCCACCTACTTCTGTGCCGGCGGCTACA AGGGGGACATCCACCCCTTCGGTGGCGGTACTGAGGTGGTAGT CAAGGGAGACCCGGTGGGCGGTGGCGGCTCCGGAGGCGGTG GTTCTGGTGGAGGAGGCAGCCAGTGTCAGTCTCTGGAGGAGAG CGGGGGCCGCCTGGTGACCCCCGGTACTCCGCTCACTCTGAC CTGCACTGCATCTGGCTTCACCATTAACACGTACCACATGGGAT GGTTCCGCCAGGCCCTGGCAAGGGCCTCCAGTATATTGGCAT CGTGAGTCATGACGTGGGCACCTACTACGCTACCTGGGCAAAA GGACGCTTCACGATCTCCAAGACCTCCTCGACCACAGTGGACC TGCGCATGCCAGCCCAACGACCGAGGACACCGCCACTTACAT CTGCGCCCGTGGGCGGGGCTATTGGACCTTCAACCTGTGGGGC CAGGGCACCCCTGGTGACAGTTTCCTCGGGACAGCCAAAGACAA CAACCCCTGCTCCTAGACCTCCTACACCAGCTCCTACAATCGCC TCTCAACCTCTGTCTCTGCGGCCTGAGGCTTGTAAGCAGCTGC TGGCGGAGCCGTGCATACAAGAGGACTGGATTTGCGCTGCGAC TTCTGGGTCTTGGTGGTGGTGGGGGAGTGCTGGCGTGTTACT CGTTGCTGGTCACCGTGGCGTTCATCATCTTCTGGGTACGCAG CAAGCGCAGCCGTCTCCTGCACTCCGACTACATGAATATGACAC CTAGACGGCCCCGGCCCTACCCGGAAGCACTACCAGCCCTATGC TCCCCCGAGGGACTTTGCTGCGTACCGCTCCCGCGTGAAATTTT CACGCTCCGCGGACGCTCCGGCCTATCAGCAGGGTCAGAACCA GCTTTACAACGAGCTCAACCTGGGCCGACGTGAAGAGTACGAT GTGCTGGACAAGCGCCGGGGACGCGATCCAGAGATGGGCGGC AAGCCCAGACGCAAGAACCCTCAGGAGGGCTTGTACAACGAGC TGCAGAAGGACAAAATGGCCGAGGCCTACTCCGAGATCGGTAT GAAGGGGGAGCGGCGCCGCGGCAAAGGCCACGACGGCCTCTA TCAGGGGCTTTCGACCGCCACTAAGGACACCTACGACGCACTT CATATGCAAGCCCTGCCCCCGCGCTAG	260

10

20

30

40

【 0 5 3 5 】

50

【表 4 0】

表 9B 10H4 CAR アミノ酸配列		
コンストラクト	アミノ酸配列	配列番号
LH-10H4-CD8a-CART	MALPVTALLLPLALLLHAARPAQVLTQTPASVSAAVGGTVTINCQAS QSVYNNNQLSWYQQKPGQPLKQLIYKASTLASGVPSRFGSGSG SQFTLTISDLECDDAATYFCAGGYKGDIHPFGGGTEVVVKGDVPG GGGSGGGGSGGGGSGCQSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTI NTYHMGWFRQAPGKGLQYIGIVSHDVGTYATWAKGRFTISKTS TTVDLRMPSPPTTEDTATYICARGPGYWTFNLWGQGTTLTVSSGQP KTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD FWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRR PGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYN ELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDK MAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PRRKRGSG	261

10

【0536】

20

7. 4 実施例 4：ヒト化抗体および抗原結合フラグメント

7. 4. 1. ヒト化抗体および抗原結合フラグメントの設計

マウス抗体 4C8 を、標準的な CDR グラフティング技術を使用してヒト化した。重鎖の場合、4つのテンプレート、IGHV1-46*01、IGHV1-69*01、IGHV7-4-1*02、および IGHV1-18*01 を、連続的に、アグレッシブなレベルのヒト化、すなわちヒトアクセプター生殖系列に対して同一性を含有する CDR グラフト化バージョンを生成するために採用した。同様に軽鎖の場合、3つのテンプレート、IGLV7-46*01、IGLV7-43*01、および IGLV8-61*01 を、連続的に、アグレッシブなレベルのヒト化を含有する CDR グラフト化バージョンを生成するために採用した。

30

【0537】

各生殖系列の場合、3つのヒト化されたバージョン：保存的な「A」配列、それほど保存的ではない「B」配列、および「アグレッシブな」「C」配列を作製した（表 4A～4G を参照）。各生殖系列につき、各位置において最も一般的なアミノ酸残基を反映する A、B および C 配列の 3 つ全てのコンセンサス配列も作製した。

【0538】

表 10 は、4C8 の場合のヒト化バージョンとその対応するヒト生殖系列との間の VH 遺伝子にわたる配列における差の詳細を提供する。表 11 は、4C8 の場合のヒト化バージョンとその対応するヒト生殖系列との間の VL 遺伝子にわたる配列における差の詳細を提供する。

40

【0539】

50

【表 4 1】

表 10. 4C8 のヒト化バージョンとその対応するヒト生殖系列との間の VH 遺伝子にわたる配列の差								
Kabat の定義	FWR 1	CDR 1	FWR 2	CDR 2	FWR 3	CDR 3		
ヒト化 VH バージョン	ヒト生殖系列とのミスマッチ						合計	
VH 残基数	30	5	14	17	32	0	98	%同一性
IGHV146*01 バージョン A	0	1	1	11	6	NR	19	80.6% (79/98)
IGHV146*01 バージョン B	0	1	0	11	3	NR	15	84.7% (83/98)
IGHV146*01 バージョン C	0	1	0	8	3	NR	12	87.8% (86/98)
IGHV-69*01 バージョン A	2	3	1	10	6	NR	22	77.6% (76/98)
IGHV-69*01 バージョン B	1	3	0	9	3	NR	16	83.7 % (82/98)
IGHV-69*01 バージョン C	1	2	0	7	2	NR	12	87.8% (86/98)
IGHV7-4-1*02 バージョン A	0	2	1	13	5	NR	21	78.6% (77/98)
IGHV7-4-1*02 バージョン B	0	2	0	12	2	NR	18	81.6% (80/98)
IGHV7-4-1*02 バージョン C	0	2	0	9	2	NR	15	84.7% (83/98)
IGHV1-18*01 バージョン A	0	3	1	12	5	NR	21	78.6% (77/98)
IGHV1-18*01 バージョン B	0	3	0	11	2	NR	16	83.7% (82/98)
IGHV1-18*01 バージョン C	0	2	0	9	2	NR	13	86.7% (85/98)

【 0 5 4 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 2】

表 11. 4C8 のヒト化バージョンとその対応するヒト生殖系列との間の VL 遺伝子にわたる配列の差								
Kabat の定義	FWR 1	CDR 1	FWR 2	CDR 2	FWR 3	CDR 3		
ヒト化 VL バージョン	ヒト生殖系列とのミスマッチ						合計	
VL 残基数	22	14	15	7	32	7	97	%同一性
IGLV7-46*01 バージョン A	0	8	5	5	2	4	24	75.3% (73/97)
IGLV7-46*01 バージョン B	0	7	3	5	0	4	19	80.4% (78/97)
IGLV7-46*01 バージョン C	0	4	3	5	0	4	16	83.5% (81/97)
IGLV7-43*01 バージョン A	1	7	5	5	2	5	25	74.2% (72/97)
IGLV7-43*01 バージョン B	0	6	3	5	0	5	19	80.4% (78/97)
IGLV7-43*01 バージョン C	0	4	3	5	0	5	17	82.5% (80/97)
IGLV8-61*01 バージョン A	1	9	5	4	3	6	28	71.1% (69/97)
IGLV8-61*01 バージョン B	0	8	3	4	1	6	22	77.7% (75/97)
IGLV8-61*01 バージョン C	0	5	3	2	1	6	17	82.5% (80/97)

【0 5 4 1】

これらのヒト化テンプレートは、組み立てられ、2つの相における最適な生物物理学的および機能特性に関してアッセイされる。第1の相では、保存的な「A」設計の最大12対が構築され、CD44v6グリコペプチドへの結合に関してアッセイされる。「A」設計に基づいて最も適切な組合せを選択した後、保存的な「A」設計は、それほど保存的ではない「B」設計、および最後に最も低く保存的な「C」設計で繰り返して置き換えられる。表12は、生成および評価された8つの選択されたヒト化候補を記載する。

【0 5 4 2】

10

20

30

40

50

【表 4 3】

表 12. 選択されたヒト化 4C8 候補。		
分子番号	分子	
	HC	LC
1	4C8-HV1-18-A	LV7-43-A
2	4C8-HV1-46-A	LV7-43-A
3	C8-HV1-69-A	LV7-43-A
4	4C8-HV7-4-1-A	LV7-43-A
5	4C8-HV1-18-A	LV7-46-A
6	4C8-HV1-46-A	LV7-46-A
7	4C8-HV1-69-A	LV7-46-A
8	4C8-HV7-4-1-A	LV7-46-A
4C8-cAb	マウス抗体	マウス抗体

10

【0543】

7.4.2. ヒト化 4C8 結合特異性の特徴付け

ヒト化 4C8 候補 1～8（表 12 を参照）の結合特異性の特徴付けるために、グリコシル化されていない、および Tn-グリコシル化 CD44 に対する ELISA を実行した（セクション 7.1.2.4 を参照）。Tn 抗原との交差反応性を評価するために、Tn-グリコシル化 MUC1 に対する ELISA も実行した。ELISA の環境で、8 つのヒト化 4C8 候補が、そのグリコシル化されていないカウンターパートと比較して、Tn-グリコシル化 CD44 とより強く反応することが見出された（図 8A～8H）。MUC1 と反応するヒト化 4C8 候補はなかった（図 8A～8H）。マウス 4C8 を対照として使用した（図 8I）。

20

【0544】

CD44v6 グリコペプチドおよび MUC1 グリコペプチドに対するヒト化 4C8 候補 1～8 の親和性を、Octet システムを使用して、バイオレイヤー干渉法（BLI）を使用して測定した。ペプチドは、ビオチン（リガンド）によってバイオセンサー上に固定されており、抗体は溶液中にある（分析物）。候補 8（4C8-HV7-4-1-A / LV7-46-A）が元のヒト化抗体と最も類似しており、これをさらなる試験に選択した。表 13 は、グリコペプチドに対する注目のヒト化 4C8 候補の解離定数（ K_D ）を要約する。

30

【0545】

40

50

【表 4 4】

表 13. Octet によって決定した場合のヒト化 4C8 候補の親和性(解離定数(K _D))。					
分子番号	HC / LC	ヒト化 %同一性		CD44v6-Tn(S+T)	MUC1-Tn
		HC	LC		
1	4C8-HV1-18-A/ LV7-43-A	78.6	74.2	191 nM	ND
2	4C8-HV1-46-A/ LV7-43-A	80.6	74.2	194 nM	ND
3	4C8-HV1-69-A/ LV7-43-A	77.6	74.2	161 nM	ND
4	4C8-HV7-4-1-A/ LV7-43-A	78.6	74.2	158 nM	ND
5	4C8-HV1-18-A/ LV7-46-A	78.6	75.3	177 nM	ND
6	4C8-HV1-46-A/ LV7-46-A	80.6	75.3	169 nM	ND
7	4C8-HV1-69-A/ LV7-46-A	77.6	75.3	183 nM	ND
8	4C8-HV7-4-1-A/ LV7-46-A	78.6	75.3	169 nM	ND
4C8-cAb	4C8-cAb (マウス)	N/A	N/A	163 nM	ND
「ND」(決定されず)は、親和性が検出限界未満であったことを示す。					

10

【0546】

より天然のコンフォメーションの状態でのヒト化 4C8 の特異性をさらに評価するために、4C8 ヒト化候補の細胞結合 (A549 COSMC-KO 細胞) をフローサイトメトリーによって測定した (セクション 7.1.2.5 を参照)。ヒト化抗体候補を、以下の濃度: 5、3.33、1.11、0.37、0.12、0.04、0.013、0.004 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で適量を決め、抗ヒト二次抗体を使用して分析した。親マウス 4C8 (cAb) のように、候補 (1) 4C8-HV1-18-A/LV7-43-A、(4) 4C8-HV7-4-1-A/LV7-43-A、(5) 4C8-HV1-18-A/LV7-46-A および (8) 4C8-HV7-4-1-A/LV7-46-A は、0.013 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で結合を示した (図 9A~9I)。

20

【0547】

8. 具体的な実施形態、参考文献の引用

様々な具体的な実施形態を例示し記載したが、本開示の本質および範囲から逸脱することなく様々な変更をなすことができることが理解されると予想される。本開示は、群 I および II の、以下に記載の番号付けされた実施形態によって例示される。

30

8.1 具体的な実施形態、群 I

1. 配列番号 165 のアミノ酸 5 位のスレオニンおよび配列番号 165 のアミノ酸 12 位のセリン上で GalNAc でグリコシル化された CD44v6 ペプチド GYRQTPKE DSHSTTGTA A A (配列番号 165) に特異的に結合する、抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメント (「CD44v6 グリコペプチド」)。

2. CD44v6 グリコペプチドへの結合に関して、配列番号 1 の重鎖可変 (VH) 配列および配列番号 2 の軽鎖可変 (VL) 配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態 1 に記載の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメント。

40

3. CD44v6 グリコペプチドへの結合に関して、配列番号 23 の重鎖可変 (VH) 配列および配列番号 24 の軽鎖可変 (VL) 配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態 1 に記載の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメント。

4. CD44v6 グリコペプチドへの結合に関して、配列番号 45 の重鎖可変 (VH) 配列および配列番号 46 の軽鎖可変 (VL) 配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態 1 に記載の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメント。

5. CD44v6 グリコペプチドへの結合に関して、配列番号 67 の重鎖可変 (VH) 配列および配列番号 68 の軽鎖可変 (VL) 配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態 1 に記載の抗グリコ CD44 抗体または抗原結合フラグメント。

50

6. CD44v6グリコペプチドへの結合に関して、配列番号206の重鎖可変(VH)配列および配列番号207の軽鎖可変(VL)配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態1に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

7. (i) COSMCノックアウトHaCaT細胞に特異的に結合し、かつ／または(ii) CD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞に特異的に結合する、実施形態1から6のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

8. COSMCノックアウトHaCaT細胞および／またはCD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞への結合に関して、配列番号1の重鎖可変(VH)配列および配列番号2の軽鎖可変(VL)配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態7に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

9. COSMCノックアウトHaCaT細胞および／またはCD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞への結合に関して、配列番号23の重鎖可変(VH)配列および配列番号24の軽鎖可変(VL)配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態7に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

10. COSMCノックアウトHaCaT細胞および／またはCD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞への結合に関して、配列番号45の重鎖可変(VH)配列および配列番号46の軽鎖可変(VL)配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態7に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

11. COSMCノックアウトHaCaT細胞および／またはCD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞への結合に関して、配列番号67の重鎖可変(VH)配列および配列番号68の軽鎖可変(VL)配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態7に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

12. COSMCノックアウトHaCaT細胞および／またはCD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞への結合に関して、配列番号206の重鎖可変(VH)配列および配列番号207の軽鎖可変(VL)配列を含む抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態7に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

13. (a) 配列番号89、配列番号93、配列番号97、配列番号125、配列番号153、配列番号228、配列番号232、配列番号236、配列番号246、または配列番号256のアミノ酸配列を含む相補性決定領域(CDR)H1；

(b) 配列番号90、配列番号94、配列番号98、配列番号229、配列番号233、配列番号237のアミノ酸配列を含むCDR-H2；

(c) 配列番号103、配列番号109、配列番号115、配列番号121、配列番号131、配列番号137、配列番号143、配列番号149、配列番号242、または配列番号252のアミノ酸配列を含むCDR-H3；

(d) 配列番号104、配列番号110、配列番号116、配列番号122、配列番号132、配列番号138、配列番号144、配列番号150、配列番号243、または配列番号253のアミノ酸配列を含むCDR-L1；

(e) 配列番号91、配列番号95、配列番号230、配列番号234のアミノ酸配列を含むCDR-L2；および

(f) 配列番号92または配列番号231のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

14. 配列番号89、配列番号97、および配列番号125でX₁と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント

10

20

30

40

50

ト。

15. 配列番号89、配列番号97、および配列番号125でX₁と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

16. 配列番号89、配列番号97、および配列番号125でX₂と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13から15のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

17. 配列番号89、配列番号97、および配列番号125でX₂と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13から15のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

18. 配列番号89、配列番号93、配列番号97、配列番号125、および配列番号153でX₃と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13から17のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

19. 配列番号89、配列番号93、配列番号97、配列番号125、および配列番号153でX₃と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13から17のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

20. 配列番号89、配列番号93、および配列番号125でX₄と命名されるアミノ酸が、Wである、実施形態13から19のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

21. 配列番号89、配列番号93、および配列番号125でX₄と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13から19のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

22. 配列番号89、配列番号93、および配列番号125でX₄と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13から19のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

23. 配列番号93および配列番号125でX₅と命名されるアミノ酸が、Mである、実施形態13から22のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

24. 配列番号93および配列番号125でX₅と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13から22のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

25. 配列番号93および配列番号125でX₆と命名されるアミノ酸が、Hである、実施形態13から24のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

26. 配列番号93および配列番号125でX₆と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13から24のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

27. 配列番号94でX₇と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13から26のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

28. 配列番号94でX₇と命名されるアミノ酸が、Eである、実施形態13から26のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

29. 配列番号94でX₇と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13から26のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

30. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₈と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13から29のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

31. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₈と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13から29のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

32. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₉と命名されるアミノ酸

10

20

30

40

50

が、Pである、実施形態13から31のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

33. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₉と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13から31のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

34. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₀と命名されるアミノ酸が、Rである、実施形態13から33のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

35. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₀と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13から33のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

36. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₁と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13から35のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

37. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₁と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13から35のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

38. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₂と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13から37のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

39. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₂と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13から37のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

40. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₃と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13から39のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

41. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₁₃と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13から39のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

42. 配列番号90および配列番号94でX₁₄と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13から41のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

43. 配列番号90および配列番号94でX₁₄と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13から41のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

44. 配列番号94でX₁₅と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13から43のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

45. 配列番号94でX₁₅と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13から43のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

46. 配列番号94でX₁₆と命名されるアミノ酸が、Dである、実施形態13から45のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

47. 配列番号94でX₁₆と命名されるアミノ酸が、Pである、実施形態13から45のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

48. 配列番号94でX₁₆と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13から45のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

49. 配列番号94でX₁₇と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13から48のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

50. 配列番号94でX₁₇と命名されるアミノ酸が、Dである、実施形態13から48のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

51. 配列番号94でX₁₈と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13から5

10

20

30

40

50

72. 配列番号95でX₂₇と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13から69のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

50

97. 配列番号92でX₃₇と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13から95のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

50

98. 配列番号228、配列番号236、および配列番号246でX₄₁と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

99. 配列番号228、配列番号232、および配列番号246でX₄₁と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

100. 配列番号228、配列番号236、および配列番号246でX₄₂と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13、98、および99のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

101. 配列番号228、配列番号236、および配列番号246でX₄₂と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13、98、および99のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

102. 配列番号228、配列番号236、および配列番号246でX₄₃と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13、および98から101のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

103. 配列番号228、配列番号236、および配列番号246でX₄₃と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13、および98から101のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

104. 配列番号228、配列番号236、および配列番号246でX₄₃と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13、および98から101のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

105. 配列番号228、配列番号232、配列番号236、配列番号246、および配列番号256でX₄₄と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から104のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

106. 配列番号228、配列番号232、配列番号236、配列番号246、および配列番号256でX₄₄と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から104のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

107. 配列番号228、配列番号232、配列番号236、配列番号246、および配列番号256でX₄₅と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から106のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

108. 配列番号228、配列番号232、配列番号236、配列番号246、および配列番号256でX₄₅と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13および98から106のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

109. 配列番号228、配列番号232、および配列番号246でX₄₆と命名されるアミノ酸が、Wである、実施形態13および98から108のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

110. 配列番号228、配列番号232、および配列番号246でX₄₆と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13および98から108のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

111. 配列番号228、配列番号232、および配列番号246でX₄₆と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から108のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

112. 配列番号228、配列番号232、および配列番号246でX₄₆と命名されるアミノ酸が、Hである、実施形態13および98から108のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

113. 配列番号232および配列番号246でX₄₇と命名されるアミノ酸が、Mである、実施形態13および98から112のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

114. 配列番号232および配列番号246でX₄₇と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13および98から112のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体

10

20

30

40

50

または抗原結合フラグメント。

115. 配列番号232および配列番号246でX₄₈と命名されるアミノ酸が、Hである、実施形態13および98から114のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

116. 配列番号232および配列番号246でX₄₈と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から114のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

117. 配列番号232および配列番号246でX₄₈と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から114のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

118. 配列番号233でX₄₉と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13および98から117のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

119. 配列番号233でX₄₉と命名されるアミノ酸が、Eである、実施形態13および98から117のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

120. 配列番号233でX₄₉と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から117のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

121. 配列番号233でX₄₉と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13および98から117のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

122. 配列番号233でX₅₀と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13および98から121のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

123. 配列番号233でX₅₀と命名されるアミノ酸が、Vである、実施形態13および98から121のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

124. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₁と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から123のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

125. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₁と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から123のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

126. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₂と命名されるアミノ酸が、Pである、実施形態13および98から125のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

127. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₂と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から125のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

128. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₂と命名されるアミノ酸が、Hである、実施形態13および98から125のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

129. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₃と命名されるアミノ酸が、Rである、実施形態13および98から128のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

130. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₃と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から128のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

131. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₃と命名され

10

20

30

40

50

るアミノ酸が、Dである、実施形態13および98から128のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

132. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₄と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から131のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

133. 配列番号90、配列番号94、および配列番号98でX₅₄と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から131のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

134. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₅と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から133のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

135. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₅と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から133のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

136. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₆と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から135のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

137. 配列番号229、配列番号233、および配列番号237でX₅₆と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から135のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

138. 配列番号229および配列番号233でX₅₇と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から137のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

139. 配列番号229および配列番号233でX₅₇と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13および98から137のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

140. 配列番号229および配列番号233でX₅₇と命名されるアミノ酸が、非存在である、実施形態13および98から137のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

141. 配列番号233でX₅₈と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13および98から140のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

142. 配列番号233でX₅₈と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から140のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

143. 配列番号233でX₅₉と命名されるアミノ酸が、Dである、実施形態13および98から142のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

144. 配列番号233でX₅₉と命名されるアミノ酸が、Pである、実施形態13および98から142のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

145. 配列番号233でX₅₉と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13および98から142のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

146. 配列番号233でX₆₀と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から145のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

147. 配列番号233でX₆₀と命名されるアミノ酸が、Dである、実施形態13および98から145のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

148. 配列番号233でX₆₀と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から145のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

149. 配列番号233でX₆₁と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から148のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

150. 配列番号233でX₆₁と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から148のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

151. 配列番号233でX₆₁と命名されるアミノ酸が、Wである、実施形態13および98から148のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

152. 配列番号233でX₆₂と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13および98から151のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

153. 配列番号233でX₆₂と命名されるアミノ酸が、Vである、実施形態13および98から151のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

154. 配列番号233でX₆₂と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13および98から151のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

155. 配列番号233でX₆₃と命名されるアミノ酸が、Kである、実施形態13および98から154のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

156. 配列番号233でX₆₃と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から154のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

157. 配列番号233でX₆₄と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から156のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

158. 配列番号233でX₆₄と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から156のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

159. 配列番号230および配列番号234でX₆₅と命名されるアミノ酸が、Gである、実施形態13および98から158のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

160. 配列番号230および配列番号234でX₆₅と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から158のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

161. 配列番号230および配列番号234でX₆₅と命名されるアミノ酸が、Lである、実施形態13および98から158のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

162. 配列番号230および配列番号234でX₆₅と命名されるアミノ酸が、Kである、実施形態13および98から158のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

163. 配列番号230および配列番号234でX₆₆と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から162のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

164. 配列番号230および配列番号234でX₆₆と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13および98から162のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体

10

20

30

40

50

または抗原結合フラグメント。

165. 配列番号230および配列番号234でX₆₆と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13および98から162のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

166. 配列番号230および配列番号234でX₆₇と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13および98から165のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

