

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-514477
(P2024-514477A)

(43)公表日 令和6年4月2日(2024.4.2)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12		4 B 0 6 3
C 0 7 K	14/725 (2006.01)	C 0 7 K	14/725	Z N A	4 B 0 6 5
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00		4 C 0 7 6
C 1 2 N	5/0783(2010.01)	C 1 2 N	5/0783		4 C 0 8 4
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全195頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-560004(P2023-560004)			(71)出願人	500039463
(86)(22)出願日	令和4年3月29日(2022.3.29)				ボード オブ リージェンツ, ザ ユニバ
(85)翻訳文提出日	令和5年11月22日(2023.11.22)				ーシティ オブ テキサス システム
(86)国際出願番号	PCT/US2022/022324				BOARD OF REGENTS, TH
(87)国際公開番号	WO2022/212361				E UNIVERSITY OF TEX
(87)国際公開日	令和4年10月6日(2022.10.6)				AS SYSTEM
(31)優先権主張番号	63/167,433				アメリカ合衆国 7 8 7 0 1 テキサス州
(32)優先日	令和3年3月29日(2021.3.29)				, オースティン, ウェスト 7 番 ストリ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)				ート 2 1 0
(31)優先権主張番号	63/210,198				2 1 0 West 7 th Street
(32)優先日	令和3年6月14日(2021.6.14)				Austin, Texas 7 8 7 0 1
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100102978
(31)優先権主張番号	63/314,870				弁理士 清水 初志
		最終頁に続く		(74)代理人	100205707
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 S A R S − C O V − 2 抗原を標的とするペプチドおよび操作された T 細胞受容体ならびに使用の方法

(57)【要約】
本開示は、ワクチン接種および他の用途に有用なペプチド、操作されたT細胞受容体(TCR)、該ペプチドおよびTCRを含む細胞、ならびに該ペプチドおよびTCRを作製および使用する方法を提供する。本開示は、膜グリコールタンパク質(membrane glycol-protein)(MGP)であるMGP-65からのSARS-Cov-2 HLA-A2拘束性ペプチドFVLAADVRI (SEQ ID NO:22)を特異的に認識するTCRに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

SEQ ID NO:7のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:7に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項 2】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項1記載のポリペプチド。

【請求項 3】

可変領域が、それぞれSEQ ID NO:5および6のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:5およびSEQ ID NO:6に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項2記載のポリペプチド。

10

【請求項 4】

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:3、またはSEQ ID NO:3に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1～3のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 5】

T細胞受容体アルファ(TCR- α)可変領域を含む、請求項1～4のいずれか一項記載のポリペプチド。

20

【請求項 6】

TCR- α 可変および定常領域を含む、請求項5記載のポリペプチド。

【請求項 7】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項1～6のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 8】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:4のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:4に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項7記載のポリペプチド。

【請求項 9】

SEQ ID NO:14のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:14に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

30

【請求項 10】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項9記載のポリペプチド。

【請求項 11】

可変領域が、それぞれSEQ ID NO:12およびSEQ ID NO:13のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:12およびSEQ ID NO:13に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項10記載のポリペプチド。

40

【請求項 12】

可変領域が、SEQ ID NO:10のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:10に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項9～11のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 13】

T細胞受容体アルファ(TCR- α)可変領域を含む、請求項9～12のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 14】

TCR- α 可変および定常領域を含む、請求項13記載のポリペプチド。

【請求項 15】

50

シグナルペプチドをさらに含む、請求項9～14のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項16】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:11のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:11に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項15記載のポリペプチド。

【請求項17】

SEQ ID NO:21のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:21に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項18】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項17記載のポリペプチド。

10

【請求項19】

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:19および20のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:19およびSEQ ID NO:20に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項18記載のポリペプチド。

【請求項20】

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:17、またはSEQ ID NO:17に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項17～19のいずれか一項記載のポリペプチド。

20

【請求項21】

T細胞受容体ベータ(TCR-b)可変領域を含む、請求項17～20のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項22】