167. 配列番号230および配列番号234でX₆₇と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から165のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

168. 配列番号234でX₆₈と命名されるアミノ酸が、Nである、実施形態13および98から167のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

169. 配列番号234でX₆₈と命名されるアミノ酸が、Rである、実施形態13および98から167のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

170. 配列番号234でX₆₈と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から167のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

171. 配列番号234でX₆₉と命名されるアミノ酸が、Rである、実施形態13および98から170のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

172. 配列番号234でX₆₉と命名されるアミノ酸が、Lである、実施形態13および98から170のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

173. 配列番号234でX₇₀と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13および98から172のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

174. 配列番号234でX₇₀と命名されるアミノ酸が、Hである、実施形態13および98から172のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

175. 配列番号234でX₇₀と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13および98から172のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

176. 配列番号234でX₇₁と命名されるアミノ酸が、Pである、実施形態13および98から175のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

177. 配列番号234でX₇₁と命名されるアミノ酸が、Sである、実施形態13および98から175のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

178. 配列番号231でX₇₂と命名されるアミノ酸が、Aである、実施形態13および98から177のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

179. 配列番号231でX₇₂と命名されるアミノ酸が、Qである、実施形態13および98から177のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

180. 配列番号231でX₇₂と命名されるアミノ酸が、Lである、実施形態13および98から177のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

181. 配列番号231でX₇₃と命名されるアミノ酸が、Lである、実施形態13お

10

20

30

40

50

よび 98 から 180 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

182. 配列番号 231 で X₇₃ と命名されるアミノ酸が、Q である、実施形態 13 および 98 から 180 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

183. 配列番号 231 で X₇₃ と命名されるアミノ酸が、G である、実施形態 13 および 98 から 180 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

184. 配列番号 231 で X₇₄ と命名されるアミノ酸が、L である、実施形態 13 および 98 から 183 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

185. 配列番号 231 で X₇₄ と命名されるアミノ酸が、G である、実施形態 13 および 98 から 183 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

186. 配列番号 231 で X₇₄ と命名されるアミノ酸が、W である、実施形態 13 および 98 から 183 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

187. 配列番号 231 で X₇₅ と命名されるアミノ酸が、Y である、実施形態 13 および 98 から 186 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

188. 配列番号 231 で X₇₅ と命名されるアミノ酸が、S である、実施形態 13 および 98 から 186 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

189. 配列番号 231 で X₇₅ と命名されるアミノ酸が、T である、実施形態 13 および 98 から 186 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

190. 配列番号 231 で X₇₆ と命名されるアミノ酸が、S である、実施形態 13 および 98 から 189 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

191. 配列番号 231 で X₇₆ と命名されるアミノ酸が、T である、実施形態 13 および 98 から 189 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

192. 配列番号 231 で X₇₆ と命名されるアミノ酸が、H である、実施形態 13 および 98 から 189 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

193. 配列番号 231 で X₇₆ と命名されるアミノ酸が、K である、実施形態 13 および 98 から 189 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

194. 配列番号 231 で X₇₇ と命名されるアミノ酸が、N である、実施形態 13 および 98 から 193 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

195. 配列番号 231 で X₇₇ と命名されるアミノ酸が、L である、実施形態 13 および 98 から 193 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

196. 配列番号 231 で X₇₇ と命名されるアミノ酸が、Q である、実施形態 13 および 98 から 193 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

197. 配列番号 231 で X₇₇ と命名されるアミノ酸が、G である、実施形態 13 および 98 から 193 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

198. 配列番号231でX₇₈と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から197のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

199. 配列番号231でX₇₈と命名されるアミノ酸が、Pである、実施形態13および98から197のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

200. 配列番号231でX₇₈と命名されるアミノ酸が、Dである、実施形態13および98から197のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

201. 配列番号231でX₇₉と命名されるアミノ酸が、Wである、実施形態13および98から200のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

202. 配列番号231でX₇₉と命名されるアミノ酸が、Fである、実施形態13および98から200のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

203. 配列番号231でX₇₉と命名されるアミノ酸が、Iである、実施形態13および98から200のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

204. 配列番号231でX₈₀と命名されるアミノ酸が、Yである、実施形態13および98から203のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

205. 配列番号231でX₈₀と命名されるアミノ酸が、Tである、実施形態13および98から203のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

206. 配列番号231でX₈₀と命名されるアミノ酸が、Hである、実施形態13および98から203のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

207. 配列番号231でX₈₁と命名されるアミノ酸が、Pである、実施形態13および98から206のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

208. 配列番号231でX₈₁と命名されるアミノ酸が、非存在である、実施形態13および98から206のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

209. CDR-H1が、配列番号89のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

210. CDR-H1が、配列番号93のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

211. CDR-H1が、配列番号97のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

212. CDR-H1が、配列番号125のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

213. CDR-H1が、配列番号153のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

214. CDR-H1が、配列番号228のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

215. CDR-H1が、配列番号232のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

216. CDR-H1が、配列番号236のアミノ酸配列を含む、実施形態13から208のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

217. CDR-H1が、配列番号246のアミノ酸配列を含む、実施形態13から2

10

20

30

40

50

242. CDB-11が、配列番号150のアミノ酸配列を含む、実施形態13から2

50

3 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 3 . C D R - L 1 が、配列番号 2 4 3 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 3 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 4 . C D R - L 1 が、配列番号 2 5 3 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 3 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 5 . C D R - L 2 が、配列番号 9 1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 4 4 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 6 . C D R - L 2 が、配列番号 9 5 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 4 4 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 7 . C D R - L 2 が、配列番号 2 3 0 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 4 4 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 8 . C D R - L 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 4 4 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 4 9 . C D R - L 3 が、配列番号 9 2 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 4 8 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 0 . C D R - L 3 が、配列番号 2 3 1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 3 から 2 4 8 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 1 . 配列番号 3 ~ 5 の C D R を含む V H、および配列番号 6 ~ 8 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 2 . 配列番号 9 ~ 1 1 の C D R を含む V H、および配列番号 1 2 ~ 1 4 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 3 . 配列番号 1 5 ~ 1 7 の C D R を含む V H、および配列番号 1 8 ~ 2 0 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 4 . 配列番号 2 5 ~ 2 7 の C D R を含む V H、および配列番号 2 8 ~ 3 0 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 5 . 配列番号 3 1 ~ 3 3 の C D R を含む V H、および配列番号 3 4 ~ 3 6 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 6 . 配列番号 3 7 ~ 3 9 の C D R を含む V H、および配列番号 4 0 ~ 4 2 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 7 . 配列番号 4 7 ~ 4 9 の C D R を含む V H、および配列番号 5 0 ~ 5 2 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 8 . 配列番号 5 3 ~ 5 5 の C D R を含む V H、および配列番号 5 6 ~ 5 8 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 5 9 . 配列番号 5 9 ~ 6 1 の C D R を含む V H、および配列番号 6 2 ~ 6 4 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 6 0 . 配列番号 6 9 ~ 7 1 の C D R を含む V H、および配列番号 7 2 ~ 7 4 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

2 6 1 . 配列番号 7 5 ~ 7 7 の C D R を含む V H、および配列番号 7 8 ~ 8 0 の C D R を含む V L を含む、実施形態 1 から 1 2 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

262. 配列番号81～83のCDRを含むVH、および配列番号84～86のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

263. 配列番号208～210のCDRを含むVH、および配列番号211～213のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

264. 配列番号214～216のCDRを含むVH、および配列番号217～219のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

265. 配列番号220～222のCDRを含むVH、および配列番号223～225のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

10

266. 配列番号101～103のCDRを含むVH、および配列番号104～106のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

267. 配列番号107～109のCDRを含むVH、および配列番号110～112のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

268. 配列番号113～115のCDRを含むVH、および配列番号116～118のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

20

269. 配列番号119～121のCDRを含むVH、および配列番号122～124のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

270. 配列番号240～242のCDRを含むVH、および配列番号243～245のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

271. 配列番号129～131のCDRを含むVH、および配列番号132～134のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

30

272. 配列番号135～137のCDRを含むVH、および配列番号138～140のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

273. 配列番号141～143のCDRを含むVH、および配列番号144～146のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

274. 配列番号147～149のCDRを含むVH、および配列番号150～152のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

275. 配列番号250～252のCDRを含むVH、および配列番号253～255のCDRを含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

40

276. キメラもしくはヒト化抗体、またはキメラもしくはヒト化抗体の抗原結合フラグメントである、実施形態1から275のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

277. 配列番号1と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH、および配列番号2と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

278. 配列番号1と少なくとも97%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH

50

291. 配列番号67と少なくとも99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH、および配列番号68と少なくとも99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV

50

Lを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

292. 配列番号67のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号68のアミノ酸配列を含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

293. 配列番号206と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH、および配列番号207と少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

294. 配列番号206と少なくとも97%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH、および配列番号207と少なくとも97%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

295. 配列番号206と少なくとも99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH、および配列番号207と少なくとも99%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

296. 配列番号206のアミノ酸配列を含むVH、および配列番号207のアミノ酸配列を含むVLを含む、実施形態1から12のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

297. 配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位のセリン上でGalNAcでグリコシル化されたCD44v6ペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA A A (配列番号165) (「CD44v6グリコペプチド」)への結合に関して、(i) 配列番号1の重鎖可変(VH)配列および配列番号2の軽鎖可変(VL)配列、(ii) 配列番号23の重鎖可変(VH)配列および配列番号24の軽鎖可変(VL)配列、(iii) 配列番号45の重鎖可変(VH)配列および配列番号46の軽鎖可変(VL)配列、(iv) 配列番号67の重鎖可変(VH)配列および配列番号68の軽鎖可変(VL)配列、または(v) 配列番号206の重鎖可変(VH)配列および配列番号207の軽鎖可変(VL)配列を含む参照抗体または抗原結合フラグメントと競合する、抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントであって、

(a) VH配列内の第1、第2および第3のCDR手段を伴うVH配列；ならびに

(b) VL配列内の第4、第5および第6のCDR手段を伴うVL配列

を含み、第1、第2、第3、第4、第5、および第6のCDR手段が、CD44v6グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合に影響を及ぼすように協同する、抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

298. 配列番号1のVH配列および配列番号2のVL配列を含む参照抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態297に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

299. 配列番号23のVH配列および配列番号24のVL配列を含む参照抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態297に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

300. 配列番号45のVH配列および配列番号46のVL配列を含む参照抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態297に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

301. 配列番号67のVH配列および配列番号68のVL配列を含む参照抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態297に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

302. 配列番号206のVH配列および配列番号207のVL配列を含む参照抗体または抗原結合フラグメントと競合する、実施形態297に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

303. 正常細胞と比較して、がん細胞上で過剰発現されるグリコCD44エпитープに優先的に結合する、実施形態1から302のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

304. 配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位のセリン上でSTnでグリコシル化されたCD44v6ペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA A A (配列番号165)に特異的に結合する、実施形態1から303のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

305. 配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位のセリン上でSTnでグリコシル化されたCD44v6ペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA A A (配列番号165)に結合するが、特異的に結合しない、実施形態1から303のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

10

306. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 200 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

307. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 150 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

20

308. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 100 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

309. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 50 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

310. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 25 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

30

311. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 15 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

312. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 10 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

313. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM ~ 200 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

40

314. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM ~ 100 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

315. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM ~ 50 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

316. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM ~ 25 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

50

317. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM～10 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

318. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～200 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

319. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～100 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

320. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～150 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

321. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～100 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

322. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～50 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

323. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～25 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

324. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM～200 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

325. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM～150 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

326. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM～100 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

327. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、100 nM～200 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

328. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、100 nM～150 nMの結合親和性 (K_D) でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態1から305のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

329. CD44v6グリコペプチドへの結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定される通りである、実施形態306から328のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

330. 表面プラズモン共鳴による測定が、分析物としてのCD44v6グリコペプチドの飽和濃度で行われ、抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントが、固定化リガンドである、実施形態329に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

331. CD44v6グリコペプチドへの結合親和性が、バイオレイヤー干渉法によって測定される通りである、実施形態306から328のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

332. バイオレイヤー干渉法による測定が、分析物としての抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント、および固定化リガンドとしてのCD44v6グリコペプチドを用いて行われる、実施形態331に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

333. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA A A（配列番号333）（「グリコシル化されていないCD44v6ペプチド」）に特異的に結合しない、実施形態1から332のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

334. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

335. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

336. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

337. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

338. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

339. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

340. 精製した組換えヒトグリコシルトランスフェラーゼGalNAc-T1、GalNAc-T2、およびGalNAc-T4を使用してインビトロでグリコシル化されたMUC1タンデムリピート(VTSA PDTRPAPGSTAPP AHG)₃（配列番号205）（「第1のMUC1グリコペプチド」）に特異的に結合しない、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

341. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

342. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

343. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

344. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

345. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1μM、約1.5μM、または約2μMの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

346. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さら

10

20

30

40

50

に任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

347. 下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上でGalNAcによりインビトロでグリコシル化されたMUC1 TAPP AHGVTSAPDTRPAPGSTAPP AHGV T（配列番号262）（「第2のMUC1グリコペプチド」）に特異的に結合しない、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

348. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

349. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

350. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

351. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

352. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

353. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態1から333のいずれかに記載の抗グリ

10

20

30

40

50

コ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 5 4. 多価である、実施形態 1 から 3 5 3 のいずれかに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 5 5. 抗原結合フラグメントである、実施形態 1 から 3 5 3 のいずれかに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 5 6. 抗原結合フラグメントが、単鎖可変フラグメント (s c F v) の形態である、実施形態 3 5 5 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 5 7. s c F v が、軽鎖可変フラグメントの N 末端側に重鎖可変フラグメントを含む、実施形態 3 5 6 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 5 8. s c F v が、軽鎖可変フラグメントの C 末端側に重鎖可変フラグメントを含む、実施形態 3 5 6 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 5 9. s c F v 重鎖可変フラグメントおよび軽鎖可変フラグメントが、任意選択で 4 ~ 1 5 アミノ酸であるリンカー配列へ共有結合している、実施形態 3 5 6 から 3 5 8 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 0. 多重特異性抗体の形態である、実施形態 1 から 3 3 2 のいずれかに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 1. 多重特異性抗体が、第 1 のエピトープとは異なる第 2 のエピトープに結合する二重特異性抗体である、実施形態 3 6 0 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 2. 二重特異性抗体が、ボトルオープナー、m A b - F v、m A b - s c F v、中心 - s c F v、1 アーム中心 - s c F v、または二重 s c F v 様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 1 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 3. 二重特異性抗体が、ボトルオープナー様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 2 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 4. 二重特異性抗体が、m A b - F v 様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 2 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 5. 二重特異性抗体が、m A b - s c F v 様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 2 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 6. 二重特異性抗体が、中心 - s c F v 様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 2 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 7. 二重特異性抗体が、1 アーム中心 - s c F v 様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 2 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 8. 二重特異性抗体が、二重 s c F v 様式の二重特異性抗体である、実施形態 3 6 2 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 6 9. 二重特異性抗体が、二重特異性ドメイン交換抗体 (例えば、C r o s s M a b)、F a b アーム交換抗体、二重特異性 T 細胞エンゲージャー (B i T E)、または二重親和性リターゲティング分子 (D A R T) である、実施形態 3 6 1 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 7 0. 二重特異性抗体が、二重特異性ドメイン交換抗体 (例えば、C r o s s M a b) である、実施形態 3 6 9 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 7 1. 二重特異性抗体が、重鎖と軽鎖との間のドメインの交差を有する F a b アームを含む二重特異性 I g G (例えば、C r o s s M a b F A B) である、実施形態 3 7 0 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 7 2. 二重特異性抗体が、可変重鎖と可変軽鎖との間のドメインの交差を有する F a b アームを含む二重特異性 I g G (例えば、C r o s s M a b V H - V L) である、実施形態 3 7 0 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 7 3. 二重特異性抗体が、定常重鎖と定常軽鎖との間のドメインの交差を有する F a b アームを含む二重特異性 I g G (例えば、C r o s s M a b C H 1 - C L) である、実施形態 3 7 0 に記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメント。

3 7 4. 二重特異性抗体が、F a b アーム交換抗体である、実施形態 3 6 9 に記載の抗

10

20

30

40

50

グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

375. 二重特異性抗体が、二重親和性リターゲティング分子(DART)である、実施形態369に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

376. 二重特異性抗体が、二重特異性T細胞エンゲージャー(BITE)である、実施形態369に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

377. 第2のエピトープが、CD44エピトープである、実施形態361から376のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

378. 第2のエピトープが、正常細胞と比較して、がん細胞上で過剰発現されるCD44エピトープである、実施形態361から376のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

379. 第2のエピトープが、T細胞エピトープである、実施形態361から376のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

380. T細胞エピトープが、CD3エピトープ、CD8エピトープ、CD16エピトープ、CD25エピトープ、CD28エピトープ、またはNKG2Dエピトープを含む、実施形態379に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

381. T細胞エピトープが、任意選択でヒトCD3に存在するエピトープであるCD3エピトープを含む、実施形態380に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

382. CD3エピトープが、CD3ガンマエピトープ、CD3デルタエピトープ、CD3イプシロンエピトープ、またはCD3ゼータエピトープを含む、実施形態381に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

383. 検出可能な部分にコンジュゲートされている、実施形態1から382のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

384. 検出可能な部分が、酵素、放射性同位体、または蛍光標識である、実施形態383に記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメント。

385. 少なくとも第2のアミノ酸配列に作動可能に連結した、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体または抗原結合フラグメントのアミノ酸配列を含む融合タンパク質。

386. 第2のアミノ酸配列が、4-1BB、CD2、CD3-ゼータ、またはそのフラグメントのアミノ酸配列を含む、実施形態385に記載の融合タンパク質。

387. 第2のアミノ酸配列が、融合ペプチドのアミノ酸配列である、実施形態385に記載の融合タンパク質。

388. 融合ペプチドが、CD28-CD3-ゼータ、4-1BB(CD137)-CD3-ゼータ融合ペプチド、CD2-CD3-ゼータ融合ペプチド、CD28-CD2-CD3-ゼータ融合ペプチド、または4-1BB(CD137)-CD2-CD3-ゼータ融合ペプチドである、実施形態387に記載の融合タンパク質。

389. 第2のアミノ酸配列が、T細胞活性化のモジュレーターまたはそのフラグメントのアミノ酸配列である、実施形態385に記載の融合タンパク質。

390. T細胞活性化のモジュレーターが、IL-15またはIL-15R α である、実施形態389に記載の融合タンパク質。

391. 第2のアミノ酸配列が、MICタンパク質ドメインのアミノ酸配列である、実施形態385に記載の融合タンパク質。

392. MICタンパク質ドメインが、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインである、実施形態391に記載の融合タンパク質。

393. $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインが、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、またはOMCP $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインである、実施形態392に記載の融合タンパク質。

394. MICタンパク質ドメインが、操作されたMICタンパク質ドメインである、実施形態391から393のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

395. 第2のアミノ酸配列が、ノイラミニダーゼ(EC 3.2.1.18またはE

10

20

30

40

50

C 3 . 2 . 1 . 1 2 9) のアミノ酸配列である、実施形態 3 8 5 に記載の融合タンパク質。

3 9 6 . ノイラミニダーゼアミノ酸配列が、ミクロモノスポラ・ビリジファシエンス (*Micromonospora viridifaciens*) に由来する、実施形態 3 9 5 に記載の融合タンパク質。

3 9 7 . ノイラミニダーゼが、

【 0 5 4 8 】

【 化 3 8 】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDTRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMNDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

と少なくとも 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 3 9 5 に記載の融合タンパク質。

20

3 9 8 . ノイラミニダーゼが、

【 0 5 4 9 】

【 化 3 9 】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDTRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMNDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

30

と少なくとも 9 7 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 3 9 5 に記載の融合タンパク質。

3 9 9 . ノイラミニダーゼが、

【 0 5 5 0 】

【 化 4 0 】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDTRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMNDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

40

50

と少なくとも 98% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 395 に記載の融合タンパク質。

400. ノイラミニダーゼが、

【0551】

【化41】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDTRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFDPAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

と少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 395 に記載の融合タンパク質。

401. ノイラミニダーゼが、アミノ酸配列

【0552】

【化42】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVDTRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFDPAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

20

30

を含む、実施形態 395 に記載の融合タンパク質。

402. シグナル配列を含む、実施形態 395 から 401 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

403. シグナル配列が、グラニューライシンシグナル配列である、実施形態 402 に記載の融合タンパク質。

404. シグナル配列が、グランザイム K シグナル配列である、実施形態 402 に記載の融合タンパク質。

405. シグナル配列が、NPY シグナル配列である、実施形態 402 に記載の融合タンパク質。

40

406. シグナル配列が、IFN シグナル配列である、実施形態 402 に記載の融合タンパク質。

407. 自己切断ペプチド配列を含む、実施形態 395 から 406 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

408. 自己切断ペプチド配列が、2A ペプチドである、実施形態 407 に記載の融合タンパク質。

409. 2A ペプチドが、T2A である、実施形態 407 に記載の融合タンパク質。

410. 4C8-CART-T2A-HIS-グラニューライシン-シグナル-ノイラミニダーゼと命名される融合タンパク質と少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む、実

50

施形態 395 から 409 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

411. 4C8-CART-T2A-HIS-グランザイムK-シグナル-ノイラミニダーゼと命名される融合タンパク質と少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のアミノ酸配列を含む、実施形態395 から409 のいずれか1 つに記載の融合タンパク質。

412. 4C8-CART-T2A-HIS-NPY-シグナル-ノイラミニダーゼと命名される融合タンパク質と少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のアミノ酸配列を含む、実施形態395 から409 のいずれか1 つに記載の融合タンパク質。

413. 4C8-CART-T2A-HIS-分泌-ノイラミニダーゼと命名される融合タンパク質と少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のアミノ酸配列を含む、実施形態395 から409 のいずれか1 つに記載の融合タンパク質。

414. 4C8-CART-T2A-HIS-膜貫通-ノイラミニダーゼと命名される融合タンパク質と少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%同一のアミノ酸配列を含む、実施形態395 から409 のいずれか1 つに記載の融合タンパク質。

415. 実施形態355 から359 のいずれか1 つに記載の1 つまたは複数の抗原結合フラグメントを含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

416. 実施形態356 から359 のいずれか1 つに記載の1 つまたは複数の scFv を含む、実施形態415 に記載の CAR。

417. 実施形態356 から359 のいずれか1 つに記載の1 つの scFv を含む、実施形態416 に記載の CAR。

418. 実施形態356 から359 のいずれか1 つに記載の2 つの scFv を含む、実施形態417 に記載の CAR。

419. 2 つの scFv が、同じアミノ酸配列を有する、実施形態418 に記載の CAR。

420. 2 つの scFv が、任意選択で4~15個のアミノ酸であるリンカー配列によって共有結合している、実施形態418 または419 に記載の CAR。

421. アミノ末端からカルボキシ末端への順序で：(i) 1 つまたは複数の抗原結合フラグメント、(ii) 膜貫通ドメイン、および (iii) 細胞内シグナル伝達ドメインを含む、実施形態415 から420 のいずれか1 つに記載の CAR。

422. 膜貫通ドメインが、CD28 膜貫通ドメインを含む、実施形態421 に記載の CAR。

423. CD28 膜貫通ドメインが、アミノ酸配列 FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV (配列番号186) を含む、実施形態422 に記載の CAR。

424. 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む、実施形態421 から423 のいずれか1 つに記載の CAR。

425. 共刺激シグナル伝達領域が、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、LIGHT、NKG2C、B7-H3、CD83 と特異的に結合するリガンド、DAP10、GITR、またはそれらの組合せの細胞質ドメインを含む、実施形態424 に記載の CAR。

426. 共刺激シグナル伝達ドメインが、CD2 の細胞質ドメインを含む、実施形態425 に記載の CAR。

427. CD2 の細胞質ドメインが、アミノ酸配列
【0553】

10

20

30

40

50

【化 4 3】

TKRKKQRSRRNDEELETRAHRVATEERGRKPHQIPASTPQNPATSQHPPPPPGHRSQAPSH
RPPPPGHRVQHQPQKRPPAPSGTQVHQKGPPLPRPRVQPKPPHGAAENSLSPSSN (配列
番号 289)

を含む、実施形態 4 2 6 に記載の C A R。

4 2 8. 共刺激シグナル伝達ドメインが、C D 2 8 の細胞質ドメインを含む、実施形態 4 2 5 から 4 2 7 のいずれか 1 つに記載の C A R。