TCR-b可変および定常領域を含む、請求項21記載のポリペプチド。

【請求項23】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項17～22のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項24】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:18のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:18に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項23記載のポリペプチド。

30

【請求項25】

SEQ ID NO:92のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:92に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項26】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項25記載のポリペプチド。

【請求項27】

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:90および91のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:90および91に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項26記載のポリペプチド。

40

【請求項28】

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:88、またはSEQ ID NO:88に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項25～27のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項29】

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、請求項25～28のいずれか一項記載の

50

ポリペプチド。

【請求項 30】

TCR-a 可変および定常領域を含む、請求項 29 記載のポリペプチド。

【請求項 31】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項 25～30 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 32】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:89 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:89 に対して少なくとも 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 31 記載のポリペプチド。

【請求項 33】

SEQ ID NO:99 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:99 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む CDR3 を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

10

【請求項 34】

可変領域が CDR1、CDR2、および/または CDR3 を含む、請求項 33 記載のポリペプチド。

【請求項 35】

可変領域が、

それぞれ SEQ ID NO:97 および SEQ ID NO:98 のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれ SEQ ID NO:97 および SEQ ID NO:98 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する、CDR1 および/または CDR2

20

を含む、請求項 34 記載のポリペプチド。

【請求項 36】

可変領域が、SEQ ID NO:95 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:95 に対して少なくとも 70% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 33～35 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 37】

T 細胞受容体 アルファ (TCR-b) 可変領域を含む、請求項 33～36 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 38】

TCR-b 可変および定常領域を含む、請求項 37 記載のポリペプチド。

30

【請求項 39】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項 33～38 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 40】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:96 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:96 に対して少なくとも 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 39 記載のポリペプチド。

【請求項 41】

SEQ ID NO:106 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:106 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む CDR3 を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項 42】

可変領域が CDR1、CDR2、および/または CDR3 を含む、請求項 41 記載のポリペプチド。

40

【請求項 43】

可変領域が、

それぞれ SEQ ID NO:104 および 105 のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれ SEQ ID NO:104 および 105 に対して少なくとも 80% の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1 および/または CDR2

を含む、請求項 42 記載のポリペプチド。

【請求項 44】

可変領域が、アミノ酸配列もしくは SEQ ID NO:102、または SEQ ID NO:102 に対

50

して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項41～43のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項45】

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、請求項41～44のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項46】

TCR-a可変および定常領域を含む、請求項45記載のポリペプチド。

【請求項47】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項41～46のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項48】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:103のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:103に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項47記載のポリペプチド。

【請求項49】

SEQ ID NO:113のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:113に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項50】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項49記載のポリペプチド。

【請求項51】

可変領域が、
それぞれSEQ ID NO:111およびSEQ ID NO:112のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:111およびSEQ ID NO:112に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項50記載のポリペプチド。

【請求項52】

可変領域が、SEQ ID NO:109のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:109に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項49～51のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項53】

T細胞受容体アルファ(TCR-b)可変領域を含む、請求項49～52のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項54】

TCR-b可変および定常領域を含む、請求項53記載のポリペプチド。

【請求項55】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項49～54のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項56】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:110のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:110に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項55記載のポリペプチド。

【請求項57】

SEQ ID NO:120のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:120に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項58】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項57記載のポリペプチド。

【請求項59】

可変領域が、

10

20

30

40

50

それぞれSEQ ID NO:118および119のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:118および119に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項58記載のポリペプチド。

【請求項60】

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:116、またはSEQ ID NO:116に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項57～59のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項61】

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、請求項57～60のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項62】

TCR-a可変および定常領域を含む、請求項61記載のポリペプチド。

【請求項63】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項57～62のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項64】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:117のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:117に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項63記載のポリペプチド。

【請求項65】

SEQ ID NO:127のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:127に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項66】

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、請求項65記載のポリペプチド。

【請求項67】

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:125およびSEQ ID NO:126のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:125およびSEQ ID NO:126に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、請求項66記載のポリペプチド。

【請求項68】

可変領域が、SEQ ID NO:123のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:123に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項65～67のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項69】