4 2 9. C D 2 8 の細胞質ドメインが、アミノ酸配列 R S K R S R L L H S D Y M N M
T P R R P G P T R K H Y Q P Y A P P R D F A A Y R S (配列番号 1 7 9) を含む、実
施形態 4 2 8 に記載の C A R。

4 3 0. 細胞内シグナル伝達ドメインが、T 細胞シグナル伝達ドメインを含む、実施形
態 4 2 1 から 4 2 9 のいずれか 1 つに記載の C A R。

4 3 1. T 細胞シグナル伝達ドメインが、共刺激シグナル伝達領域の C 末端側にある、
実施形態 4 3 0 に記載の C A R。

4 3 2. T 細胞シグナル伝達ドメインが、C D 3 -ゼータシグナル伝達ドメインを含む
、実施形態 4 3 0 または 4 3 1 に記載の C A R。

4 3 3. C D 3 -ゼータシグナル伝達ドメインが、アミノ酸配列

【0 5 5 4】

【化 4 4】

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (配列
番号 180)

を含む、実施形態 4 3 2 に記載の C A R。

4 3 4. 1 つもしくは複数の抗体フラグメント、または 1 つもしくは複数の s c F v の
N 末端側にシグナルペプチドをさらに含む、実施形態 4 2 1 から 4 3 3 のいずれか 1 つに
記載の C A R。

4 3 5. シグナルペプチドが、ヒト C D 8 シグナルペプチドである、実施形態 4 3 3 に
記載の C A R。

4 3 6. ヒト C D 8 シグナルペプチドが、アミノ酸配列 M A L P V T A L L L P L A L
L L H A A R P (配列番号 1 7 5) を含む、実施形態 4 3 5 に記載の C A R。

4 3 7. 1 つまたは複数の抗原結合フラグメントと膜貫通ドメインとの間にヒンジをさ
らに含む、実施形態 4 2 1 から 4 3 6 のいずれか 1 つに記載の C A R。

4 3 8. ヒンジが、ヒト C D 8 a ヒンジを含む、実施形態 4 3 7 に記載の C A R。

4 3 9. ヒト C D 8 a ヒンジが、アミノ酸配列 T T T P A P R P P T P A P T I A S 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 (配列番号 2 0 3) を含む、実
施形態 4 3 8 に記載の C A R。

4 4 0. ヒト C D 8 a ヒンジが、アミノ酸配列 T T T P A P R P P T P A P T I A S 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 (配列番号 1 7 6) を含む、実
施形態 4 3 8 に記載の C A R。

4 4 1. ヒンジが、アミノ酸配列 E S K Y G P P C P S C P (配列番号 1 7 7) を含む
ヒト I g G 4 -短鎖ヒンジを含む、実施形態 4 3 7 に記載の C A R。

4 4 2. ヒンジが、アミノ酸配列

【0 5 5 5】

10

20

30

40

50

【化 4 5】

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
 REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFF
 LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKM (配列番号 178)

を含むヒト IgG4-長鎖ヒンジを含む、実施形態 437 に記載の CAR。

443. アミノ酸配列が、配列番号 157 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。 10

444. アミノ酸配列が、配列番号 158 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

445. アミノ酸配列が、配列番号 159 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

446. アミノ酸配列が、配列番号 160 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

447. アミノ酸配列が、配列番号 161 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

448. アミノ酸配列が、配列番号 162 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。 20

449. アミノ酸配列が、配列番号 163 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

450. アミノ酸配列が、配列番号 164 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

451. アミノ酸配列が、配列番号 261 のアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

452. 細胞傷害性物質にコンジュゲートした、実施形態 1 から 384 のいずれかに記載の抗グリコ CD44 抗体もしくは抗原結合フラグメント、または実施形態 385 から 394 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質を含む抗体-薬物コンジュゲート。 30

453. 細胞傷害性物質が、オーリスタチン、DNA 副溝結合剤、アルキル化剤、エンジイン、レキシトロブシン、デュオカルマイシン、タキサン、ドラスタチン、メイタンシノイド、ピンカアルカロイド、またはアマニチン毒である、実施形態 452 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

454. 抗グリコ CD44 抗体もしくは抗原結合フラグメントまたは二重特異性抗体が、リンカーを介して細胞傷害性物質にコンジュゲートされている、実施形態 453 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

455. リンカーが、細胞内条件下で切断可能である、実施形態 454 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

456. 切断可能なリンカーが、細胞内のプロテアーゼによって切断可能である、実施形態 455 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。 40

457. リンカーが、ジペプチドを含む、実施形態 456 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

458. ジペプチドが、val-cit または phe-lys である、実施形態 457 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

459. 切断可能なリンカーが、5.5 未満の pH で加水分解性である、実施形態 455 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

460. 加水分解性のリンカーが、ヒドラゾンリンカーである、実施形態 459 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

461. 切断可能なリンカーが、ジスルフィドリンカーである、実施形態 455 に記載 50

の抗体－薬物コンジュゲート。

462. 実施形態355から359のいずれか1つに記載の1つまたは複数の抗原結合フラグメント、およびTCR複合体サブユニットの1つまたは複数のドメインを含む、T細胞受容体(TCR)融合タンパク質。

463. 1つまたは複数の抗原結合フラグメント、およびTCR複合体サブユニットの1つまたは複数のドメインが、ペプチドリンカーによって接続されている、実施形態462に記載のTCR融合タンパク質。

464. ペプチドリンカーが、グリシン－セリンリンカーを含むか、またはそれからなる、実施形態463に記載のTCR融合タンパク質。

465. ペプチドリンカーが、(G₄S)_n(配列番号316)を含むか、またはそれからなり、n=1～4である、実施形態463または464に記載のTCR融合タンパク質。

466. 抗原結合フラグメントが、単鎖可変フラグメント(scFv)の形態である、実施形態462から465のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

467. 実施形態356から359のいずれか1つに記載の1つまたは複数のscFvを含む、実施形態466に記載のTCR融合タンパク質。

468. 実施形態356から359のいずれか1つに記載の1つのscFvを含む、実施形態467に記載のTCR融合タンパク質。

469. 実施形態356から359のいずれか1つに記載の2つのscFvを含む、実施形態467に記載のTCR融合タンパク質。

470. 2つのscFvが、同じアミノ酸配列を有する、実施形態469に記載のTCR融合タンパク質。

471. 2つのscFvが、任意選択で4～15個のアミノ酸であるリンカー配列によって共有結合している、実施形態469または470に記載のTCR融合タンパク質。

472. 抗原結合フラグメントが、フラグメント抗原結合(Fab)の形態である、実施形態462から465のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

473. アミノ末端からカルボキシ末端への順序で：(i) 1つまたは複数の抗原結合フラグメント；(ii) TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン；および(iii) TCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、実施形態462から472のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

474. アミノ末端からカルボキシ末端への順序で：(i) 1つまたは複数の抗原結合フラグメント；(ii) TCR複合体サブユニットの細胞外ドメイン；(iii) TCR複合体サブユニットの膜貫通ドメイン；および(iv) TCR複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、実施形態462から473のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

475. TCR複合体サブユニットの細胞外ドメインが、TCR複合体サブユニットの定常領域を含み、任意選択でTCR複合体サブユニットの可変領域をさらに含む、実施形態474に記載のTCR融合タンパク質。

476. TCR複合体サブユニットの細胞外可変領域が、TCR複合体サブユニットの可変領域を含み、任意選択でTCR複合体サブユニットの定常領域を含む、実施形態474に記載のTCR融合タンパク質。

477. TCR複合体サブユニットが、TCR α である、実施形態462から476のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

478. TCR複合体サブユニットが、TCR β である、実施形態462から476のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

479. TCR複合体サブユニットが、TCR γ である、実施形態462から476のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

480. TCR複合体サブユニットが、TCR δ である、実施形態462から476のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

481. TCR複合体サブユニットが、CD3 δ である、実施形態462から476の

10

20

30

40

50

いずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

482. TCR複合体サブユニットが、CD3 ϵ である、実施形態462から476のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

483. TCR複合体サブユニットが、CD3 γ である、実施形態462から476のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

484. T細胞受容体融合コンストラクト (TRuC) またはそのサブユニットである、実施形態462から483のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

485. 抗体-T細胞受容体 (AbTCR) コンストラクトまたはそのサブユニットである、実施形態462から483のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

486. 合成T細胞受容体 (TCR) および抗原受容体 (STAR) である、実施形態462から483のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質。

487. 実施形態462から486のいずれか1つに記載の1つまたは複数のTCR融合タンパク質を含む、T細胞受容体 (TCR) 複合体。

488. TCR α/β TCR複合体である、実施形態487に記載のTCR複合体。

489. TCR γ/δ TCR複合体である、実施形態487に記載のTCR複合体。

490. (a) CD3 $\delta/CD3\epsilon$ ヘテロ二量体；

(b) CD3 $\gamma/CD3\epsilon$ ヘテロ二量体；および

(c) CD3 ζ

を含む、実施形態487から489のいずれか1つに記載のTCR複合体。

491. (a) 抗グリコCD44可変重鎖 (VH) ；

(b) 第1のTCR定常領域ドメイン；

(c) 切断可能なペプチドリンカー；

(d) 抗グリコCD44可変軽鎖 (VL) ；および

(e) 第2のTCR定常領域ドメイン

を含む、合成T細胞受容体 (TCR) および抗原受容体 (STAR) であって、任意選択でVHおよびVLが、実施形態1から461のいずれか1つに記載の抗グリコCD44抗体または結合フラグメントのVHおよびVLである、STAR。

492. 抗グリコCD44可変重鎖が、

【0556】

【化46】

QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWWKQRPQGQLEWIGNIYPRSGTTNY
DGYFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRSYDYPFVYWGGTLVTVSA (配列
番号1)

のアミノ酸を含む、実施形態491に記載のSTAR。

493. 抗グリコCD44可変重鎖が、

【0557】

【化47】

EVQLVESGGGLVKPGSLKLSCAASGFTFSSYAMSWWRQSPERRLEWWAEISSGGSYTYYP
DTVTGRFTISRDNKNTLYLEMSSLRSEDAMYYCARTVGEDWYFDVWGAGTTVTVSS
(配列番号23)

のアミノ酸を含む、実施形態491に記載のSTAR。

494. 抗グリコCD44可変重鎖が、

【0558】

【化 4 8】

DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSSFGMHWRQAPEKGLEWWAYISSGSSTIYYA
DTVKGRTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCARGSYRAMDYWGQGTSTVTVSS (配列
番号 45)

のアミノ酸を含む、実施形態 4 9 1 に記載の S T A R。

4 9 5 . 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0 5 5 9】

【化 4 9】

DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSAASGFTFSSFGIHWWRQAPEKGLEWWAYISSGSSTIYYAD
TVKGRTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCARGSKVVAKSRGYWYFDVWGAGTTTVT
SS (配列番号 67)

10

のアミノ酸を含む、実施形態 4 9 1 に記載の S T A R。

4 9 6 . 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0 5 6 0】

【化 5 0】

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTINTYHMGWFRQAPGKGLQYIGIVSHDVGTYATWA
KGRFTISKTSSTTVDLRMPSPPTTEDATYICARGPGYWTFNLWGQGTTLTVTVSS (配列
番号 206)

20

のアミノ酸を含む、実施形態 4 9 1 に記載の S T A R。

4 9 7 . 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が：

(a) 表 1 F ~ 1 K、2 F、2 G、3 F、または 3 G のいずれか 1 つに記載の相補性決定領域 (CDR) H 1 のアミノ酸配列 (例えば、G X₁ T F X₂ S X₃ X₄ (配列番号 8 9)、S X₃ X₄ X₅ X₆ (配列番号 9 3)、G X₁ T F X₂ S X₃ (配列番号 9 7)、G X₁ T F X₂ S X₃ X₄ X₅ X₆ (配列番号 1 2 5)、S X₃ (配列番号 1 5 3)、G X_{4 1} T X_{4 2} X_{4 3} X_{4 4} X_{4 5} X_{4 6} (配列番号 2 2 8)、X_{4 4} X_{4 5} X_{4 6} X_{4 7} X_{4 8} (配列番号 2 3 2)、G X_{4 1} T X_{4 2} X_{4 3} X_{4 4} X_{4 5} (配列番号 2 3 6)、G X_{4 1} T X_{4 2} X_{4 3} X_{4 4} X_{4 5} X_{4 6} X_{4 7} X_{4 8} (配列番号 2 4 6)、および X_{4 4} X_{4 5} (配列番号 2 5 6)) を含む C D R - H 1；

30

(b) 表 1 F ~ 1 K、2 F、2 G、3 F、または 3 G のいずれか 1 つに記載の C D R - H 2 のアミノ酸配列 (例えば、X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄ (配列番号 9 0)、X₇ I X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅ Y X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ X₂₀ X₂₁ (配列番号 9 4)、X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ (配列番号 9 8)、X₇ I X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅ Y X₁₆ X₁₇ X₁₈ X₁₉ X₂₀ X₂₁ (配列番号 1 2 6)、X₈ X₉ X₁₀ X₁₁ X₁₂ X₁₃ (配列番号 1 5 4)、X₅₁ X₅₂ X₅₃ X₅₄ X₅₅ X₅₆ X₅₇ (配列番号 2 2 9)、X₄₉ X₅₀ X₅₁ X₅₂ X₅₃ X₅₄ X₅₅ X₅₆ X₅₇ X₅₈ Y X₅₉ X₆₀ X₆₁ X₆₂ X₆₃ X₆₄ (配列番号 2 3 3)、X₅₁ X₅₂ X₅₃ X₅₄ X₅₅ X₅₆ (配列番号 2 3 7)、X₄₉ X₅₀ X₅₁ X₅₂ X₅₃ X₅₄ X₅₅ X₅₆ X₅₇ X₅₈ Y X₅₉ X₆₀ X₆₁ X₆₂ X₆₃ X₆₄ (配列番号 2 4 7)、および X₅₁ X₅₂ X₅₃ X₅₄ X₅₅ X₅₆ (配列番号 2 5 7)) を含む C D R - H 2；ならびに

40

(c) 表 1 A ~ 1 E または 3 A ~ 3 E のいずれか 1 つに記載の C D R - H 3 のアミノ酸

50

配列（例えば、T R S G Y D Y P F V Y（配列番号 5）、S G Y D Y P F V Y（配列番号 11）、A R T V G E D W Y F D V（配列番号 27）、T V G E D W Y F D V（配列番号 33）、A R G S Y R A M D Y（配列番号 49）、G S Y R A M D Y（配列番号 55）、A R G S K V V A K S R G Y W Y F D V（配列番号 71）、G S K V V A K S R G Y W Y F D V（配列番号 77）、A R G P G Y W T F N L（配列番号 210）、および G P G Y W T F N L（配列番号 216）を含む C D R - H 3

を含む、実施形態 491 に記載の S T A R。

498. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0561】

【化51】

10

QAVVTQESALTTSPGETVTLTCTRTSTGAVSIRNYANWWQEKPDHLFTGLIGGTNNRAPGVPA
RFSGSLIGDKAALTITGAQPEDEAIYFCALLYSNYWVFGGGTKLTVL (配列番号 2)

のアミノ酸を含む、実施形態 491 から 497 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

499. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0562】

【化52】

20

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISHYLNWYQQKPDGAVKLLIYSTSRLHSGVPSRFS
GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGYTLPFTFGSGTKLEIK (配列番号 24)

のアミノ酸を含む、実施形態 491 から 497 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

500. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0563】

【化53】

30

QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSSVNYMFWYQQKPRSSPKWIYLTSLASGVPARFS
GSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQLWSSNPFTFGSGTKLEIK (配列番号 46)

のアミノ酸を含む、実施形態 491 から 497 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

501. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0564】

【化54】

DVVVTQTPLFLPVSFQDQVSISCRSSQSLANNYGITYLSWYLHRPGQSPQLLIYGISNRFSGV
PDRFSGSGSGTDFTLKISTIKPEDLGMYCYCLQGTHQPWTFGGGTKLEIK (配列番号 68)

のアミノ酸を含む、実施形態 491 から 497 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

502. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0565】

【化55】

40

AQVLTQTPASVSAAVGGTVTINCQASQSVYNNQLSWYQQKPGQPLKQLIYKASTLASGVPS
RFKSGSGSGSQFTLTISDLECDAAATYFCAGGYKGDHHPFGGGTEVVVK (配列番号 207)

のアミノ酸を含む、実施形態 491 から 497 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

503. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が：

(a) 表 1 A ~ 1 E または 3 A ~ 3 E のいずれか 1 つに記載の C D R - L 1 のアミノ酸
配列（例えば、T G A V S I R N Y（配列番号 6）、R T S T G A V S I R N Y A N（配

50

列番号12)、QDISHY(配列番号28)、RASQDISHYLN(配列番号34)、SSVNY(配列番号50)、SASSSVNYMF(配列番号56)、QSLANNYGYTY(配列番号72)、RSSQSLANNYGYTYS(配列番号78)、QSVYNNNQ(配列番号211)、およびQASQSVYNNNQLS(配列番号217)を含むCDR-L1;

(b)表1F~1K、2F、2G、3F、または3Gのいずれか1つに記載のCDR-L2のアミノ酸配列(例えば、X₂₂X₂₃X₂₄(配列番号91)、X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅X₂₆X₂₇X₂₈(配列番号95)、X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅X₂₆X₂₇X₂₈(配列番号99)、X₂₂X₂₃X₂₄X₂₅X₂₆X₂₇X₂₈(配列番号127)、X₂₂X₂₃X₂₄(配列番号155)、X₆₅X₆₆X₆₇(配列番号230)、X₆₅X₆₆X₆₇X₆₈X₆₉X₇₀X₇₁(配列番号234)、X₆₅X₆₆X₆₇X₆₈X₆₉X₇₀X₇₁(配列番号238)、X₆₅X₆₆X₆₇X₆₈X₆₉X₇₀X₇₁(配列番号248)、およびX₆₅X₆₆X₆₇(配列番号258)を含むCDR-L2;ならびに

(c)表1F~1K、2F、2G、3F、または3Gのいずれか1つに記載のCDR-L3のアミノ酸配列(例えば、X₂₉X₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇(配列番号92)、X₂₉X₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇(配列番号96)、X₂₉X₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇(配列番号100)、X₂₉X₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇(配列番号128)、X₂₉X₃₀X₃₁X₃₂X₃₃X₃₄X₃₅X₃₆X₃₇(配列番号156)、X₇₂X₇₃X₇₄X₇₅X₇₆X₇₇X₇₈X₇₉X₈₀X₈₁(配列番号231)、X₇₂X₇₃X₇₄X₇₅X₇₆X₇₇X₇₈X₇₉X₈₀X₈₁(配列番号235)、X₇₂X₇₃X₇₄X₇₅X₇₆X₇₇X₇₈X₇₉X₈₀X₈₁(配列番号239)、X₇₂X₇₃X₇₄X₇₅X₇₆X₇₇X₇₈X₇₉X₈₀X₈₁(配列番号249)、およびX₇₂X₇₃X₇₄X₇₅X₇₆X₇₇X₇₈X₇₉X₈₀(配列番号259)を含むCDR-L3

を含む、実施形態491から497のいずれか1つに記載のSTAR。

504.第1のTCR定常領域ドメインが、TCR α 定常領域ドメインであり、第2のTCR定常領域ドメインが、TCR β 定常領域ドメインである、実施形態491から503のいずれか1つに記載のSTAR。

505.第1のTCR定常領域ドメインが、TCR β 定常領域ドメインであり、第2のTCR定常領域ドメインが、TCR α 定常領域ドメインである、実施形態491から503のいずれか1つに記載のSTAR。

506.第1のTCR定常領域ドメインおよび第2のTCR定常領域ドメイン各々が、野生型TCR定常領域ドメインと比較して、少なくとも1つの突然変異を含む、実施形態504または505に記載のSTAR。

507.TCR α 定常領域ドメインが、野生型TCR α 定常領域のアミノ酸48位における置換を含み、TCR β 定常領域ドメインが、野生型TCR β 定常領域のアミノ酸57位における置換を含む、実施形態506に記載のSTAR。

508.TCR α 定常領域ドメインが、野生型TCR α 定常領域のアミノ酸85位における置換を含み、TCR β 定常領域ドメインが、野生型TCR β 定常領域のアミノ酸88位における置換を含む、実施形態506または507に記載のSTAR。

509.第1のTCR定常領域ドメインが、TCR γ 定常領域ドメインであり、第2のTCR定常領域ドメインが、TCR δ 定常領域ドメインである、実施形態491から503のいずれか1つに記載のSTAR。

510.第1のTCR定常領域ドメインが、TCR δ 定常領域ドメインであり、第2のTCR定常領域ドメインが、TCR γ 定常領域ドメインである、実施形態491から503のいずれか1つに記載のSTAR。

511.ペプチドリinkerが、切断可能なペプチドリinkerである、実施形態491から510のいずれか1つに記載のSTAR。

512.ペプチドリinkerが、プロテアーゼ切断可能なペプチドリinkerである、実施形態511に記載のSTAR。

10

20

30

40

50

513. ペプチドリンカーが、配列 A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (配列番号 303) を含む、実施形態 491 から 512 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

514. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖、(ii) 第 1 の T C R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリンカー、(iv) 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖、および (v) 第 2 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 491 から 513 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

515. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖、(ii) 第 2 の T C R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリンカー、(iv) 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖、および (v) 第 1 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 491 から 513 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

516. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖、(ii) 第 1 の T C R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリンカー、(iv) 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖、および (v) 第 2 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 491 から 513 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

517. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖、(ii) 第 2 の T C R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリンカー、(iv) 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖、および (v) 第 1 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 491 から 513 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

518. 実施形態 1 から 384 のいずれかに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態 385 から 414 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質、実施形態 415 から 451 のいずれか 1 つに記載の C A R、実施形態 462 から 486 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質、実施形態 487 から 490 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体、または実施形態 491 から 517 のいずれか 1 つに記載の S T A R のコード領域を含む核酸。

519. コード領域が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている、実施形態 518 に記載の核酸。

520. 実施形態 518 または実施形態 519 に記載の核酸を含むベクター。

521. ウイルスベクターである、実施形態 520 に記載のベクター。

522. ウイルスベクターが、レンチウイルスベクターである、実施形態 521 に記載のベクター。

523. 実施形態 518 または実施形態 519 に記載の核酸を発現するように操作された宿主細胞。

524. ノイラミニダーゼ (E C 3.2.1.18 または E C 3.2.1.129) を発現するように操作された、実施形態 523 に記載の宿主細胞。

525. ノイラミニダーゼが、ミクロモノスポラ・ビリジファシエンス (*Micromonospora viridifaciens*) に由来する、実施形態 524 に記載の宿主細胞。

526. ノイラミニダーゼが、

【0566】

【化56】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

20

30

40

50

と少なくとも 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 524 または 525 に記載の宿主細胞。

527. ノイラミニダーゼが、

【0567】

【化57】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

と少なくとも 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 526 に記載の宿主細胞。

528. ノイラミニダーゼが、

【0568】

【化58】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

20

30

と少なくとも 97% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 526 に記載の宿主細胞。

529. ノイラミニダーゼが、

【0569】

【化59】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

40

と少なくとも 98% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 526 に記載の宿主細胞。

50

530. ノイラミニダーゼが、アミノ酸配列
【0570】
【化60】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSQGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

を含む、実施形態526に記載の宿主細胞。

531. ノイラミニダーゼが、宿主細胞の細胞表面で保持されている、実施形態524から530のいずれか1つに記載の宿主細胞。

532. ノイラミニダーゼが、宿主細胞によって分泌される、実施形態524から530のいずれか1つに記載の宿主細胞。

533. 実施形態395から451のいずれか1つに記載のCARを発現するように操作されたヒトT細胞である、実施形態523から532のいずれか1つに記載の宿主細胞。

20

534. 実施形態395から451のいずれか1つに記載のCARを発現するように操作されたヒトT細胞である、実施形態523から532のいずれか1つに記載の宿主細胞。

535. 実施形態395から451のいずれか1つに記載のCARを発現するように操作されたヒトNK細胞である、実施形態523から534のいずれか1つに記載の宿主細胞。

536. 実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質を発現するように操作されたヒトT細胞である、実施形態523から534のいずれか1つに記載の宿主細胞。

30

537. 実施形態487から489のいずれか1つに記載のTCR複合体を発現するように操作されたヒトT細胞である、実施形態523から534のいずれか1つに記載の宿主細胞。

538. 実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTARを発現するように操作されたヒトT細胞である、実施形態523から534のいずれか1つに記載の宿主細胞。

539. 実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクターを含む宿主細胞。

540. T細胞であり、ベクターが、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCARをコードする、実施形態539に記載の宿主細胞。

40

541. T細胞であり、ベクターが、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質をコードする、実施形態539に記載の宿主細胞。

542. T細胞であり、ベクターが、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTARをコードする、実施形態539に記載の宿主細胞。

543. (a) 実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施

50

形態 5 1 8 または実施形態 5 1 9 に記載の核酸、実施形態 5 2 0 から 5 2 2 のいずれか 1 つに記載のベクター、または実施形態 5 2 3 から 5 4 0 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞、および (b) 生理学的に好適な緩衝液、アジュバント、希釈剤、またはそれらの組合せを含む、医薬組成物。

5 4 4 . がんを処置する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の実施形態 1 から 3 8 4 のいずれかに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態 3 8 5 から 4 1 4 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質、実施形態 4 1 5 から 4 5 1 のいずれか 1 つに記載の C A R、実施形態 4 5 2 から 4 6 1 のいずれか 1 つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態 4 6 2 から 4 8 6 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質、実施形態 4 8 7 から 4 9 0 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体、実施形態 4 9 1 から 5 1 7 のいずれか 1 つに記載の S T A R、実施形態 5 1 8 もしくは実施形態 5 1 9 に記載の核酸、実施形態 5 2 0 から 5 2 2 のいずれか 1 つに記載のベクター、実施形態 5 2 3 から 5 4 2 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞、または実施形態 5 4 3 に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

5 4 5 . 対象が、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、もしくは頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、子宮頸がん、または子宮内膜がんに罹患している、実施形態 5 4 4 に記載の方法。

5 4 6 . 対象が、乳がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 4 7 . 対象が、肺がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 4 8 . 肺がんが、非小細胞肺がんである、実施形態 5 4 7 に記載の方法。

5 4 9 . 対象が、泌尿生殖器がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 0 . 泌尿生殖器がんが、前立腺がんである、実施形態 5 4 9 に記載の方法。

5 5 1 . 泌尿生殖器がんが、腎臓がんである、実施形態 5 4 9 に記載の方法。

5 5 2 . 対象が、膵臓がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 3 . 対象が、結腸直腸がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 4 . 対象が、卵巣がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 5 . 対象が、胃がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 6 . 対象が、頭頸部がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 7 . 頭頸部がんが、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) である、実施形態 5 5 6 に記載の方法。

5 5 8 . 対象が、皮膚がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 5 9 . 対象が、悪性黒色腫罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 6 0 . 対象が、肝臓がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 6 1 . 対象が、神経膠腫罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 6 2 . 対象が、甲状腺がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 6 3 . 対象が、子宮頸がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 6 4 . 対象が、子宮内膜がん罹患している、実施形態 5 4 5 に記載の方法。

5 6 5 . 生物学的サンプルでがんを検出する方法であって、サンプルを、実施形態 1 から 3 8 4 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントと接触させること、および抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントの結合を検出することを含む方法。

5 6 6 . 抗グリコ C D 4 4 抗体または抗原結合フラグメントの結合を定量化することを含む、実施形態 5 6 5 に記載の方法。

5 6 7 . 結合が、陰性／ベースライン対照としての正常な組織対照と、および／または陽性対照としてのがん性組織対照と比較される、実施形態 5 6 5 または実施形態 5 6 6 に記載の方法。

5 6 8 . がんが、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、子宮頸がん、または子宮内膜がんである、実施形態 5 6 5 から 5 6 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

569. がんが、乳がんである、実施形態568に記載の方法。
570. がんが、肺がんである、実施形態568に記載の方法。
571. 肺がんが、非小細胞肺がんである、実施形態570に記載の方法。
572. がんが、泌尿生殖器がんである、実施形態568に記載の方法。
573. がんが、前立腺がんである、実施形態572に記載の方法。
574. がんが、腎臓がんである、実施形態572に記載の方法。
575. がんが、膵臓がんである、実施形態568に記載の方法。
576. がんが、結腸直腸がんである、実施形態568に記載の方法。
577. がんが、卵巣がんである、実施形態568に記載の方法。
578. がんが、胃がんである、実施形態568に記載の方法。
579. がんが、頭頸部がんである、実施形態568に記載の方法。
580. 頭頸部がんが、HNSCCである、実施形態579に記載の方法。
581. がんが、皮膚がんである、実施形態568に記載の方法。
582. がんが、悪性黒色腫である、実施形態568に記載の方法。
583. がんが、肝臓がんである、実施形態568に記載の方法。
584. がんが、神経膠腫である、実施形態568に記載の方法。
585. がんが、甲状腺がんである、実施形態568に記載の方法。
586. がんが、子宮頸がんである、実施形態568に記載の方法。
587. がんが、子宮内膜がんである、実施形態568に記載の方法。

10

588. 実施形態391から394のいずれか1つに依存する場合、対象に、MICタンパク質ドメインに特異的に結合することが可能なNKG2D受容体を含むCARを発現するように操作された遺伝子改変されたT細胞を投与することをさらに含む、実施形態544から587のいずれか1つに記載の方法。

20

589. 医薬としての使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

30

590. 任意選択で乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん（例えば、前立腺がんもしくは腎臓がん）、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がんまたは子宮内膜がんであるがんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

40

591. 乳がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれ

50

か1つに記載のS T A R、実施形態5 1 8または実施形態5 1 9に記載の核酸、実施形態5 2 0から5 2 2のいずれか1つに記載のベクター、実施形態5 2 3から5 4 2のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態5 4 3に記載の医薬組成物。

5 9 2．任意選択で非小細胞肺がんである肺がんの処置における使用のための、実施形態1から3 8 4のいずれかに記載の抗グリコC D 4 4抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態3 8 5から4 1 4のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態4 1 5から4 5 1のいずれか1つに記載のC A R、実施形態4 5 2から4 6 1のいずれか1つに記載の抗体－薬物コンジュゲート、実施形態4 6 2から4 8 6のいずれか1つに記載のT C R融合タンパク質、実施形態4 8 7から4 9 0のいずれか1つに記載のT C R複合体、実施形態4 9 1から5 1 7のいずれか1つに記載のS T A R、実施形態5 1 8または実施形態5 1 9に記載の核酸、実施形態5 2 0から5 2 2のいずれか1つに記載のベクター、実施形態5 2 3から5 4 2のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態5 4 3に記載の医薬組成物。

10

5 9 3．泌尿生殖器がんの処置における使用のための、実施形態1から3 8 4のいずれかに記載の抗グリコC D 4 4抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態3 8 5から4 1 4のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態4 1 5から4 5 1のいずれか1つに記載のC A R、実施形態4 5 2から4 6 1のいずれか1つに記載の抗体－薬物コンジュゲート、実施形態4 6 2から4 8 6のいずれか1つに記載のT C R融合タンパク質、実施形態4 8 7から4 9 0のいずれか1つに記載のT C R複合体、実施形態4 9 1から5 1 7のいずれか1つに記載のS T A R、実施形態5 1 8または実施形態5 1 9に記載の核酸、実施形態5 2 0から5 2 2のいずれか1つに記載のベクター、実施形態5 2 3から5 4 2のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態5 4 3に記載の医薬組成物。

20

5 9 4．前立腺がんの処置における使用のための、実施形態1から3 8 4のいずれかに記載の抗グリコC D 4 4抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態3 8 5から4 1 4のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態4 1 5から4 5 1のいずれか1つに記載のC A R、実施形態4 5 2から4 6 1のいずれか1つに記載の抗体－薬物コンジュゲート、実施形態4 6 2から4 8 6のいずれか1つに記載のT C R融合タンパク質、実施形態4 8 7から4 9 0のいずれか1つに記載のT C R複合体、実施形態4 9 1から5 1 7のいずれか1つに記載のS T A R、実施形態5 1 8または実施形態5 1 9に記載の核酸、実施形態5 2 0から5 2 2のいずれか1つに記載のベクター、実施形態5 2 3から5 4 2のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態5 4 3に記載の医薬組成物。

30

5 9 5．腎臓がんの処置における使用のための、実施形態1から3 8 4のいずれかに記載の抗グリコC D 4 4抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態3 8 5から4 1 4のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態4 1 5から4 5 1のいずれか1つに記載のC A R、実施形態4 5 2から4 6 1のいずれか1つに記載の抗体－薬物コンジュゲート、実施形態4 6 2から4 8 6のいずれか1つに記載のT C R融合タンパク質、実施形態4 8 7から4 9 0のいずれか1つに記載のT C R複合体、実施形態4 9 1から5 1 7のいずれか1つに記載のS T A R、実施形態5 1 8または実施形態5 1 9に記載の核酸、実施形態5 2 0から5 2 2のいずれか1つに記載のベクター、実施形態5 2 3から5 4 2のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態5 4 3に記載の医薬組成物。

40

5 9 6．膵臓がんの処置における使用のための、実施形態1から3 8 4のいずれかに記載の抗グリコC D 4 4抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態3 8 5から4 1 4のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態4 1 5から4 5 1のいずれか1つに記載のC A R、実施形態4 5 2から4 6 1のいずれか1つに記載の抗体－薬物コンジュゲート、実施形態4 6 2から4 8 6のいずれか1つに記載のT C R融合タンパク質、実施形態4 8 7から4 9 0のいずれか1つに記載のT C R複合体、実施形態4 9 1から5 1 7のいずれか1つに記載のS T A R、実施形態5 1 8または実施形態5 1 9に記載の核酸、実施形態5 2 0から5 2 2のいずれか1つに記載のベクター、実施形態5 2 3から5 4 2のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態5 4 3に記載の医薬組成物。

5 9 7．結腸直腸がんの処置における使用のための、実施形態1から3 8 4のいずれか

50

に記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

598. 卵巣がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

599. 胃がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

600. 任意選択でHNSCCである頭頸部がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

601. 皮膚がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

602. 悪性黒色腫の処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態

10

20

30

40

50

487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

603. 肝臓がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

10

604. 神経膠腫の処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

20

605. 甲状腺がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

30

606. 子宮頸がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

40

607. 子宮内膜がんの処置における使用のための、実施形態1から384のいずれかに記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物。

608. がんの処置のための医薬の製造のための、実施形態1から384のいずれかに

50

記載の抗グリコCD44抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態385から414のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態415から451のいずれか1つに記載のCAR、実施形態452から461のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態462から486のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態487から490のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態491から517のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態518または実施形態519に記載の核酸、実施形態520から522のいずれか1つに記載のベクター、実施形態523から542のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態543に記載の医薬組成物の使用であって、任意選択でがんが、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん（例えば、前立腺がんもしくは腎臓がん）、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がんまたは子宮内膜がんである、使用。

10

609. がんが、乳がんである、実施形態608に記載の使用。

610. がんが、肺がんである、実施形態608に記載の使用。

611. がんが、非小細胞肺がんである、実施形態610に記載の使用。

612. がんが、泌尿生殖器がんである、実施形態608に記載の使用。

613. がんが、前立腺がんである、実施形態612に記載の使用。

614. がんが、腎臓がんである、実施形態612に記載の使用。

615. がんが、膵臓がんである、実施形態608に記載の使用。

616. がんが、結腸直腸がんである、実施形態608に記載の使用。

617. がんが、卵巣がんである、実施形態608に記載の使用。

20

618. がんが、胃がんである、実施形態608に記載の使用。

619. がんが、頭頸部がんである、実施形態608に記載の使用。

620. 頭頸部がんが、HNSCCである、実施形態619に記載の使用。

621. がんが、皮膚がんである、実施形態608に記載の使用。

622. がんが、悪性黒色腫である、実施形態608に記載の使用。

623. がんが、肝臓がんである、実施形態608に記載の使用。

624. がんが、神経膠腫である、実施形態608に記載の使用。

625. がんが、甲状腺がんである、実施形態608に記載の使用。

626. がんが、子宮頸がんである、実施形態608に記載の使用。

627. がんが、子宮内膜がんである、実施形態608に記載の使用。

30

628. 配列番号165のアミノ酸4~13を含む、長さが12~30個のアミノ酸のペプチド。

629. 長さが15~25個のアミノ酸である、実施形態628に記載のペプチド。

630. 長さが18~20個のアミノ酸である、実施形態628に記載のペプチド。

631. 配列番号165からなる、実施形態628に記載のペプチド。

632. 配列番号165の5位に対応するスレオニンおよび／または配列番号165の12位に対応するセリンでO-グリコシル化された、実施形態628から631のいずれか1つに記載のペプチド。

633. O-グリコシル化が、GalNAcを含むか、またはそれからなる、実施形態632に記載のペプチド。

40

634. 実施形態632または実施形態633に記載のペプチド、およびアジュバントを含む、組成物。

635. アジュバントが、フロイントアジュバントおよび／またはアルミニウム塩（例えば、水酸化アルミニウム）を含む、実施形態634に記載の組成物。

636. CD44v6の腫瘍関連形態に対する抗体を生成する方法であって、動物に、実施形態632もしくは実施形態633に記載のペプチド、または実施形態634もしくは実施形態635に記載の組成物を投与することを含む方法。

637. 動物から抗体を収集することをさらに含む、実施形態636に記載の方法。

638. CD44v6の腫瘍関連形態に対する免疫応答を誘発する方法であって、対象に、実施形態538もしくは実施形態539に記載のペプチド、または実施形態634も

50

しくは実施形態 635 に記載の組成物を投与することを含む方法。

639. 動物が、マウスまたはウサギである、実施形態 636 から 638 のいずれか 1 つに記載の方法。

8. 2 具体的な実施形態、群 I I

1. (a) 表 4A ~ 4D に記載の CDR-H1、CDR-H2 および CDR-H3 のいずれかの組合せを含む重鎖可変領域 (VH) であって、任意選択で：

(i) CDR-H1 が、HV1-18 コンセンサス CDR-H1 または HV1-69 コンセンサス CDR-H1 のアミノ酸配列を有し；

(ii) CDR-H2 が、HV1-18 コンセンサス CDR-H2 または HV7-4-1 コンセンサス CDR-H2 のアミノ酸配列を有し；

(iii) CDR-H3 が、HV1-18 コンセンサス CDR-H3、HV1-46 コンセンサス CDR-H3、または HV7-4-1 コンセンサス CDR-H3 のアミノ酸配列を有する、VH と、

(b) 表 4E ~ 4G に記載の CDR-L1、CDR-L2 および CDR-L3 のいずれかの組合せを含む軽鎖可変領域 (VL) であって、任意選択で：

(i) CDR-L1 が、LV7-43 コンセンサス CDR-L1、LV7-43 C CDR-L1、LV7-46 C CDR-L1、または LV8-61 C CDR-L1 のアミノ酸配列を有し；

(ii) CDR-L2 が、LV7-43 コンセンサス CDR-L2 のアミノ酸配列を有し；

(iii) CDR-L3 が、LV7-43 コンセンサス CDR-L3 のアミノ酸配列を有する、VL と

を含む、抗体またはその抗原結合フラグメント。

2. 配列番号 165 のアミノ酸 5 位のスレオニンおよび配列番号 165 のアミノ酸 12 位のセリン上で Ga l N A c でグリコシル化された CD44v6 グリコペプチド G Y R Q T P K E D S H S T T G T A A A (配列番号 165) に結合する、実施形態 1 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

3. (i) COSMC ノックアウト H a C a T 細胞に特異的に結合し、かつ／または (ii) CD44 を組換え発現する COSMC ノックアウト H E K 2 9 3 細胞に特異的に結合する、実施形態 1 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

4. CDR-H1 が、HV1-18 コンセンサス CDR-H1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

5. CDR-H1 が、HV1-69 コンセンサス CDR-H1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 3 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

6. CDR-H2 が、HV1-18 コンセンサス CDR-H2 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 5 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

7. CDR-H2 が、HV7-4-1 コンセンサス CDR-H2 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 5 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

8. CDR-H3 が、HV1-18 コンセンサス CDR-H3 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 7 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

9. CDR-H3 が、HV1-46 コンセンサス CDR-H3 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 7 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10. CDR-H3 が、HV7-4-1 コンセンサス CDR-H3 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 7 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

11. CDR-L1 が、LV7-43 コンセンサス CDR-L1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 10 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

12. CDR-L1 が、LV7-43 C CDR-L1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 10 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

13. CDR-L1 が、LV7-46 C CDR-L1 のアミノ酸配列を含む、実施形態 1 から 10 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

14. CDR-L1が、LV8-61C CDR-L1のアミノ酸配列を含む、実施形態1から10のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

15. 任意選択で実施形態1から14のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメントである抗体または抗原結合フラグメントであって、ヒト化されており：

(a) (i) HV1-18A、HV1-18B、HV1-18CまたはHV1-18コンセンサスと命名されたVH；

(ii) HV1-46A、HV1-46B、HV1-46CまたはHV1-46コンセンサスと命名されたVH；

(iii) HV1-69A、HV1-69B、HV1-69CまたはHV1-69コンセンサスと命名されたVH；または

(iv) HV7-4-1A、HV7-4-1B、HV7-4-1CまたはHV7-4-1コンセンサスと命名されたVH

と少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVHと、

(b) (i) LV7-43A、LV7-43B、LV7-43CまたはLV7-43コンセンサスと命名されたVL；

(ii) LV7-46A、LV7-46B、LV7-436またはLV7-46コンセンサスと命名されたVL；または

(iii) LV8-61A、LV8-61B、LV8-61CまたはLV8-61コンセンサスと命名されたVL

と少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLと

を含み、

抗体または抗原結合フラグメントが、ヒト化抗体または抗原フラグメントである、抗体または抗原結合フラグメント。

16. HV1-18Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43A、LV7-46AまたはLV8-61Aと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

17. HV1-18Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43B、LV7-46BまたはLV8-61Bと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

18. HV1-18Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43C、LV7-46CまたはLV8-61Cと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

19. HV1-18Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43コンセンサス、LV7-46コンセンサスまたはLV8-61コンセンサスと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

20. HV1-18Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43A、LV7-46AまたはLV8-61Aと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

21. HV1-18Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43B、LV7-46BまたはLV8-61Bと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

22. HV1-18Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43C、LV7-46CまたはLV8-61Cと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15

10

20

30

40

50

35. HV1-46Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性

50

47. HV1-46 コンセンサスと命名された VH と少なくとも 95% 同一の第 1 の配列の同一性を有する VH、および LV7-43 コンセンサス、LV7-46 コンセンサスまたは LV8-61 コンセンサスと命名された VL と少なくとも 95% 同一の第 2 の配列

の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

48. HV1-69Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43A、LV7-46AまたはLV8-61Aと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

49. HV1-69Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43B、LV7-46BまたはLV8-61Bと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

50. HV1-69Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43C、LV7-46CまたはLV8-61Cと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

51. HV1-69Aと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43コンセンサス、LV7-46コンセンサスまたはLV8-61コンセンサスと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

52. HV1-69Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43A、LV7-46AまたはLV8-61Aと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

53. HV1-69Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43B、LV7-46BまたはLV8-61Bと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

54. HV1-69Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43C、LV7-46CまたはLV8-61Cと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

55. HV1-69Bと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43コンセンサス、LV7-46コンセンサスまたはLV8-61コンセンサスと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

56. HV1-69Cと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43A、LV7-46AまたはLV8-61Aと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

５７．HV 1-69Cと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV 7-43B、LV 7-46BまたはLV 8-61Bと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

58. HV1-69Cと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43C、LV7-46CまたはLV8-61Cと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

59. HV1-69Cと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43コンセンサス、LV7-46コンセンサスまたはLV8-61コンセンサスと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態15に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

60. HV1-69 コンセンサスと命名された VH と少なくとも 95% 同一の第 1 の配

10

20

30

40

50

72. HV7-4-1Cと命名されたVHと少なくとも95%同一の第1の配列の同一性を有するVH、およびLV7-43A、LV7-46AまたはLV8-61Aと命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列の同一性を有するVLを含む、実施形態1

50

5 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

73. H V 7-4-1 C と命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 B、L V 7-46 B または L V 8-61 B と命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

74. H V 7-4-1 C と命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 C、L V 7-46 C または L V 8-61 C と命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

75. H V 7-4-1 C と命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 コンセンサス、L V 7-46 コンセンサスまたは L V 8-61 コンセンサスと命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

76. H V 7-4-1 コンセンサスと命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 A、L V 7-46 A または L V 8-61 A と命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

77. H V 7-4-1 コンセンサスと命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 B、L V 7-46 B または L V 8-61 B と命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

78. H V 7-4-1 コンセンサスと命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 C、L V 7-46 C または L V 8-61 C と命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

79. H V 7-4-1 コンセンサスと命名された V H と少なくとも 95 % 同一の第 1 の配列の同一性を有する V H、および L V 7-43 コンセンサス、L V 7-46 コンセンサスまたは L V 8-61 コンセンサスと命名された V L と少なくとも 95 % 同一の第 2 の配列の同一性を有する V L を含む、実施形態 15 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

80. 第 1 の配列の同一性が、少なくとも 97 % である、実施形態 15 から 79 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

81. 第 1 の配列の同一性が、少なくとも 99 % である、実施形態 15 から 79 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

82. 第 1 の配列の同一性が、100 % である、実施形態 15 から 79 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

83. 第 2 の配列の同一性が、少なくとも 97 % である、実施形態 15 から 79 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

84. 第 2 の配列の同一性が、少なくとも 99 % である、実施形態 15 から 79 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

85. 第 2 の配列の同一性が、100 % である、実施形態 15 から 79 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

86. (a) 表 4 A ~ 4 D に記載の C D R-H 1、C D R-H 2 および C D R-H 3 のいずれかの組合せを含む重鎖可変領域 (V H) であって、任意選択で：

(i) C D R-H 1 が、H V 1-18 コンセンサス C D R-H 1 (配列番号 3) または H V 1-69 コンセンサス C D R-H 1 (配列番号 273) のアミノ酸配列を有し；

(i i) C D R-H 2 が、H V 1-18 コンセンサス C D R-H 2 (配列番号 4) または H V 7-4-1 コンセンサス C D R-H 2 (配列番号 275) のアミノ酸配列を有し；

(i i i) C D R-H 3 が、H V 1-18 コンセンサス C D R-H 3 (配列番号 26

10

20

30

40

50

4)、HV1-46 コンセンサスCDR-H3 (配列番号268)、またはHV7-4-1 コンセンサスCDR-H3 (配列番号5) のアミノ酸配列を有する、VHと；

(b) 表4E~4Gに記載のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3のいずれかの組合せを含む軽鎖可変領域(VL)であって、任意選択で；

(i) CDR-L1が、LV7-43 コンセンサスCDR-L1 (配列番号6)、LV7-43C CDR-L1 (配列番号280)、LV7-46C CDR-L1 (配列番号284)、またはLV8-61C CDR-L1 (配列番号288) のアミノ酸配列を有し；

(ii) CDR-L2が、LV7-43 コンセンサスCDR-L2 (配列番号7) のアミノ酸配列を有し；

(iii) CDR-L3が、LV7-43 コンセンサスCDR-L3 (配列番号8) のアミノ酸配列を有する、VLと

を含む、ヒト化抗体またはその抗原結合フラグメント。

87. (a) (i) それぞれ、配列番号3、4および264のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3；

(ii) それぞれ、配列番号3、4および268のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3；

(iii) それぞれ、配列番号273、4および268のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3；

(iv) それぞれ、配列番号3、275および5のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3；または

(v) それぞれ、配列番号273、275および5のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含むVHと；

(b) (i) それぞれ、配列番号6、7および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3；

(ii) それぞれ、配列番号280、7および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3；

(iii) それぞれ、配列番号284、7および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3；または

(iv) それぞれ、配列番号288、7および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3

を含むVLと

を含む、実施形態86に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

88. (a) それぞれ、配列番号3、4、および264のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVH、ならびにそれぞれ、配列番号6、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVL；または

(b) それぞれ、配列番号3、275、および5のアミノ酸配列を有するCDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3を含むVH、ならびにそれぞれ、配列番号6、7、および8のアミノ酸配列を有するCDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3を含むVL

を含む、実施形態87に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

89. 任意選択で実施形態86から88のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメントである抗体または抗原結合フラグメントであって、ヒト化されており；