T細胞受容体アルファ(TCR-b)可変領域を含む、請求項65～68のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項70】

TCR-b可変および定常領域を含む、請求項69記載のポリペプチド。

【請求項71】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項65～70のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項72】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:124のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:124に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項71記載のポリペプチド。

【請求項73】

SEQ ID NO:134のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:134に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペ

10

20

30

40

50

チド。

【請求項 7 4】

可変領域が CDR1、CDR2、および/または CDR3 を含む、請求項 73 記載のポリペプチド。

【請求項 7 5】

可変領域が、

それぞれ SEQ ID NO:132 および 133 のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれ SEQ ID NO:132 および 133 に対して少なくとも 80% の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1 および/または CDR2

を含む、請求項 74 記載のポリペプチド。

【請求項 7 6】

可変領域が、アミノ酸配列もしくは SEQ ID NO:130、または SEQ ID NO:130 に対して少なくとも 70% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 73～75 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 7 7】

T 細胞受容体 アルファ (TCR- α) 可変領域を含む、請求項 73～76 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 7 8】

TCR- α 可変および定常領域を含む、請求項 77 記載のポリペプチド。

【請求項 7 9】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項 73～78 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 8 0】

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:131 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:131 に対して少なくとも 80% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 79 記載のポリペプチド。

【請求項 8 1】

SEQ ID NO:141 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:141 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む CDR3 を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

【請求項 8 2】

可変領域が CDR1、CDR2、および/または CDR3 を含む、請求項 81 記載のポリペプチド。

【請求項 8 3】

可変領域が、

それぞれ SEQ ID NO:139 および SEQ ID NO:140 のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれ SEQ ID NO:139 および SEQ ID NO:140 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する、CDR1 および/または CDR2

を含む、請求項 82 記載のポリペプチド。

【請求項 8 4】

可変領域が、SEQ ID NO:137 のアミノ酸配列または SEQ ID NO:137 に対して少なくとも 70% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 81～83 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 8 5】

T 細胞受容体 アルファ (TCR- β) 可変領域を含む、請求項 81～84 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 8 6】

TCR- β 可変および定常領域を含む、請求項 85 記載のポリペプチド。

【請求項 8 7】

シグナルペプチドをさらに含む、請求項 81～86 のいずれか一項記載のポリペプチド。

【請求項 8 8】

10

20

30

40

50

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:138のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:138に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項87記載のポリペプチド。

【請求項89】

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:7のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:7に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR3、または

(ii) SEQ ID NO:14のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:14に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR3

を含み、

かつTCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:21のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:21に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR3

を含む、

操作されたTCR。

【請求項90】

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、請求項89記載のTCR。

【請求項91】

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:5に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1、または

(ii) SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:12に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1

を含み、

かつ/あるいはTCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:19に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1

を含む、

請求項90記載のTCR。

【請求項92】

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:6のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:6に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2、または

(ii) SEQ ID NO:13のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:13に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2

を含み、

かつ/あるいはTCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:20に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2

を含む、

請求項90または91記載のTCR。

【請求項93】

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、

(i) それぞれSEQ ID NO: 5、6、および7のアミノ酸配列、または

(ii) それぞれSEQ ID NO: 12、13、および14のアミノ酸配列

を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID

10

20

30

40

50

NO:19、20、および21のアミノ酸配列を含む、請求項90～92のいずれか一項記載のTCR。

【請求項94】

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:3のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:3に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列、または

(ii) SEQ ID NO:10のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:10に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列

を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:17のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:17に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項90～93のいずれか一項記載のTCR。

10

【請求項95】

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:92のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:92に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:99のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:99に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

【請求項96】

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、請求項95記載のTCR。

20

【請求項97】

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:90のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:90に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含み、かつ/または

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:97のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:97に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含む、請求項96記載のTCR。

30

【請求項98】

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:91のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:91に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2を含み、かつ/または

TCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:98のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:98に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2を含む、

40

請求項96または97記載のTCR。

【請求項99】

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:90、91、および92のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:97、98、および99のアミノ酸配列を含む、請求項96～98のいずれか一項記載のTCR。