(a) (i) HV1-18A (配列番号263)、HV1-18B (配列番号265)、HV1-18C (配列番号266) またはHV1-18 コンセンサス (配列番号265) と命名されたVH；

(ii) HV1-46A (配列番号267)、HV1-46B (配列番号269)、HV1-46C (配列番号270) またはHV1-46 コンセンサス (配列番号269)

10

20

30

40

50

と命名された V H ;

(i i i) H V 1 - 6 9 A (配列番号 2 7 1) 、 H V 1 - 6 9 B (配列番号 2 7 2) 、 H V 1 - 6 9 C (配列番号 2 7 4) または H V 1 - 6 9 コンセンサス (配列番号 2 7 2) と命名された V H ; または

(i v) H V 7 - 4 - 1 A (配列番号 2 7 1) 、 H V 7 - 4 - 1 B (配列番号 2 7 2) 、 H V 7 - 4 - 1 C (配列番号 2 7 4) または H V 7 - 4 - 1 コンセンサス (配列番号 2 7 6) と命名された V H

と少なくとも 9 5 % 同一の第 1 の配列を有する V H と、

(b) (i) L V 7 - 4 3 A (配列番号 2 7 7) 、 L V 7 - 4 3 B (配列番号 2 7 8) 、 L V 7 - 4 3 C (配列番号 2 7 9) または L V 7 - 4 3 コンセンサス (配列番号 2 7 8) と命名された V L ;

(i i) L V 7 - 4 6 A (配列番号 2 8 1) 、 L V 7 - 4 6 B (配列番号 2 8 2) 、 L V 7 - 4 3 6 (配列番号 2 8 3) または L V 7 - 4 6 コンセンサス (配列番号 2 8 2) と命名された V L ; または

(i i i) L V 8 - 6 1 A (配列番号 2 8 5) 、 L V 8 - 6 1 B (配列番号 2 8 6) 、 L V 8 - 6 1 C (配列番号 2 8 7) または L V 8 - 6 1 コンセンサス (配列番号 2 8 6) と命名された V L

と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L と

を含み、

抗体または抗原結合フラグメントが、ヒト化抗体または抗原フラグメントである、抗体または抗原結合フラグメント。

9 0 . (a) H V 1 - 1 8 A (配列番号 2 6 3) と命名された V H と少なくとも 9 5 % 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 3 A (配列番号 2 7 7) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L ;

(b) H V 7 - 4 - 1 A (配列番号 2 7 1) と命名された V H と少なくとも 9 5 % 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 3 A (配列番号 2 7 7) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L ;

(c) H V 1 - 1 8 A (配列番号 2 6 3) と命名された V H と少なくとも 9 5 % 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 6 A (配列番号 2 8 1) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L ; または

(d) H V 7 - 4 - 1 A (配列番号 2 7 1) と命名された V H と少なくとも 9 5 % 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 6 A (配列番号 2 8 1) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L

を含む、実施形態 8 9 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

9 1 . H V 1 - 1 8 A (配列番号 2 6 3) と命名された V H と少なくとも 9 5 % (例えば、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 7 % 、少なくとも 9 9 % 、または 1 0 0 %) 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 3 A (配列番号 2 7 7) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L を含む、実施形態 8 9 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

9 2 . H V 7 - 4 - 1 A (配列番号 2 7 1) と命名された V H と少なくとも 9 5 % (例えば、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 7 % 、少なくとも 9 9 % 、または 1 0 0 %) 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 3 A (配列番号 2 7 7) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L を含む、実施形態 8 9 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

9 3 . H V 1 - 1 8 A (配列番号 2 6 3) と命名された V H と少なくとも 9 5 % (例えば、少なくとも 9 5 % 、少なくとも 9 7 % 、少なくとも 9 9 % 、または 1 0 0 %) 同一の第 1 の配列を有する V H 、および L V 7 - 4 6 A (配列番号 2 8 1) と命名された V L と少なくとも 9 5 % 同一の第 2 の配列を有する V L を含む、実施形態 8 9 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

9 4 . H V 7 - 4 - 1 A (配列番号 2 7 1) と命名された V H と少なくとも 9 5 % (例

10

20

30

40

50

えば、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも99%、または100%)同一の第1の配列を有するVH、およびLV7-46A(配列番号281)と命名されたVLと少なくとも95%同一の第2の配列を有するVLを含む、実施形態89に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

95. 配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位のセリン上でGalNAcでグリコシル化されたCD44v6グリコペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTAAA(配列番号165)に結合する、実施形態86から94のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

96. (i) COSMCノックアウトHaCaT細胞に特異的に結合し、かつ/または(ii)CD44を組換え発現するCOSMCノックアウトHEK293細胞に特異的に結合する、実施形態86から95のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

97. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~200nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

98. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~150nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

99. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~100nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

100. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~50nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

101. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~25nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

102. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~15nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

103. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1nM~10nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

104. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5nM~200nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

105. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5nM~100nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2から85および95または96のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

106. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5nM~50nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態2

10

20

30

40

50

から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

107. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM ~ 25 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

108. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM ~ 10 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

109. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM ~ 200 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

110. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM ~ 100 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

111. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM ~ 50 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

112. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM ~ 25 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

113. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM ~ 200 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

114. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM ~ 100 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

115. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、100 nM ~ 200 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

116. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、100 nM ~ 150 nM の結合親和性 (KD) で CD44v6 グリコペプチドに結合する、実施形態 2 から 85 および 95 または 96 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

117. CD44v6 グリコペプチドへの結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定される通りである、実施形態 97 から 116 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

118. 表面プラズモン共鳴による測定が、分析物としての CD44v6 グリコペプチドの飽和濃度で行われ、抗体または抗原結合フラグメントが、固定化リガンドである、実施形態 117 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

119. CD44v6 グリコペプチドへの結合親和性が、バイオレイヤー干渉法によって測定される通りである、実施形態 97 から 116 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗

10

20

30

40

50

原結合フラグメント。

120. バイオレイヤー干渉法による測定が、分析物としての抗体または抗原結合フラグメント、および固定化リガンドとしてのCD44v6グリコペプチドを用いて行われる、実施形態119に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

121. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA A A (配列番号333) (「グリコシル化されていないCD44v6ペプチド」) に特異的に結合しない、実施形態2から120のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

122. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか (例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態121に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

123. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか (例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態121に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

20

124. 第1のグリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか (例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態121に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

125. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか (例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態121に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

30

126. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか (例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態121に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

40

127. グリコシル化されていないCD44v6ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたはグリコシル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか (例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態121に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

50

128. 精製した組換えヒトグリコシルトランスフェラーゼ Ga l N A c - T 1、Ga l N A c - T 2、および Ga l N A c - T 4 を使用してインビトロでグリコシル化された M U C 1 タンデムリピート (V T S A P D T R P A P G S T A P P A H G)₃ (配列番号 205) (「第1の M U C 1 グリコペプチド」) に特異的に結合しない、実施形態 2 から 120 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

129. 第1の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1.5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 128 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

130. 第1の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1.5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 128 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

131. 第1の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1.5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 128 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

132. 第1の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1.5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 128 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

133. 第1の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1.5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 128 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

134. 第1の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1.5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 128 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

135. 下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上で Ga l N A c によりインビトロでグリコシル化された M U C 1 T A P P A H G V T S A P D T R P A P G S T A P P A H G V T (配列番号 262) (「第2の M U C 1 グリコペプチド」) に特異的に結合しない、実施形態 2 から 120 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

136. 第2の M U C 1 グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたは第1の M U C 1 グリコペプチ

10

20

30

40

50

ドのいずれかの存在下で測定され、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態135に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

137. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれかの存在下で測定され、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態135に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

138. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態135に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

20

139. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態135に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

140. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態135に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

30

141. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態135に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

142. 多価である、実施形態1から141のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

40

143. 抗原結合フラグメントである、実施形態1から141のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

144. 抗原結合フラグメントが、単鎖可変フラグメント（scFv）の形態である、実施形態143に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

145. scFvが、軽鎖可変フラグメントのN末端側に重鎖可変フラグメントを含む、実施形態144に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

146. scFvが、軽鎖可変フラグメントのC末端側に重鎖可変フラグメントを含む、実施形態144に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

147. scFv重鎖可変フラグメントおよび軽鎖可変フラグメントが、任意選択で4～15アミノ酸であるリンカー配列によって共有結合している、実施形態144から14

50

6 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

148. 多重特異性抗体の形態である、実施形態 1 から 141 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

149. 多重特異性抗体が、第 1 のエピトープとは異なる第 2 のエピトープに結合する二重特異性抗体である、実施形態 148 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

150. 二重特異性抗体が、ボトルオープナー、mAb-Fv、mAb-scFv、中心-scFv、1 アーム中心-scFv、または二重 scFv 様式の二重特異性抗体である、実施形態 149 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

151. 二重特異性抗体が、ボトルオープナー様式の二重特異性抗体である、実施形態 150 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

152. 二重特異性抗体が、mAb-Fv 様式の二重特異性抗体である、実施形態 150 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

153. 二重特異性抗体が、mAb-scFv 様式の二重特異性抗体である、実施形態 150 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

154. 二重特異性抗体が、中心-scFv 様式の二重特異性抗体である、実施形態 150 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

155. 二重特異性抗体が、1 アーム中心-scFv 様式の二重特異性抗体である、実施形態 150 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

156. 二重特異性抗体が、二重 scFv 様式の二重特異性抗体である、実施形態 150 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

157. 二重特異性抗体が、二重特異性ドメイン交換抗体（例えば、CrossMab）、Fab アーム交換抗体、二重特異性 T 細胞エンゲージャー（BiTE）、または二重親和性リターゲティング分子（DART）である、実施形態 149 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

158. 二重特異性抗体が、二重特異性ドメイン交換抗体（例えば、CrossMab）である、実施形態 157 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

159. 二重特異性抗体が、重鎖と軽鎖との間のドメインの交差を有する Fab アームを含む二重特異性 IgG（例えば、CrossMabFAB）である、実施形態 158 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

160. 二重特異性抗体が、可変重鎖と可変軽鎖との間のドメインの交差を有する Fab アームを含む二重特異性 IgG（例えば、CrossMabVH-VL）である、実施形態 158 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

161. 二重特異性抗体が、定常重鎖と定常軽鎖との間のドメインの交差を有する Fab アームを含む二重特異性 IgG（例えば、CrossMabCH1-CL）である、実施形態 158 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

162. 二重特異性抗体が、Fab アーム交換抗体である、実施形態 158 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

163. 二重特異性抗体が、二重親和性リターゲティング分子（DART）である、実施形態 158 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

164. 二重特異性抗体が、二重特異性 T 細胞エンゲージャー（BiTE）である、実施形態 158 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

165. 第 2 のエピトープが、CD44 エピトープである、実施形態 149 から 164 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

166. 第 2 のエピトープが、正常細胞と比較して、がん細胞上で過剰発現される CD44 エピトープである、実施形態 149 から 164 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

167. 第 2 のエピトープが、T 細胞エピトープである、実施形態 149 から 164 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

168. T 細胞エピトープが、CD3 エピトープ、CD8 エピトープ、CD16 エピトープ、CD25 エピトープ、CD28 エピトープ、または NKG2D エピトープを含む、

10

20

30

40

50

実施形態 167 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

169. T細胞エпитープが、任意選択でヒトCD3に存在するエпитープであるCD3エпитープを含む、実施形態168に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

170. CD3エпитープが、CD3ガンマエпитープ、CD3デルタエпитープ、CD3イプシロンエпитープ、またはCD3ゼータエпитープを含む、実施形態169に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

171. 検出可能な部分にコンジュゲートされている、実施形態1から170のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

172. 検出可能な部分が、酵素、放射性同位体、または蛍光標識である、実施形態171に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

173. 少なくとも第2のアミノ酸配列に作動可能に連結した、実施形態1から172のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメントのアミノ酸配列を含む融合タンパク質。

174. 第2のアミノ酸配列が、4-1BB、CD2、CD3-ゼータ、またはそのフラグメントのアミノ酸配列を含む、実施形態173に記載の融合タンパク質。

175. 第2のアミノ酸配列が、融合ペプチドのアミノ酸配列である、実施形態173に記載の融合タンパク質。

176. 融合ペプチドが、CD28-CD3-ゼータ、4-1BB(CD137)-CD3-ゼータ融合ペプチド、CD2-CD3-ゼータ融合ペプチド、CD28-CD2-CD3-ゼータ融合ペプチド、または4-1BB(CD137)-CD2-CD3-ゼータ融合ペプチドである、実施形態175に記載の融合タンパク質。

177. 第2のアミノ酸配列が、T細胞活性化のモジュレーターまたはそのフラグメントのアミノ酸配列である、実施形態173に記載の融合タンパク質。

178. T細胞活性化のモジュレーターが、IL-15またはIL-15R α である、実施形態177に記載の融合タンパク質。

179. 第2のアミノ酸配列が、MICタンパク質ドメインのアミノ酸配列である、実施形態173に記載の融合タンパク質。

180. MICタンパク質ドメインが、 $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインである、実施形態179に記載の融合タンパク質。

181. $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインが、MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3、ULBP4、ULBP5、ULBP6、またはOMCP $\alpha 1-\alpha 2$ ドメインである、実施形態180に記載の融合タンパク質。

182. MICタンパク質ドメインが、操作されたMICタンパク質ドメインである、実施形態179から181のいずれか1つに記載の融合タンパク質。

183. 第2のアミノ酸配列が、ノイラミニダーゼ(EC 3.2.1.18またはEC 3.2.1.129)のアミノ酸配列である、実施形態173に記載の融合タンパク質。

184. ノイラミニダーゼアミノ酸配列が、ミクロモノスポラ・ビリジファシエンス(*Micromonospora viridifaciens*)に由来する、実施形態183に記載の融合タンパク質。

185. ノイラミニダーゼが、
【0571】

10

20

30

40

50

【化 6 1】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

と少なくとも 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 184 に記載の
融合タンパク質。

186. ノイラミニダーゼが、

【0572】

【化 6 2】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

20

と少なくとも 97% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 184 に記載の
融合タンパク質。

30

187. ノイラミニダーゼが、

【0573】

【化 6 3】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

40

と少なくとも 98% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 184 に記載の
融合タンパク質。

188. ノイラミニダーゼが、

【0574】

50

【化 6 4】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

と少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 184 に記載の融合タンパク質。

189. ノイラミニダーゼが、アミノ酸配列

【0575】

【化 6 5】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

20

を含む、実施形態 184 に記載の融合タンパク質。

190. シグナル配列を含む、実施形態 183 から 189 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

30

191. シグナル配列が、グラニューライシンシグナル配列である、実施形態 190 に記載の融合タンパク質。

192. シグナル配列が、グランザイム K シグナル配列である、実施形態 190 に記載の融合タンパク質。

193. シグナル配列が、NPY シグナル配列である、実施形態 190 に記載の融合タンパク質。

194. シグナル配列が、IFN シグナル配列である、実施形態 190 に記載の融合タンパク質。

195. 自己切断ペプチド配列を含む、実施形態 183 から 194 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質。

40

196. 自己切断ペプチド配列が、2A ペプチドである、実施形態 195 に記載の融合タンパク質。

197. 2A ペプチドが、T2A である、実施形態 196 に記載の融合タンパク質。

198. 実施形態 143 から 147 のいずれか 1 つに記載の 1 つまたは複数の抗原結合フラグメントを含む、キメラ抗原受容体 (CAR)。

199. 実施形態 142 から 145 のいずれか 1 つに記載の 1 つまたは複数の scFv を含む、実施形態 198 に記載の CAR。

200. 実施形態 142 から 145 のいずれか 1 つに記載の 1 つの scFv を含む、実施形態 199 に記載の CAR。

50

201. 実施形態142から145のいずれか1つに記載の2つのs c F vを含む、実施形態199に記載のCAR。

202. 2つのs c F vが、同じアミノ酸配列を有する、実施形態201に記載のCAR。

203. 2つのs c F vが、任意選択で4～15個のアミノ酸であるリンカー配列によって共有結合している、実施形態201または202に記載のCAR。

204. アミノ末端からカルボキシ末端への順序で：(i) 1つまたは複数の抗原結合フラグメント、(ii) 膜貫通ドメイン、および(iii) 細胞内シグナル伝達ドメインを含む、実施形態198から203のいずれか1つに記載のCAR。

205. 膜貫通ドメインが、CD28膜貫通ドメインを含む、実施形態204に記載のCAR。

206. CD28膜貫通ドメインが、アミノ酸配列FWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWV（配列番号186）を含む、実施形態205に記載のCAR。

207. 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む、実施形態204から206のいずれか1つに記載のCAR。

208. 共刺激シグナル伝達領域が、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、LIGHT、NKG2C、B7-H3、CD83と特異的に結合するリガンド、DAP10、GITR、またはそれらの組合せの細胞質ドメインを含む、実施形態207に記載のCAR。

209. 共刺激シグナル伝達ドメインが、CD2の細胞質ドメインを含む、実施形態208に記載のCAR。

210. CD2の細胞質ドメインが、アミノ酸配列

【0576】

【化66】

TKRKKQRSRRNDEELETRAHRVATEERGRKPHQIPASTPQNPATSQHPPPPPGHRSQAPSH
RPPPPGHRVQHQPQKRPPAPSGTQVHQKGPPLPRPRVQPKPPHGAAENSLSPSSN (配列
番号289)

を含む、実施形態209に記載のCAR。

211. 共刺激シグナル伝達ドメインが、CD28の細胞質ドメインを含む、実施形態208から210のいずれか1つに記載のCAR。

212. CD28の細胞質ドメインが、アミノ酸配列RSKRSRL LHS DY MNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRS（配列番号179）を含む、実施形態211に記載のCAR。

213. 細胞内シグナル伝達ドメインが、T細胞シグナル伝達ドメインを含む、実施形態204から212のいずれか1つに記載のCAR。

214. T細胞シグナル伝達ドメインが、共刺激シグナル伝達領域のC末端側にある、実施形態213に記載のCAR。

215. T細胞シグナル伝達ドメインが、CD3-ゼータシグナル伝達ドメインを含む、実施形態211または214に記載のCAR。

216. CD3-ゼータシグナル伝達ドメインが、アミノ酸配列

【0577】

10

20

30

40

50

【化 6 7】

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (配列
番号 180)

を含む、実施形態 215 に記載の CAR。

217. 1つもしくは複数の抗体フラグメント、または 1つもしくは複数の scFv の N 末端側にシグナルペプチドをさらに含む、実施形態 204 から 216 のいずれか 1 つに記載の CAR。 10

218. シグナルペプチドが、ヒト CD8 シグナルペプチドである、実施形態 217 に記載の CAR。

219. ヒト CD8 シグナルペプチドが、アミノ酸配列 MALPVTALLLPALLLHAARP (配列番号 175) を含む、実施形態 218 に記載の CAR。

220. 1つまたは複数の抗原結合フラグメントと膜貫通ドメインとの間にヒンジをさらに含む、実施形態 193 から 206 のいずれか 1 つに記載の CAR。

221. ヒンジが、ヒト CD8 a ヒンジを含む、実施形態 220 に記載の CAR。

222. ヒト CD8 a ヒンジが、アミノ酸配列 TTTTPAPRPPTTAPPTIASPLSLRPEACRPAAAGGAVHTRGLDFAC (配列番号 203) を含む、実施形態 221 に記載の CAR。 20

223. ヒト CD8 a ヒンジが、アミノ酸配列 TTTTPAPRPPTTAPPTIASPLSLRPEACRPAAAGGAVHTRGLDFACD (配列番号 176) を含む、実施形態 221 に記載の CAR。

224. ヒンジが、アミノ酸配列 ESKYGPPPCPSCP (配列番号 177) を含むヒト IgG4-短鎖ヒンジを含む、実施形態 218 に記載の CAR。

225. ヒンジが、アミノ酸配列

【0578】

【化 6 8】

ESKYGPPCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGKM (配列番号 178)

30

を含むヒト IgG4-長鎖ヒンジを含む、実施形態 218 に記載の CAR。

226. 細胞傷害性物質にコンジュゲートした、実施形態 1 から 172 の 1 つに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、または実施形態 173 から 197 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質を含む抗体-薬物コンジュゲート。 40

227. 細胞傷害性物質が、オーリスタチン、DNA 副溝結合剤、アルキル化剤、エンジイン、レキシトロブシン、デュオカルマイシン、タキサン、ドラスタチン、メイタンシノイド、ピンカルカロイドまたはアamaniチン毒である、実施形態 226 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

228. 抗体もしくは抗原結合フラグメントまたは二重特異性抗体が、リンカーを介して細胞傷害性物質にコンジュゲートされている、実施形態 226 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

229. リンカーが、細胞内条件下で切断可能である、実施形態 228 に記載の抗体-薬物コンジュゲート。

230. 切断可能なリンカーが、細胞内のプロテアーゼによって切断可能である、実施

50

形態 2 2 9 に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

2 3 1. リンカーが、ジペプチドを含む、実施形態 2 3 0 に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

2 3 2. ジペプチドが、*val-cit* または *phe-lys* である、実施形態 2 3 1 に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

2 3 3. 切断可能なリンカーが、5. 5 未満の pH で加水分解性である、実施形態 2 2 9 に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

2 3 4. 加水分解性のリンカーが、ヒドラゾンリンカーである、実施形態 2 3 3 に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

2 3 5. 切断可能なリンカーが、ジスルフィドリンカーである、実施形態 2 2 9 に記載の抗体－薬物コンジュゲート。

2 3 6. 実施形態 1 4 3 から 1 4 7 のいずれか 1 つに記載の 1 つまたは複数の抗原結合フラグメント、および TCR 複合体サブユニットの 1 つまたは複数のドメインを含む、TCR 融合タンパク質。

2 3 7. 1 つまたは複数の抗原結合フラグメント、および TCR 複合体サブユニットの 1 つまたは複数のドメインが、ペプチドリンカーによって結合されている、実施形態 2 3 6 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 3 8. ペプチドリンカーが、グリシン－セリンリンカーを含むか、またはそれからなる、実施形態 2 3 7 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 3 9. ペプチドリンカーが、 $(G_4S)_n$ (配列番号 3 1 6) を含むか、またはそれからなり、 $n = 1 \sim 4$ である、実施形態 2 3 7 または 2 3 8 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 0. 抗原結合フラグメントが、単鎖可変フラグメント (*scFv*) の形態である、実施形態 2 3 6 から 2 3 9 のいずれか 1 つに記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 1. 実施形態 1 4 4 から 1 4 7 のいずれか 1 つに記載の 1 つまたは複数の *scFv* を含む、実施形態 2 4 0 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 2. 実施形態 1 4 4 から 1 4 7 のいずれか 1 つに記載の 1 つの *scFv* を含む、実施形態 2 4 1 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 3. 実施形態 1 4 4 から 1 4 7 のいずれか 1 つに記載の 2 つの *scFv* を含む、実施形態 2 4 1 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 4. 2 つの *scFv* が、同じアミノ酸配列を有する、実施形態 2 4 3 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 5. 2 つの *scFv* が、任意選択で 4 ～ 1 5 個のアミノ酸であるリンカー配列によって共有結合している、実施形態 2 4 3 または 2 4 4 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 6. 抗原結合フラグメントが、フラグメント抗原結合 (*Fab*) の形態である、実施形態 2 3 6 から 2 4 5 のいずれか 1 つに記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 7. アミノ末端からカルボキシ末端への順序で：(i) 1 つまたは複数の抗原結合フラグメント；(ii) TCR 複合体サブユニットの膜貫通ドメイン；および (iii) TCR 複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、実施形態 2 3 6 から 2 4 6 のいずれか 1 つに記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 8. アミノ末端からカルボキシ末端への順序で：(i) 1 つまたは複数の抗原結合フラグメント；(ii) TCR 複合体サブユニットの細胞外ドメイン；(iii) TCR 複合体サブユニットの膜貫通ドメイン；および (iv) TCR 複合体サブユニットの細胞内シグナル伝達ドメインを含む、実施形態 2 3 6 から 2 4 7 のいずれか 1 つに記載の TCR 融合タンパク質。

2 4 9. TCR 複合体サブユニットの細胞外ドメインが、TCR 複合体サブユニットの定常領域を含み、任意選択で TCR 複合体サブユニットの可変領域をさらに含む、実施形態 2 4 8 に記載の TCR 融合タンパク質。

2 5 0. TCR 複合体サブユニットの細胞外可変領域が、TCR 複合体サブユニットの可変領域を含み、任意選択で TCR 複合体サブユニットの定常領域を含む、実施形態 2 4

10

20

30

40

50

8 に記載の T C R 融合タンパク質。

251. T C R 複合体サブユニットが、T C R α である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

252. T C R 複合体サブユニットが、T C R β である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

253. T C R 複合体サブユニットが、T C R γ である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

254. T C R 複合体サブユニットが、T C R δ である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

255. T C R 複合体サブユニットが、C D 3 δ である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。 10

256. T C R 複合体サブユニットが、C D 3 ϵ である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

257. T C R 複合体サブユニットが、C D 3 γ である、実施形態 236 から 250 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

258. T 細胞受容体融合コンストラクト (T R u C) である、実施形態 236 から 257 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

259. 抗体-T 細胞受容体 (A b T C R) コンストラクトである、実施形態 236 から 257 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。

260. 合成 T 細胞受容体 (T C R) および抗原受容体 (S T A R) である、実施形態 236 から 257 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質。 20

261. 実施形態 236 から 260 のいずれか 1 つに記載の 1 つまたは複数の T C R 融合タンパク質を含む、T 細胞受容体 (T C R) 複合体。

262. T C R α / β T C R 複合体である、実施形態 261 に記載の T C R 複合体。

263. T C R γ / δ T C R 複合体である、実施形態 261 に記載の T C R 複合体。

264. (a) C D 3 δ / C D 3 ϵ ヘテロ二量体；

(b) C D 3 γ / C D 3 ϵ ヘテロ二量体；および

(c) C D 3 ζ

を含む、実施形態 261 から 263 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体。

265. (a) 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖 (V H) ； 30

(b) 第 1 の T C R 定常領域ドメイン；

(c) 切断可能なペプチドリンカー；

(d) 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖 (V L) ；および

(e) 第 2 の T C R 定常領域ドメイン

を含む、合成 T 細胞受容体 (T C R) および抗原受容体 (S T A R) であって、任意選択で V H および V L が、実施形態 1 から 172 のいずれか 1 つに記載の抗グリコ C D 4 4 抗体または結合フラグメントの V H および V L である、S T A R。

266. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0579】

【化69】 40

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNY

DGYFKSRATLTVDSTSTAYMELRSLRSDDTAVYFCTRSGYDYPFVYWGQGLTVTVSS (配列

番号 263)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

267. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0580】 50

【化 7 0】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKGRVTLTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 265)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

268. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0581】

【化 7 1】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWIHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
AGYFQGRVTLTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 266)

10

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

269. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0582】

【化 7 2】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKGRVTLTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 265)

20

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

270. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0583】

【化 7 3】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTN
DGYFKSRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS (配列
番号 267)

30

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

271. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0584】

【化 7 4】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKSRVTLTVDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 269)

40

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

272. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0585】

50

【化 7 5】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YAGYFQGRVTLTVDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 270)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

273. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0586】

【化 7 6】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKSRVTLTVDTSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 269)

10

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

274. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0587】

【化 7 7】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNY
DGYFKSRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDVAVYFCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS (配列
番号 271)

20

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

275. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0588】

【化 7 8】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 272)

30

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

276. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0589】

【化 7 9】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWIHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNY
AGYFQGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 274)

40

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

277. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0590】

50

【化 8 0】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 272)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

278. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0591】

【化 8 1】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWIGNIYPRSGTTNY
DGYFKSRATLTVDSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS (配列
番号 271)

10

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

279. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0592】

【化 8 2】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTN
YDGYFKGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 272)

20

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

280. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0593】

【化 8 3】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFSSYWIHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNY
AGYFQGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS
(配列番号 274)

30

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

281. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が、

【0594】

【化 8 4】

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFSSYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPRSGTTNY
DGYFKGRAVLSVDTSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRSYDYPFVYWGQGTLVTVSS (配列
番号 276)

40

のアミノ酸を含む、実施形態 265 に記載の S T A R。

282. 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖が：

(a) G Y T F T S Y W (配列番号 3) または G Y T F S S Y W (配列番号 273) の

50

アミノ酸配列を含む相補性決定領域（CDR）H1；

（b）I Y P R S G T T（配列番号4）またはI Y P R S G T T N（配列番号275）
のアミノ酸配列を含むCDR-H2；および

（c）T R S G Y D Y P F（配列番号264）、T R S G Y D Y P F V（配列番号268）、またはT R S G Y D Y P F V Y（配列番号5）のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含む、実施形態265に記載のSTAR。

283．抗グリコCD44可変軽鎖が、

【0595】

【化85】

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRTSTGAVSIRNYANWWQEKPQAFRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGDKAALTLSGVQPEDEAEYFCALLYSNYWWFGGGTKLTVL（配列番号277）

10

のアミノ酸を含む、実施形態265から282のいずれか1つに記載のSTAR。

284．抗グリコCD44可変軽鎖が、

【0596】

【化86】

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCATSTGAVSIRNYANWWQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL（配列番号278）

20

のアミノ酸を含む、実施形態265から282のいずれか1つに記載のSTAR。

285．抗グリコCD44可変軽鎖が、

【0597】

【化87】

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCASSTGAVTIRNYANWWQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL（配列番号279）

のアミノ酸を含む、実施形態265から282のいずれか1つに記載のSTAR。

286．抗グリコCD44可変軽鎖が、

【0598】

【化88】

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCATSTGAVSIRNYANWWQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL（配列番号278）

30

のアミノ酸を含む、実施形態265から282のいずれか1つに記載のSTAR。

287．抗グリコCD44可変軽鎖が、

【0599】

【化89】

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRTSTGAVSIRNYANWWQEKPQAFRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGDKAALTLGAQPEDEAEYFCALLYSNYWWFGGGTKLTVL（配列番号281）

40

のアミノ酸を含む、実施形態265から282のいずれか1つに記載のSTAR。

288．抗グリコCD44可変軽鎖が、

【0600】

50

【化 9 0】

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWWQQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 282)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

289. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0601】

【化 9 1】

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTIRHYANWWQQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 283)

10

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

290. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0602】

【化 9 2】

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWWQQKPGQAPRGLIGGTNNRAPWTP
ARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 282)

20

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

291. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0603】

【化 9 3】

QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRTSTGAVSIRNYANWWQETPGQAFRGLIGGTNNRAPGVP
DRFSGSLLGDKAALTITGAQADDESDYFCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 285)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

292. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0604】

【化 9 4】

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWWQQTPGQAPRGLIGGTNNRAPGVP
DRFSGSLLGNKAALTITGAQADDESDYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 286)

30

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

293. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0605】

【化 9 5】

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGTSSGAVSTRYYANWWQQTPGQAPRGLIGGTNNRSSGVP
DRFSGSLLGNKAALTITGAQADDESDYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 287)

40

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

294. 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖が、

【0606】

50

【化 9 6】

QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCGTSTGAVSIRNYANWWQQTPGQAPRGLIGGTNNRAPGVP
DRFSGSLLGNKAALTITGAQADDESYYCALLYSNYWWFGGGTKLTVL (配列番号 286)

のアミノ酸を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の STAR。

295. 抗グリコ CD 44 可変軽鎖が：

(a) T G A V S I R N Y (配列番号 6)、T G A V T I R H Y (配列番号 284)、
または S G A V S T R Y Y (配列番号 288) のアミノ酸配列を含む C D R - L 1 ；

(b) G T N (配列番号 7) のアミノ酸配列を含む C D R - L 2 ；および

(c) A L L Y S N Y W V (配列番号 8) のアミノ酸配列を含む C D R - L 3
を含む、実施形態 265 から 282 のいずれか 1 つに記載の STAR。

296. 第 1 の T C R 定常領域ドメインが、T C R α 定常領域ドメインであり、第 2 の
T C R 定常領域ドメインが、T C R β 定常領域ドメインである、実施形態 265 から 29
5 のいずれか 1 つに記載の STAR。

297. 第 1 の T C R 定常領域ドメインが、T C R β 定常領域ドメインであり、第 2 の
T C R 定常領域ドメインが、T C R α 定常領域ドメインである、実施形態 265 から 29
5 のいずれか 1 つに記載の STAR。

298. 第 1 の T C R 定常領域ドメインおよび第 2 の T C R 定常領域ドメイン各々が、
野生型 T C R 定常領域ドメインと比較して、少なくとも 1 つの突然変異を含む、実施形態
296 または 297 に記載の STAR。

299. T C R α 定常領域ドメインが、野生型 T C R α 定常領域のアミノ酸 48 位にお
ける置換を含み、T C R β 定常領域ドメインが、野生型 T C R β 定常領域のアミノ酸 57
位における置換を含む、実施形態 298 に記載の STAR。

300. T C R α 定常領域ドメインが、野生型 T C R α 定常領域のアミノ酸 85 位にお
ける置換を含み、T C R β 定常領域ドメインが、野生型 T C R β 定常領域のアミノ酸 88
位における置換を含む、実施形態 298 または 299 に記載の STAR。

301. 第 1 の T C R 定常領域ドメインが、T C R γ 定常領域ドメインであり、第 2 の
T C R 定常領域ドメインが、T C R δ 定常領域ドメインである、実施形態 265 から 29
5 のいずれか 1 つに記載の STAR。

302. 第 1 の T C R 定常領域ドメインが、T C R δ 定常領域ドメインであり、第 2 の
T C R 定常領域ドメインが、T C R γ 定常領域ドメインである、実施形態 265 から 29
5 のいずれか 1 つに記載の STAR。

303. ペプチドリinker が、切断可能なペプチドリinker である、実施形態 265 か
ら 302 のいずれか 1 つに記載の STAR。

304. ペプチドリinker が、プロテアーゼ切断可能なペプチドリinker である、実施
形態 303 に記載の STAR。

305. ペプチドリinker が、配列 A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P (配列番
号 303) を含む、実施形態 265 から 304 のいずれか 1 つに記載の STAR。

306. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ CD 44 可変重鎖、(ii) 第 1 の T C
R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリinker、(iv) 抗グリコ CD 4
4 可変軽鎖、および (v) 第 2 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 26
5 から 305 のいずれか 1 つに記載の STAR。

307. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ CD 44 可変重鎖、(ii) 第 2 の T C
R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリinker、(iv) 抗グリコ CD 4
4 可変軽鎖、および (v) 第 1 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 26
5 から 305 のいずれか 1 つに記載の STAR。

308. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ CD 44 可変軽鎖、(ii) 第 1 の T C
R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリinker、(iv) 抗グリコ CD 4
4 可変重鎖、および (v) 第 2 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 26

10

20

30

40

50

5 から 305 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

309. N 末端から C 末端へ、(i) 抗グリコ C D 4 4 可変軽鎖、(ii) 第 2 の T C R 定常領域ドメイン、(iii) 切断可能なペプチドリンカー、(iv) 抗グリコ C D 4 4 可変重鎖、および (v) 第 1 の T C R 定常領域ドメインの順序を有する、実施形態 265 から 305 のいずれか 1 つに記載の S T A R。

310. 実施形態 1 から 172 のいずれか 1 つに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態 173 から 197 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質、実施形態 198 から 225 のいずれか 1 つに記載の C A R、実施形態 236 から 260 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質、実施形態 261 から 264 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体、または実施形態 265 から 309 のいずれか 1 つに記載の S T A R のコード領域を含む核酸。

311. コード領域が、ヒト細胞における発現のためにコドン最適化されている、実施形態 310 に記載の核酸。

312. 実施形態 310 または実施形態 311 に記載の核酸を含むベクター。

313. ウイルスベクターである、実施形態 312 に記載のベクター。

314. ウイルスベクターが、レンチウイルスベクターである、実施形態 313 に記載のベクター。

315. 実施形態 310 または実施形態 311 に記載の核酸を発現するように操作された宿主細胞。

316. ノイラミニダーゼ (E C 3.2.1.18 または E C 3.2.1.129) を発現するように操作された、実施形態 315 に記載の宿主細胞。

317. ノイラミニダーゼが、ミクロモノスポラ・ビリジファシエンス (*Micromonospora viridifaciens*) に由来する、実施形態 316 に記載の宿主細胞。

318. ノイラミニダーゼが、

【0607】

【化97】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDTNNAIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

と少なくとも 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 316 または実施形態 317 に記載の宿主細胞。

319. ノイラミニダーゼが、

【0608】

10

20

30

40

50

【化 9 8】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

と少なくとも 97% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 318 に記載の
宿主細胞。

320. ノイラミニダーゼが、

【0609】

【化 9 9】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

20

と少なくとも 98% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 318 に記載の
宿主細胞。

321. ノイラミニダーゼが、

【0610】

【化 100】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLDPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTWPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

40

と少なくとも 99% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施形態 318 に記載の
宿主細胞。

322. ノイラミニダーゼが、アミノ酸配列

【0611】

50

【化 1 0 1】

GGSPVPPGGEPLYTEQDLAVNGREGFPNYRIPALTVTPDGDLLASYDGRPTGIDAPGPNSILQ
RRSTDGGRTWGEQQVVSAGQTTAPIKGFSDPSYLVRETGTIFNFHVYSQRQGFAGSRPGT
DPADPNVLHANVATSTDGGLTWSHRTITADITPDPGWRSRFAASGEGIQRLRYGPHAGRLIQQ
YTIINAAGAFQAVSVYSDDHGRTWRAGEAVGVGMDENKTVELSDGRVLLNSRDSARSGYRK
VAVSTDGGHSYGPVTIDRDLPDPTNNASIIRAFPDAPAGSARAKVLLFSNAASQTSRSQGTIR
MSCDDGQTPVSKVFQPGSMSYSTLTALPDGTYGLLYEPGTGIRYANFNLAWLGG (配列
番号 314)

10

を含む、実施形態 3 1 8 に記載の宿主細胞。

3 2 3 . ノイラミニダーゼが、宿主細胞の細胞表面で保持されている、実施形態 3 1 6 から 3 2 2 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

3 2 4 . ノイラミニダーゼが、宿主細胞によって分泌される、実施形態 3 1 6 から 3 2 2 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

3 2 5 . 実施形態 1 9 8 から 2 2 5 のいずれか 1 つに記載の C A R を発現するように操作されたヒト T 細胞である、実施形態 3 1 5 から 3 2 4 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

20

3 2 6 . 実施形態 1 9 8 から 2 2 5 のいずれか 1 つに記載の C A R を発現するように操作されたヒト N K 細胞である、実施形態 3 1 5 から 3 2 4 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

3 2 7 . 実施形態 2 3 6 から 2 6 0 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質を発現するように操作されたヒト T 細胞である、実施形態 3 1 5 から 3 2 4 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

3 2 8 . 実施形態 2 6 1 から 2 6 4 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体を発現するように操作されたヒト T 細胞である、実施形態 3 1 5 から 3 2 4 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

3 2 9 . 実施形態 2 6 5 から 3 0 9 のいずれか 1 つに記載の S T A R を発現するように操作されたヒト T 細胞である、実施形態 3 1 5 から 3 2 4 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

30

3 3 0 . 実施形態 3 1 2 から 3 1 3 のいずれか 1 つに記載のベクターを含む宿主細胞。

3 3 1 . ノイラミニダーゼをコードするベクターを含む、実施形態 3 1 6 から 3 2 7 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞。

3 3 2 . T 細胞であり、ベクターが、実施形態 1 9 8 から 2 2 5 のいずれか 1 つに記載の C A R をコードする、実施形態 3 2 7 または実施形態 3 3 1 に記載の宿主細胞。

3 3 3 . N K 細胞であり、ベクターが、実施形態 1 9 8 から 2 2 5 のいずれか 1 つに記載の C A R をコードする、実施形態 3 2 7 または実施形態 3 3 1 に記載の宿主細胞。

3 3 4 . T 細胞であり、ベクターが、実施形態 2 3 6 から 2 6 0 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質をコードする、実施形態 3 2 7 または実施形態 3 3 1 に記載の宿主細胞。

40

3 3 5 . T 細胞であり、ベクターが、実施形態 2 6 5 から 3 0 9 のいずれか 1 つに記載の S T A R をコードする、実施形態 3 2 7 または実施形態 3 3 1 に記載の宿主細胞。

3 3 6 . (a) 実施形態 1 から 1 7 2 のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態 1 7 3 から 1 9 7 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質、実施形態 1 9 8 から 2 2 5 のいずれか 1 つに記載の C A R 、実施形態 2 2 6 から 2 3 5 のいずれか 1 つに記載の抗体 - 薬物コンジュゲート、実施形態 2 3 6 から 2 6 0 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質、実施形態 2 6 1 から 2 6 4 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体、もしくは実施形態 2 6 5 から 3 0 9 のいずれか 1 つに記載の S T A R 、実施形態 3 1

50

0 もしくは実施形態 3 1 1 に記載の核酸、実施形態 3 1 2 から 3 1 4 のいずれか 1 つに記載のベクター、または実施形態 3 1 5 から 3 3 5 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞、および (b) 生理学的に好適な緩衝液、アジュバント、希釈剤、またはそれらの組合せを含む、医薬組成物。

3 3 7. がんを処置する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の実施形態 1 から 1 7 2 のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態 1 7 3 から 1 9 7 のいずれか 1 つに記載の融合タンパク質、実施形態 1 9 8 から 2 2 5 のいずれか 1 つに記載の C A R、実施形態 2 2 6 から 2 3 5 のいずれか 1 つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態 2 3 6 から 2 6 0 のいずれか 1 つに記載の T C R 融合タンパク質、実施形態 2 6 1 から 2 6 4 のいずれか 1 つに記載の T C R 複合体、実施形態 2 6 5 から 3 0 9 のいずれか 1 つに記載の S T A R、実施形態 3 1 0 もしくは実施形態 3 1 1 に記載の核酸、実施形態 3 1 2 から 3 1 4 のいずれか 1 つに記載のベクター、実施形態 3 1 5 から 3 3 5 のいずれか 1 つに記載の宿主細胞、または実施形態 3 3 6 に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

10

3 3 8. 対象が、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、もしくは頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、子宮頸がん、または子宮内膜がん罹患している、実施形態 3 3 7 に記載の方法。

3 3 9. 対象が、乳がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 0. 対象が、肺がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 1. 肺がんが、非小細胞肺がんである、実施形態 3 4 0 に記載の方法。

20

3 4 2. 対象が、泌尿生殖器がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 3. 泌尿生殖器がんが、前立腺がんである、実施形態 3 4 2 に記載の方法。

3 4 4. 泌尿生殖器がんが、腎臓がんである、実施形態 3 4 2 に記載の方法。

3 4 5. 対象が、膵臓がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 6. 対象が、結腸直腸がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 7. 対象が、卵巣がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 8. 対象が、胃がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 4 9. 対象が、頭頸部がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 0. 頭頸部がんが、頭頸部扁平上皮癌 (H N S C C) である、実施形態 3 4 9 に記載の方法。

30

3 5 1. 対象が、皮膚がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 2. 対象が、悪性黒色腫罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 3. 対象が、肝臓がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 4. 対象が、神経膠腫罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 5. 対象が、甲状腺がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 6. 対象が、子宮頸がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 7. 対象が、子宮内膜がん罹患している、実施形態 3 3 8 に記載の方法。

3 5 8. 生物学的サンプルでがんを検出する方法であって、サンプル (例えば、がん細胞および／またはがん由来細胞外小胞を含むか、またはそれを含むことが疑われるサンプル) を、実施形態 1 から 1 7 2 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメントと接触させること、および抗体または抗原結合フラグメントの結合を検出することを含む方法。

40

3 5 9. 抗体または抗原結合フラグメントの結合を定量化することをさらに含む、実施形態 3 5 8 に記載の方法。

3 6 0. 結合が、陰性／ベースライン対照としての正常な組織対照と、および／または陽性対照としてのがん性組織対照と比較される、実施形態 3 5 8 または実施形態 3 5 9 に記載の方法。

3 6 1. がんが、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がん、子宮頸がん、または子宮内膜がんである、実施形態 3 5 8 から 3 6 0 のいずれか 1 つに記載

50

の方法。

362. がんが、乳がんである、実施形態361に記載の方法。

363. がんが、肺がんである、実施形態361に記載の方法。

364. がんが、非小細胞肺がんである、実施形態363に記載の方法。

365. がんが、泌尿生殖器がんである、実施形態361に記載の方法。

366. がんが、前立腺がんである、実施形態365に記載の方法。

367. がんが、腎臓がんである、実施形態365に記載の方法。

368. がんが、膵臓がんである、実施形態361に記載の方法。

369. がんが、結腸直腸がんである、実施形態361に記載の方法。

370. がんが、卵巣がんである、実施形態361に記載の方法。

371. がんが、胃がんである、実施形態361に記載の方法。

372. がんが、頭頸部がんである、実施形態361に記載の方法。

373. 頭頸部がんが、HNSCCである、実施形態372に記載の方法。

374. がんが、皮膚がんである、実施形態361に記載の方法。

375. がんが、悪性黒色腫である、実施形態361に記載の方法。

376. がんが、肝臓がんである、実施形態361に記載の方法。

377. がんが、神経膠腫である、実施形態361に記載の方法。

378. がんが、甲状腺がんである、実施形態361に記載の方法。

379. がんが、子宮頸がんである、実施形態361に記載の方法。

380. がんが、子宮内膜がんである、実施形態361に記載の方法。

381. 実施形態179から184のいずれか1つに依存する場合、対象に、MICタンパク質ドメインに特異的に結合することが可能なNKGD受容体を含むCARを発現するように操作された遺伝子改変されたT細胞を投与することをさらに含む、実施形態358から380のいずれか1つに記載の方法。

382. 医薬としての使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

383. 任意選択で乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん（例えば、前立腺がんもしくは腎臓がん）、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がんまたは子宮内膜がんであるがんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

384. 乳がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のい

10

20

30

40

50

いずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

385. 任意選択で非小細胞肺癌である肺がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

10

386. 泌尿生殖器がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

20

387. 前立腺がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

30

388. 腎臓がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

40

389. 膵臓がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

50

390. 結腸直腸がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

391. 卵巣がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

392. 胃がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

393. 任意選択でHNSCCである頭頸部がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

394. 皮膚がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

395. 悪性黒色腫の処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態23

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

400. 子宮内膜がんの処置における使用のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物。

401. がんの処置のための医薬の製造のための、実施形態1から172のいずれかに記載の抗体もしくは抗原結合フラグメント、実施形態173から197のいずれか1つに記載の融合タンパク質、実施形態198から225のいずれか1つに記載のCAR、実施形態226から235のいずれか1つに記載の抗体-薬物コンジュゲート、実施形態236から260のいずれか1つに記載のTCR融合タンパク質、実施形態261から264のいずれか1つに記載のTCR複合体、もしくは実施形態265から309のいずれか1つに記載のSTAR、実施形態310もしくは実施形態311に記載の核酸、実施形態312から314のいずれか1つに記載のベクター、実施形態315から335のいずれか1つに記載の宿主細胞、または実施形態336に記載の医薬組成物の使用であって、任意選択でがんが、乳がん、肺がん、泌尿生殖器がん（例えば、前立腺がんもしくは腎臓がん）、膵臓がん、結腸直腸がん、卵巣がん、胃がん、頭頸部がん、皮膚がん、悪性黒色腫、肝臓がん、神経膠腫、甲状腺がんまたは子宮内膜がんである、使用。

10

402. がんが、乳がんである、実施形態401に記載の使用。

403. がんが、肺がんである、実施形態401に記載の使用。

404. 肺がんが、非小細胞肺がんである、実施形態403に記載の使用。

405. がんが、泌尿生殖器がんである、実施形態401に記載の使用。

406. 泌尿生殖器がんが、前立腺がんである、実施形態405に記載の使用。

407. 泌尿生殖器がんが、腎臓がんである、実施形態405に記載の使用。

408. がんが、膵臓がんである、実施形態401に記載の使用。

409. がんが、結腸直腸がんである、実施形態401に記載の使用。

20

410. がんが、卵巣がんである、実施形態401に記載の使用。

411. がんが、胃がんである、実施形態401に記載の使用。

412. がんが、頭頸部がんである、実施形態401に記載の使用。

413. 頭頸部がんが、HNSCCである、実施形態401に記載の使用。

414. がんが、皮膚がんである、実施形態401に記載の使用。

415. がんが、悪性黒色腫である、実施形態401に記載の使用。

416. がんが、肝臓がんである、実施形態401に記載の使用。

417. がんが、神経膠腫である、実施形態401に記載の使用。

418. がんが、甲状腺がんである、実施形態401に記載の使用。

419. がんが、子宮頸がんである、実施形態401に記載の使用。

30

420. がんが、子宮内膜がんである、実施形態401に記載の使用。

421. (a) 配列番号165のアミノ酸5位のスレオニンおよび配列番号165のアミノ酸12位のセリン上でGalNAcでグリコシル化されたCD44v6グリコペプチドGYRQTPKEDSHSTTGTA A A（配列番号165）に特異的に結合するための手段；および

(b) リンカー

を含む抗体またはその抗原結合フラグメント。

422. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 200 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

40

423. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 150 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

424. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 100 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

425. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM ~ 50 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

426. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM

50

～25 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

427. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM～15 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

428. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、1 nM～10 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

429. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM～200 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

430. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM～100 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

431. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM～50 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

432. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM～25 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

433. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、5 nM～10 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

434. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～200 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

435. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～100 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

436. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～50 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

437. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、10 nM～25 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

438. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM～200 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

439. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、50 nM～100 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

440. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、100 nM～200 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

441. 表面プラズモン共鳴またはバイオレイヤー干渉法によって測定される、100 nM～150 nMの結合親和性(KD)でCD44v6グリコペプチドに結合する、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

442. CD44v6グリコペプチドへの結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定される通りである、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

443. 表面プラズモン共鳴による測定が、分析物としてのCD44v6グリコペプチ

10

20

30

40

50

ドの飽和濃度で行われ、抗体または抗原結合フラグメントが、固定化リガンドである、実施形態 4 4 2 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

4 4 4 . C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性が、バイオレイヤー干渉法によって測定される通りである、実施形態 4 2 1 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

4 4 5 . バイオレイヤー干渉法による測定が、分析物としての抗体または抗原結合フラグメント、および固定化リガンドとしての C D 4 4 v 6 グリコペプチドを用いて行われる、実施形態 4 4 4 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

4 4 6 . グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチド G Y R Q T P K E D S H S T T G T A A A (配列番号 3 3 3) (「グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチド」) に特異的に結合しない、実施形態 4 2 1 から 4 4 5 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

4 4 7 . グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも 3 倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたはグリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1 . 5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 4 4 6 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

4 4 8 . グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも 5 倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたはグリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1 . 5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 4 4 6 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

20

4 4 9 . 第 1 のグリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも 1 0 倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたはグリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1 . 5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 4 4 6 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

30

4 5 0 . グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも 2 0 倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたはグリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1 . 5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 4 4 6 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

4 5 1 . グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも 5 0 倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたはグリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドのいずれか (例えば、約 1 μ M、約 1 . 5 μ M、または約 2 μ M の各ペプチド) の存在下で測定される、実施形態 4 4 6 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

40

4 5 2 . グリコシル化されていない C D 4 4 v 6 ペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも 1 0 0 倍である、C D 4 4 v 6 グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコ C D 4 4 v 6 ペプチドまたはグリコ

50

シル化されていないCD44v6ペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態446に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

453. 精製した組換えヒトグリコシルトランスフェラーゼGalNAc-T1、GalNAc-T2、およびGalNAc-T4を使用してインビトロでグリコシル化されたMUC1タンデムリピート(VTSAPDTRPAPGSTAPP AHG)₃（配列番号205）（「第1のMUC1グリコペプチド」）に特異的に結合しない、実施形態421から452のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

454. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも3倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態453に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

455. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態453に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

456. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態453に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

457. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態453に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

458. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態453に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

459. 第1のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態453に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

460. 下線を引いた太字で示されるセリンおよびスレオニン残基上でGalNAcによりインビトロでグリコシル化されたMUC1 TAPP AHGVTSAPDTRPAPGSTAPP AHGV T（配列番号262）（「第2のMUC1グリコペプチド」）に特異的に結合しない、実施形態421から459のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

461. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親

10

20

30

40

50

和性の少なくとも3倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれかの存在下で測定され、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態460に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

462. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも5倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第1のMUC1グリコペプチドのいずれかの存在下で測定され、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態461に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

463. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも10倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態461に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

464. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも20倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態461に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

465. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも50倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態461に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

466. 第2のMUC1グリコペプチドへの抗体または抗原結合フラグメントの結合親和性の少なくとも100倍である、CD44v6グリコペプチドへの結合親和性を有し、任意選択で結合親和性が、表面プラズモン共鳴によって測定され、さらに任意選択で表面プラズモン共鳴が、飽和量のグリコCD44v6ペプチドまたは第2のMUC1グリコペプチドのいずれか（例えば、約1 μ M、約1.5 μ M、または約2 μ Mの各ペプチド）の存在下で測定される、実施形態461に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

467. 多価である、実施形態421から466のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

468. 抗原結合フラグメントである、実施形態421から466のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

469. CD44v6グリコペプチドへの結合のための手段が、重鎖可変フラグメント(V_H)および軽鎖可変フラグメント(V_L)を含む単鎖可変フラグメント(scFv)であり、リンカーが、V_HドメインおよびV_Lドメインを連結するポリペプチドリンカーである、実施形態421から468のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

10

20

30

40

50

470. V_H が、 V_L のN末端側にある、実施形態469に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

471. V_H が、 V_L のC末端側にある、実施形態469に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

472. Fc ドメインを含み、 $CD44v6$ グリコペプチドへの結合のための手段が、フラグメント抗原結合 (Fab) であり、リンカーが、 Fab および Fc ドメインを連結するポリペプチドリンカーである、実施形態421に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

473. リンカーが、グリシン-セリンリンカーを含むか、またはそれからなる、実施形態421から472のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

474. リンカーが、 $(G_4S)_n$ (配列番号316) を含むか、またはそれからなり、 $n=1\sim 4$ である、実施形態421から473のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

475. リンカーが、4~15アミノ酸の長さを有する、実施形態421から474のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

476. 多重特異性抗体の形態である、実施形態421から475のいずれか1つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

477. 多重特異性抗体が、第1のエピトープとは異なる第2のエピトープに結合する二重特異性抗体である、実施形態476に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

478. 二重特異性抗体が、ボトルオープナー、 $mAb-Fv$ 、 $mAb-scFv$ 、中心- $scFv$ 、1アーム中心- $scFv$ 、または二重 $scFv$ 様式の二重特異性抗体である、実施形態477に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

479. 二重特異性抗体が、ボトルオープナー様式の二重特異性抗体である、実施形態478に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

480. 二重特異性抗体が、 $mAb-Fv$ 様式の二重特異性抗体である、実施形態478に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

481. 二重特異性抗体が、 $mAb-scFv$ 様式の二重特異性抗体である、実施形態478に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

482. 二重特異性抗体が、中心- $scFv$ 様式の二重特異性抗体である、実施形態478に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

483. 二重特異性抗体が、1アーム中心- $scFv$ 様式の二重特異性抗体である、実施形態478に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

484. 二重特異性抗体が、二重 $scFv$ 様式の二重特異性抗体である、実施形態478に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

485. 二重特異性抗体が、二重特異性ドメイン交換抗体 (例えば、 $CrossMab$)、 Fab アーム交換抗体、二重特異性T細胞エンゲージャー ($BiTE$)、または二重親和性リターゲティング分子 ($DART$) である、実施形態477に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

486. 二重特異性抗体が、二重特異性ドメイン交換抗体 (例えば、 $CrossMab$) である、実施形態485に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

487. 二重特異性抗体が、重鎖と軽鎖との間のドメインの交差を有する Fab アームを含む二重特異性 IgG (例えば、 $CrossMabFAB$) である、実施形態485に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

488. 二重特異性抗体が、可変重鎖と可変軽鎖との間のドメインの交差を有する Fab アームを含む二重特異性 IgG (例えば、 $CrossMabVH-VL$) である、実施形態485に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

489. 二重特異性抗体が、定常重鎖と定常軽鎖との間のドメインの交差を有する Fab アームを含む二重特異性 IgG (例えば、 $CrossMabCH1-CL$) である、実施形態485に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

490. 二重特異性抗体が、 Fab アーム交換抗体である、実施形態485に記載の抗

10

20

30

40

50

体または抗原結合フラグメント。

491. 二重特異性抗体が、二重親和性リターゲティング分子 (DART) である、実施形態 485 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

492. 二重特異性抗体が、二重特異性 T 細胞エンゲージャー (BiTE) である、実施形態 485 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

493. 第 2 のエピトープが、CD44 エピトープである、実施形態 477 から 492 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

494. 第 2 のエピトープが、正常細胞と比較して、がん細胞上で過剰発現される CD44 エピトープである、実施形態 477 から 494 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

495. 第 2 のエピトープが、T 細胞エピトープである、実施形態 477 から 492 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

496. T 細胞エピトープが、CD3 エピトープ、CD8 エピトープ、CD16 エピトープ、CD25 エピトープ、CD28 エピトープ、または NKG2D エピトープを含む、実施形態 495 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

497. T 細胞エピトープが、任意選択でヒト CD3 に存在するエピトープである CD3 エピトープを含む、実施形態 496 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

498. CD3 エピトープが、CD3 ガンマエピトープ、CD3 デルタエピトープ、CD3 イプシロンエピトープ、または CD3 ゼータエピトープを含む、実施形態 497 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

499. 検出可能な部分にコンジュゲートされている、実施形態 1 から 498 のいずれか 1 つに記載の抗体または抗原結合フラグメント。

500. 検出可能な部分が、酵素、放射性同位体、または蛍光標識である、実施形態 499 に記載の抗体または抗原結合フラグメント。

【0612】

本出願において引用される全ての出版物、特許、特許出願および他の文献は、各個々の出版物、特許、特許出願または他の文献が、個々に、全ての目的について参照により組み入れられることが示されているのと同様に、全ての目的についてこの参照によりそれらの全体が本明細書に組み入れられる。本明細書に組み入れられる参考文献のうちの 1 つまたは複数の教示と、本開示との間の矛盾が存在する場合には、本明細書の教示が意図される。

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 - 1】

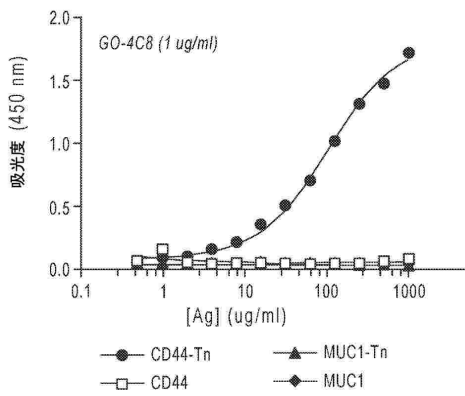


図 1A

抗原	親和性 (Biacore)	見かけの親和性 (Octet)
CD44v6-Tn	128 nM	7.9 nM
CD44v6	n/a	n/a
MUC1-Tn	>400 nM	n/a

図 1B

【図 1 - 2】

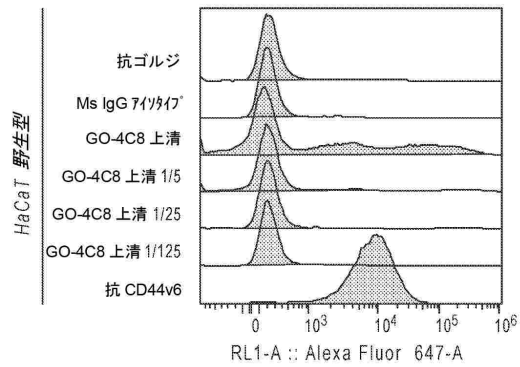
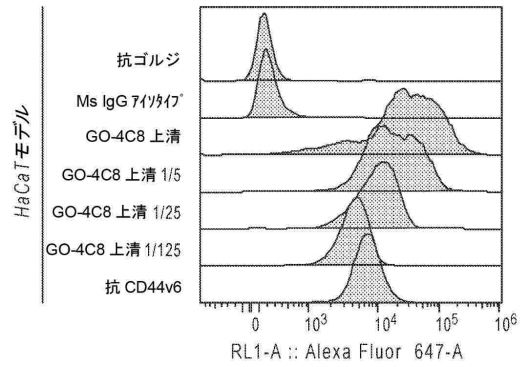


図 1C

【図 1 - 3】

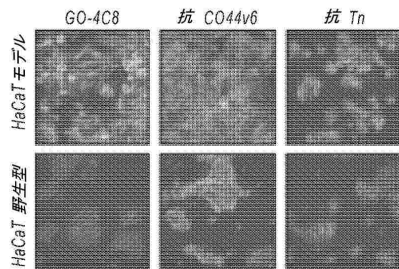


図 1D

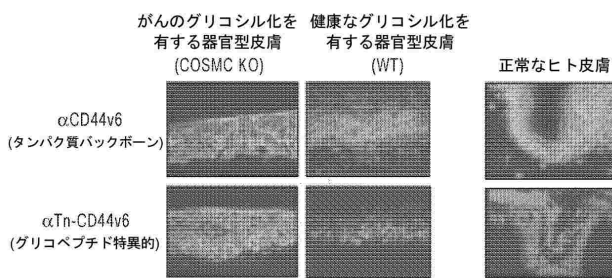


図 1E

図 1F

【図 2 - 1】

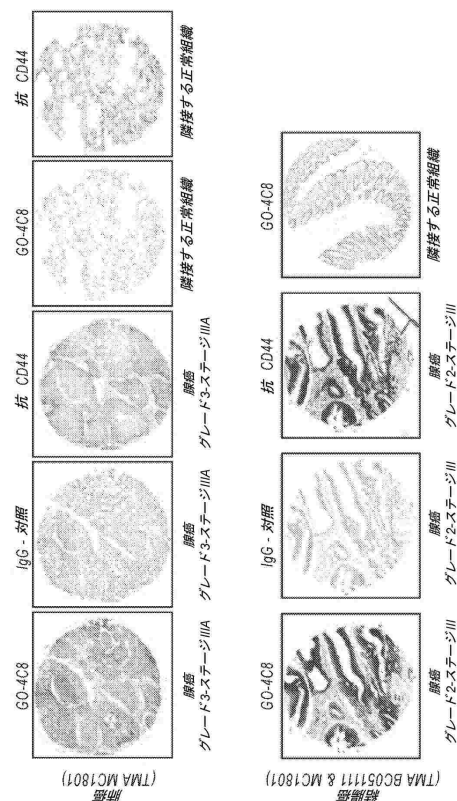


図 2A-1

10

20

30

40

50

【図 2 - 2】

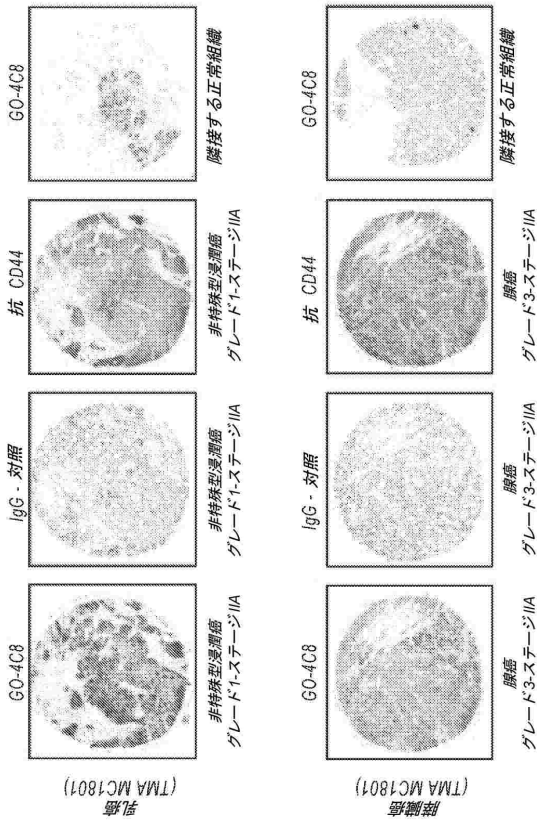


図 2A-2

【図 2 - 3】

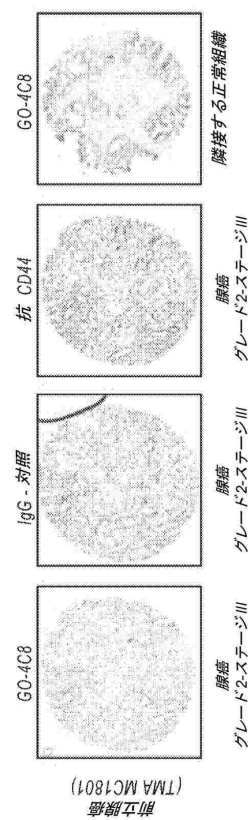


図 2A-3

【図 2 - 4】

肺癌 (TMA MC1801)					
ケース	グレード	強い	弱い	陰性	
GO-4C8	1	1	0	0	1
	12	2	2	6	4
	9	3	4	2	3
抗 CD44	1	1	0	0	1
	12	2	3	4	5
	9	3	3	2	4
結腸癌 (TMA BC051111 & MC1801)					
ケース	グレード	強い	弱い	陰性	
GO-4C8	14	1	6	5	3
	62	2	15	25	22
	13	3	1	8	4
抗 CD44	14	1	5	6	3
	62	2	13	22	27
	13	3	1	8	4
乳癌 (TMA MC1801)					
ケース	グレード	強い	弱い	陰性	
GO-4C8	10	1	4	1	5
	9	2	0	4	5
	7	3	2	2	3
抗 CD44	10	1	2	3	5
	9	2	4	4	1
	7	3	3	3	1
膵臓癌 (TMA MC1801)					
ケース	グレード	強い	弱い	陰性	
GO-4C8	6	1	0	5	1
	10	2	2	4	4
	8	3	2	3	3
抗 CD44	6	1	1	4	1
	10	2	1	2	7
	8	3	2	4	2
前立腺癌 (TMA MC1801)					
ケース	グレード	強い	弱い	陰性	
GO-4C8	3	1	0	1	2
	11	2	0	0	11
	10	3	0	1	9
抗 CD44	3	1	0	0	3
	11	2	0	1	10
	10	3	0	2	8

図 2B

【図 3】

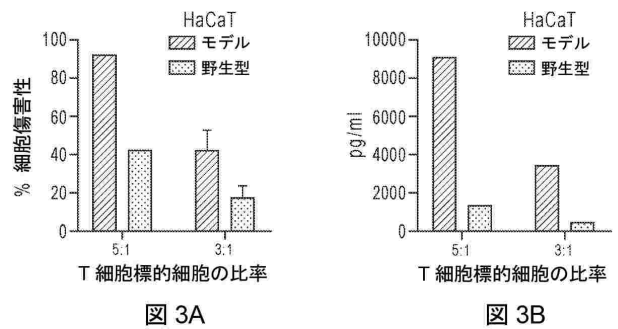


図 3A

図 3B

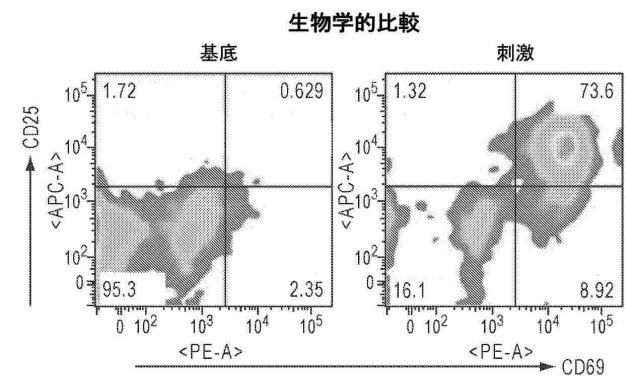


図 3C

10

20

30

40

50

【図 4】

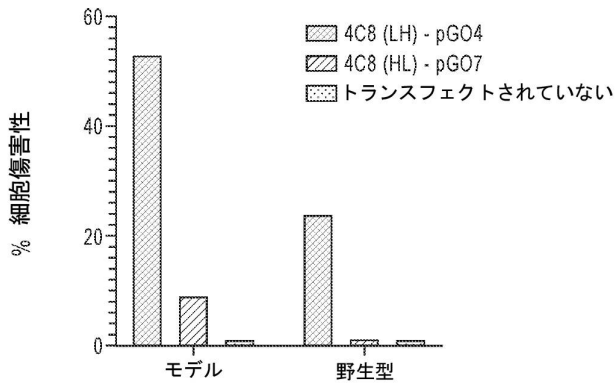


図 4

【図 5 - 1】

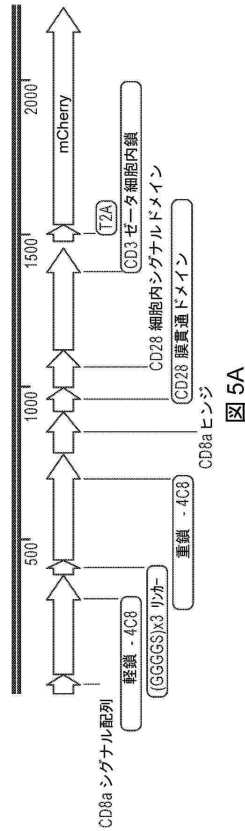


図 5A

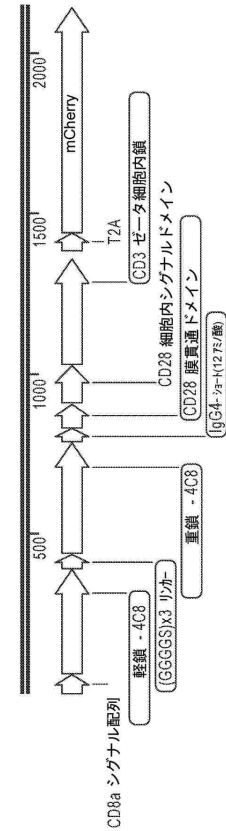


図 5B

【図 5 - 2】

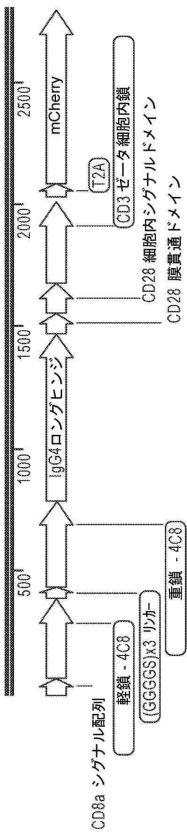


図 5C

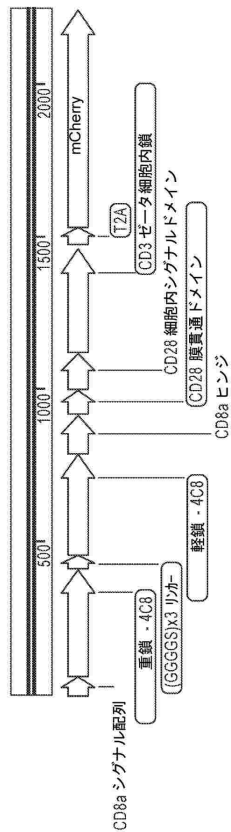


図 5D

【図 5 - 3】

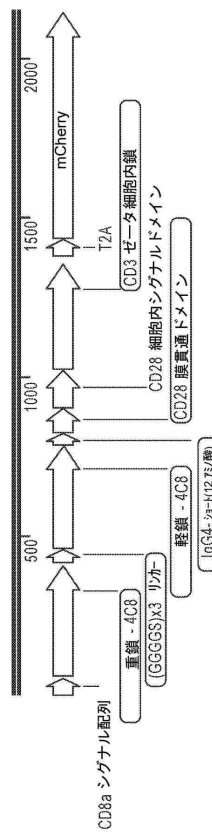


図 5E

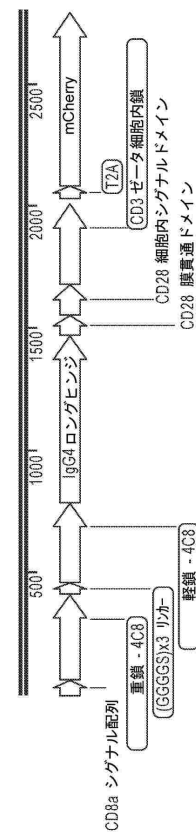


図 5F

10

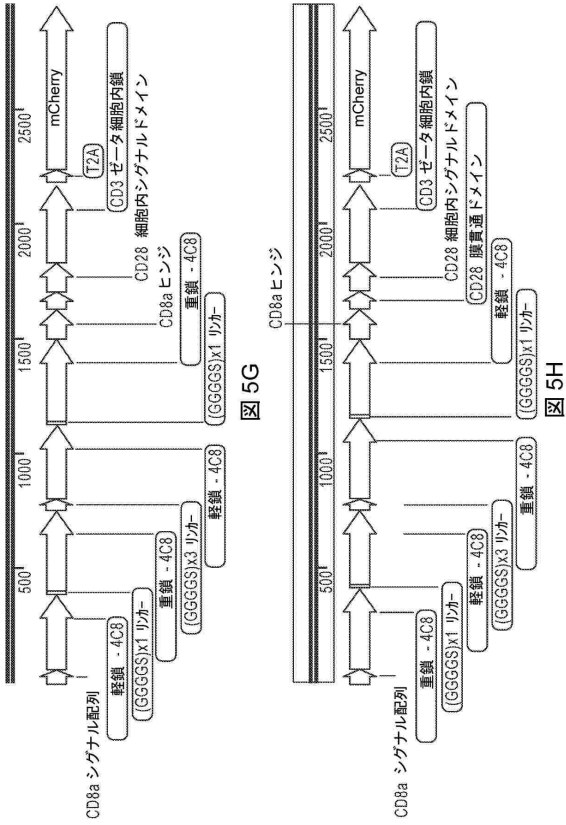
20

30

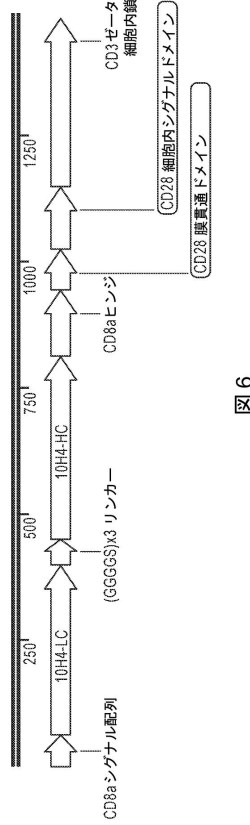
40

50

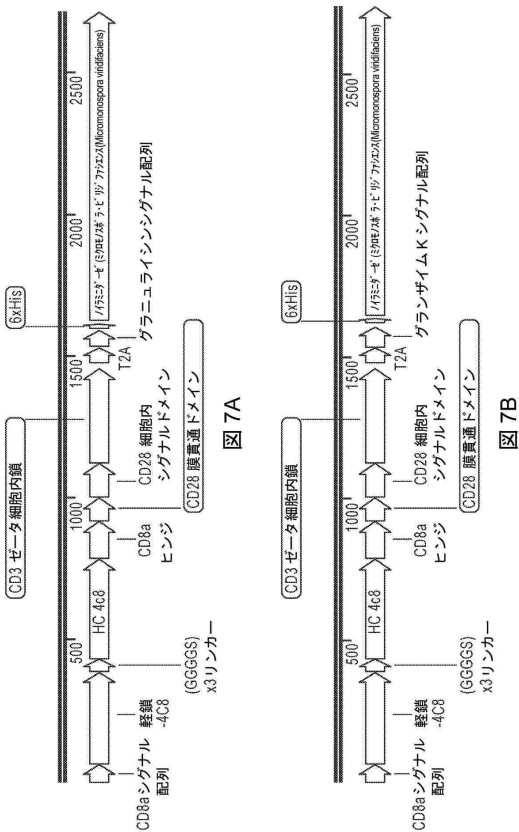
【図 5 - 4】



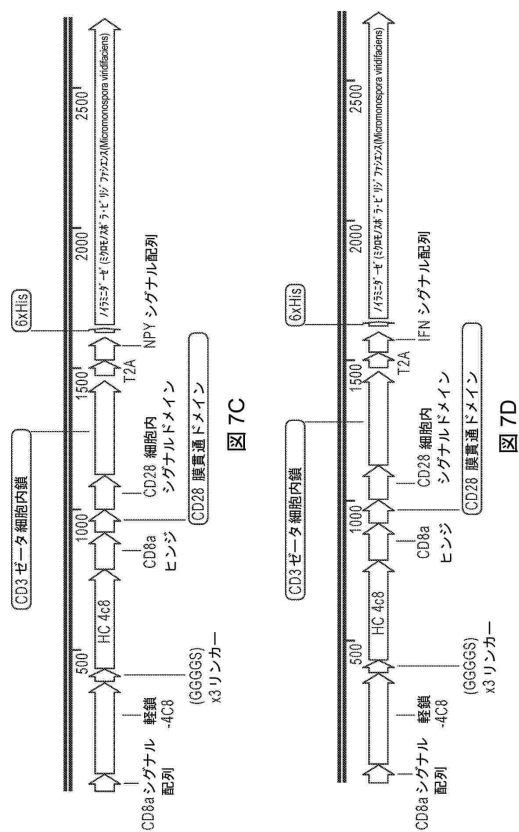
【図 6】



【図 7 - 1】



【図 7 - 2】



10

20

30

40

50

【図 7 - 3】

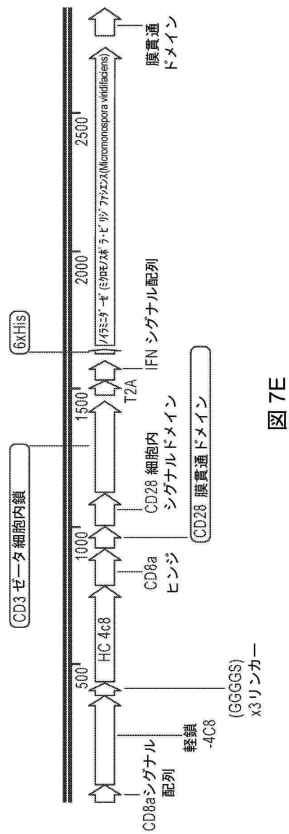


図 7E

【図 8 - 1】

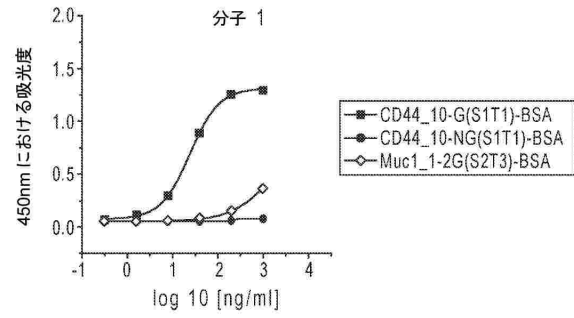


図 8A

10

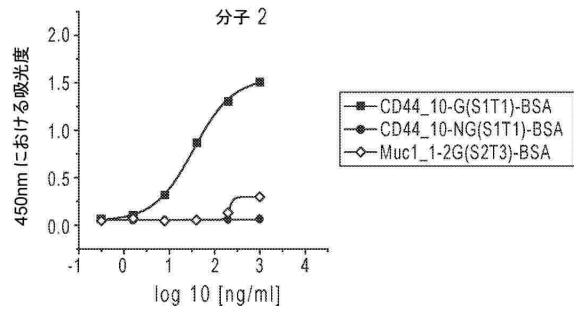


図 8B

20

【図 8 - 2】

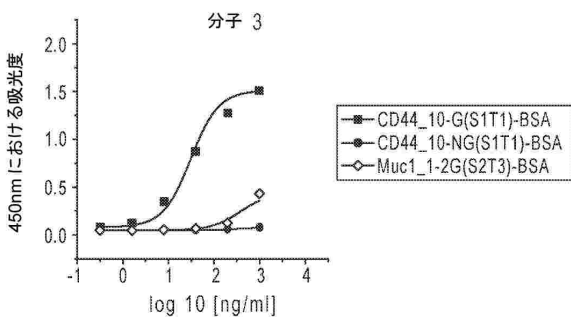


図 8C

【図 8 - 3】

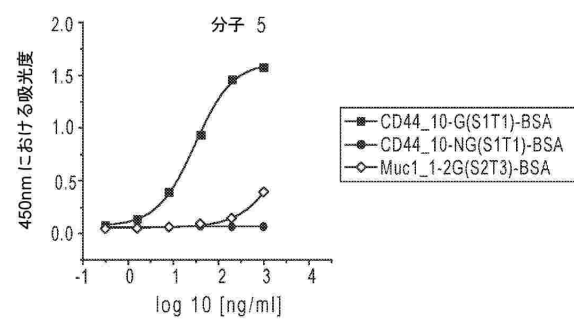


図 8E

30

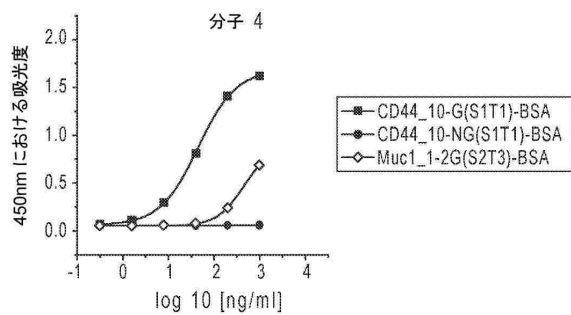


図 8D

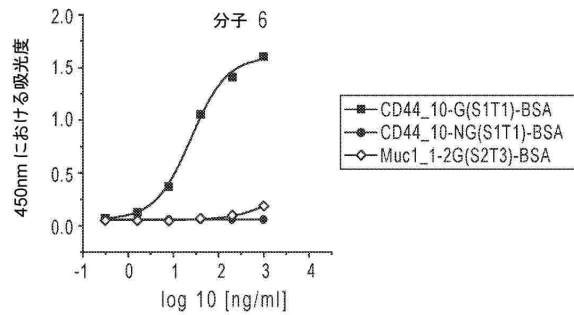


図 8F

40

50

【図 8 - 4】

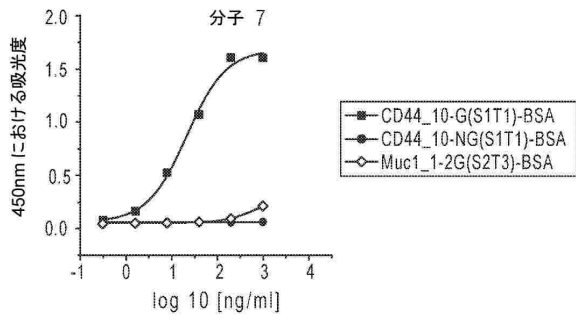


図 8G

【図 8 - 5】

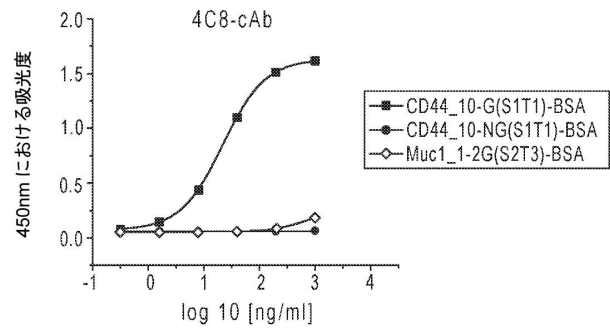


図 8I

10

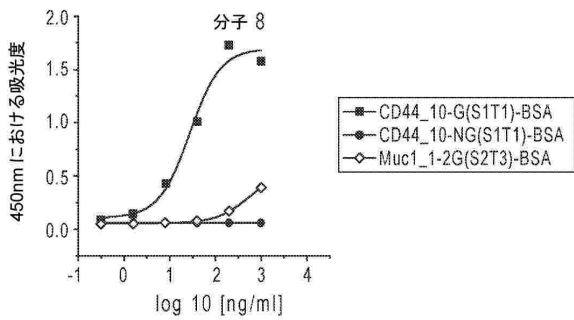


図 8H

20

【図 9 - 1】

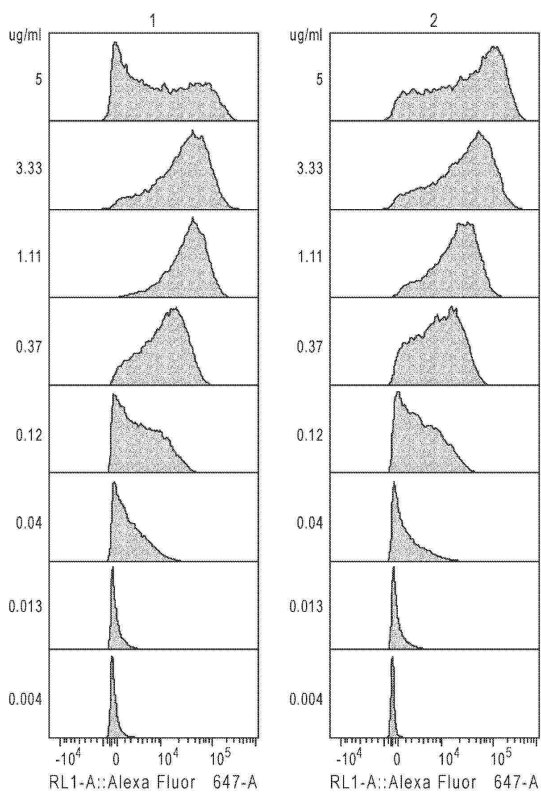


図 9A

図 9B

【図 9 - 2】

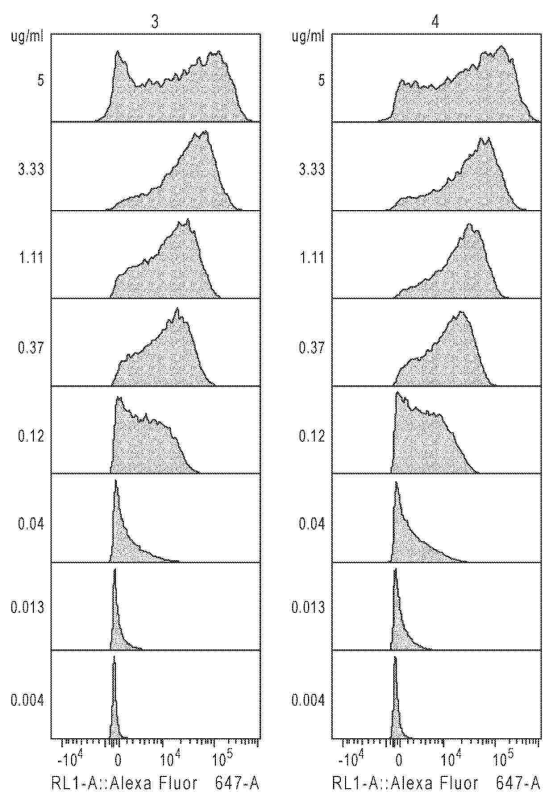


図 9C

図 9D

30

40

50

【図 9 - 3】

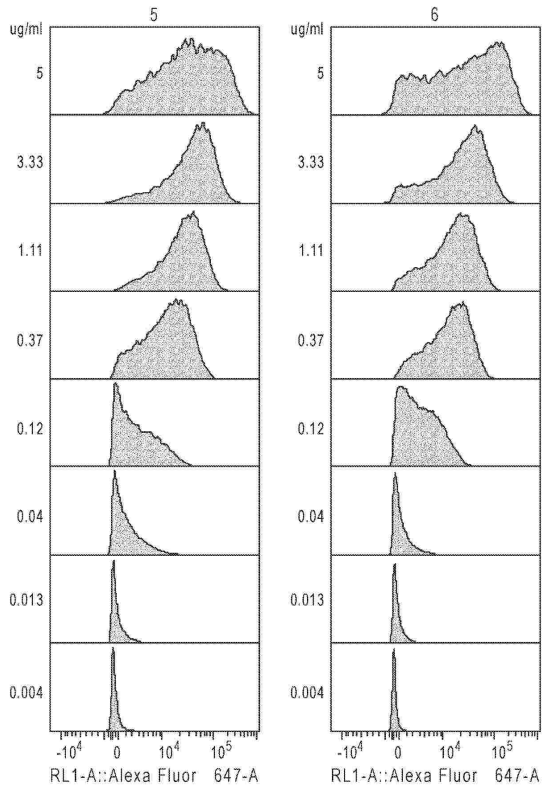


図 9E

図 9F

【図 9 - 4】

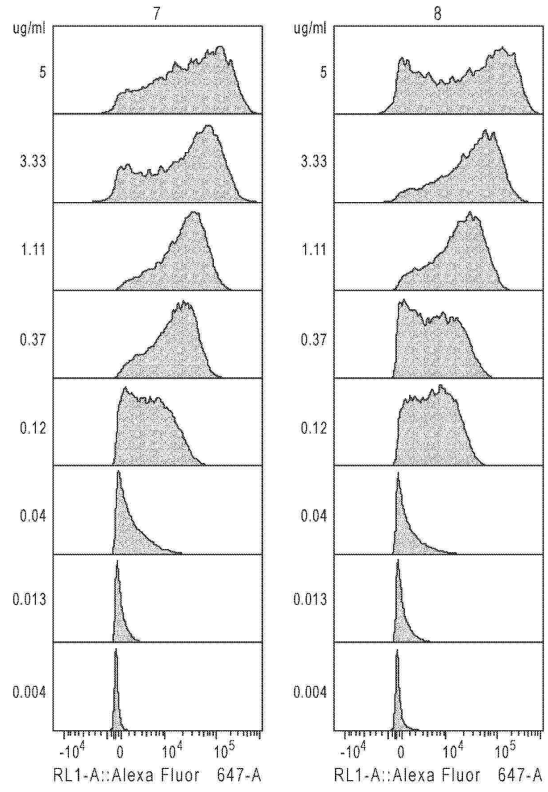


図 9G

図 9H

【図 9 - 5】

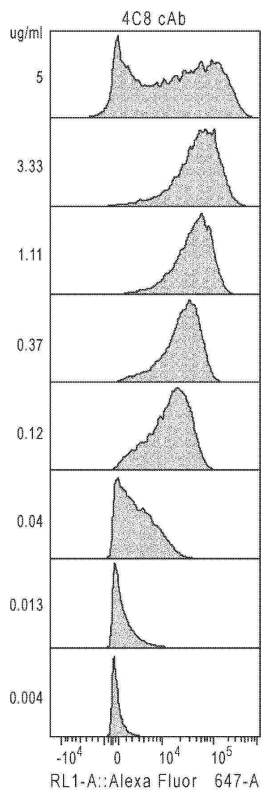


図 9I

10

20

30

40

50

【配列表】

2024512324000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/018863

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 C07K16/30 A61K39/00 C07K14/725 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
L	WO 2021/178896 A1 (GO THERAPEUTICS INC [US]) 10 September 2021 (2021-09-10) This document may take away the validity of the priorities of the present application (SEQ ID NO:1,2, comprising SEQ ID NO: 3-8,264,268,273,275 of the present application).; the whole document ----- -/--	1-38
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 16 May 2022		Date of mailing of the international search report 30/05/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Gruber, Andreas

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/018863

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PENG YING ET AL: "Targeting aggressive prostate cancer-associated CD44v6 using phage display selected peptides", ONCOTARGET, vol. 8, no. 49, 17 October 2017 (2017-10-17), pages 86747-86768, XP055826688, DOI: 10.18632/oncotarget.21421 e.g. page 86748, left-hand column, last paragraph; the whole document -----	1-38
X	US 2015/374848 A1 (DA CRUZ LUIS A G [CA] ET AL) 31 December 2015 (2015-12-31) e.g. paragraph 141, 176, 183; the whole document -----	1-38
X	CA 2 443 437 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM INT [DE]; BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA [US]) 28 November 2002 (2002-11-28) e.g. examples 1-4; figures 2,3; the whole document -----	1-38
X	CHEN CHEN ET AL: "The biology and role of CD44 in cancer progression: therapeutic implications", JOURNAL OF HEMATOLOGY & ONCOLOGY, vol. 11, no. 1, 1 December 2018 (2018-12-01), XP055822049, DOI: 10.1186/s13045-018-0605-5 Retrieved from the Internet: URL:https://jhoonline.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13045-018-0605-5.pdf> e.g. page 4, right-hand column, paragraph 2; page 11, left-hand column, paragraph 2; the whole document -----	1-38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2022/018863

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. ☒ forming part of the international application as filed:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2022/018863

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2021178896	A1	10-09-2021	NONE
US 2015374848	A1	31-12-2015	AU 2011212485 A1 19-07-2012
			BR 112012019475 A2 10-01-2017
			CA 2786337 A1 11-08-2011
			CL 2012001980 A1 23-11-2012
			CN 102741292 A 17-10-2012
			CR 20120429 A 06-12-2012
			DK 2531527 T3 05-05-2014
			EC SP12012138 A 28-09-2012
			EP 2531527 A1 12-12-2012
			ES 2460945 T3 16-05-2014
			HR P20140513 T1 18-07-2014
			IL 220092 A 29-02-2016
			JP 5763105 B2 12-08-2015
			JP 6037149 B2 30-11-2016
			JP 2013518848 A 23-05-2013
			JP 2015155409 A 27-08-2015
			KR 20130042466 A 26-04-2013
			MA 34010 B1 01-02-2013
			MY 157532 A 15-06-2016
			NZ 600079 A 26-07-2013
			PE 20130380 A1 30-03-2013
			PL 2531527 T3 29-08-2014
			PT 2531527 E 16-05-2014
			RS 53327 B 31-10-2014
			RU 2012137380 A 10-03-2014
			SG 182704 A1 30-08-2012
			SG 10201505118P A 30-07-2015
			SI 2531527 T1 31-07-2014
			TW 201130512 A 16-09-2011
			US 2013224108 A1 29-08-2013
			US 2015374848 A1 31-12-2015
			WO 2011095498 A1 11-08-2011
			ZA 201205649 B 28-01-2015
CA 2443437	A1	28-11-2002	AR 036154 A1 18-08-2004
			BR 0210905 A 08-06-2004
			CA 2443437 A1 28-11-2002
			CN 1541226 A 27-10-2004
			CZ 20033476 A3 12-05-2004
			EA 200301169 A1 24-06-2004
			EC SP034838 A 24-12-2003
			EE 200300569 A 15-04-2004
			EP 1397387 A1 17-03-2004
			HU 0400030 A2 28-04-2004
			JP 2005504517 A 17-02-2005
			MX PA03010523 A 01-07-2004
			PE 20021098 A1 11-02-2003
			PL 365735 A1 10-01-2005
			SK 15592003 A3 08-06-2004
			WO 02094879 A1 28-11-2002
			YU 91403 A 25-05-2006
			ZA 200307365 B 10-05-2004

フロントページの続き

(51)国際特許分類		F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	4 H 0 4 5
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	13/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	1/18 (2006.01)	A 6 1 P	13/00	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/18	
A 6 1 P	11/02 (2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	11/04 (2006.01)	A 6 1 P	11/02	
A 6 1 P	1/02 (2006.01)	A 6 1 P	11/04	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/02	
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 K	35/12 (2015.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	48/00	
G 0 1 N	33/574(2006.01)	A 6 1 K	47/68	
G 0 1 N	33/531(2006.01)	G 0 1 N	33/574	B
		G 0 1 N	33/531	A

(32)優先日 令和3年10月22日(2021.10.22)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1. T W E E N

2. プルロニック

デンマーク国 ディーケー 2 9 2 0 , シャーロテンルン, エスペランス アレ 1 8

(72)発明者 シュナーベル, ジュリア

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9 , ケンブリッジ, ユニット 2 , ブロードウェイ 2 5 0

(72)発明者 タン, エドウィン

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 1 7 4 5 , アシエンダ ヘイツ, ディアヘブン ドライブ 1 5 0 3

(72)発明者 グロン, アーロン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 7 6 , メルローズ, マウント バーノン ストリート 1 6
(72)発明者 ジョンソン モールス ジュニア, リチャード
アメリカ合衆国 コネチカット州 0 6 8 0 1 , トレイル ベセル, ヒドゥン ブルック 3 5
F ターム (参考) 4B065 AA92X AA94X AB01 AB05 AC14 AC20 BA02 BA08 CA24 CA25
CA44 CA46
4C076 CC01 CC10 CC15 CC16 CC17 CC18 CC26 CC27 EE41 EE59
FF34
4C084 AA13 AA17 NA14 ZA011 ZA341 ZA591 ZA661 ZA671 ZA751 ZA811
ZA891 ZB211 ZB261
4C085 AA14 AA16 AA27 AA38 BB41 CC23 DD62 DD86 EE01 EE06
4C087 AA01 AA03 BB63 CA04 CA12 NA14 ZA01 ZA34 ZA59 ZA66
ZA67 ZA75 ZA81 ZA89 ZB21 ZB26
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 EA28
FA74