【請求項100】

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:88のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:88に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチド

50

が、SEQ ID NO:95のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:95に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項96～99のいずれか一項記載のTCR。

【請求項101】

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:106のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:106に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:113のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:113に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

【請求項102】

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、請求項101記載のTCR。

【請求項103】

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:104のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:104に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1
を含み、かつ/または
TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:111のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:111に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1
を含む、
請求項102記載のTCR。

【請求項104】

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:105のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:105に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含み、かつ/または
TCR-bポリペプチドが、
SEQ ID NO:112のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:112に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含む、
請求項102または103記載のTCR。

【請求項105】

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:104、105、および106のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:111、112、および113のアミノ酸配列を含む、請求項102～104のいずれか一項記載のTCR。

【請求項106】

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:102のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:102に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:109のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:109に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項102～105のいずれか一項記載のTCR。

【請求項107】

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:120のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:120に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:127のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:127に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む

10

20

30

40

50

、操作されたTCR。

【請求項108】

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、請求項107記載のTCR。

【請求項109】

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:118のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:118に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1
を含み、かつ/または
TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:125のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:125に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1
を含む、
請求項108記載のTCR。

10

【請求項110】

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:119のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:119に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含み、かつ/または
TCR-bポリペプチドが、
SEQ ID NO:126のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:126に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含む、
請求項108または109記載のTCR。

20

【請求項111】

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:118、119、および120のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:125、126、および127のアミノ酸配列を含む、請求項108～110のいずれか一項記載のTCR。

30

【請求項112】

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:116のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:116に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:123のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:123に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項108～111のいずれか一項記載のTCR。

【請求項113】

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:134のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:134に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:141のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:141に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

40

【請求項114】

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、請求項113記載のTCR。

【請求項115】

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:132のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:132に対して少な

50

くとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含み、かつ/または

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:139のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:139に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含む、請求項114記載のTCR。

【請求項116】

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:133のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:133に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2を含み、かつ/または

TCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:140のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:140に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2を含む、

請求項114または115記載のTCR。

【請求項117】

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:132、133、および134のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:139、140、および141のアミノ酸配列を含む、請求項114～116のいずれか一項記載のTCR。

【請求項118】

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:130のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:130に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:137のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:137に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項114～117のいずれか一項記載のTCR。

【請求項119】

修飾を含むか、またはキメラである、請求項89～118のいずれか一項記載のTCR。

【請求項120】

TCR-bポリペプチドとTCR-aポリペプチドとが機能的に連結されている、請求項89～119のいずれか一項記載のTCR。

【請求項121】

TCR-bポリペプチドとTCR-aポリペプチドとが、ペプチド結合によって機能的に連結されている、請求項120記載のTCR。

【請求項122】

一本鎖TCRである、請求項121記載のTCR。

【請求項123】

TCR-bポリペプチドおよびTCR-aポリペプチドが同じポリペプチド上にあり、かつTCR-bがTCR-aのアミノ近位にある、請求項121記載のTCR。

【請求項124】

TCR-bポリペプチドおよびTCR-aポリペプチドが同じポリペプチド上にあり、かつTCR-aがTCR-bのアミノ近位にある、請求項121記載のTCR。

【請求項125】

TCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとの間にリンカーを含む、請求項122～124のいずれか一項記載のTCR。

【請求項126】

リンカーがグリシンおよびセリン残基を含む、請求項125記載のTCR。

【請求項127】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも60%の配列同一性を

10

20

30

40

50

含む、ペプチド。

【請求項 128】

SEQ ID NO:22を含む、請求項127記載のペプチド。

【請求項 129】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つについての少なくとも6個の連続するアミノ酸を含む、請求項127記載のペプチド。

【請求項 130】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも7個の連続するアミノ酸を含む、請求項127記載のペプチド。

【請求項 131】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも8個の連続するアミノ酸を含む、請求項127記載のペプチド。

【請求項 132】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも9個の連続するアミノ酸を含む、請求項127記載のペプチド。

【請求項 133】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも10個の連続するアミノ酸を含む、請求項127記載のペプチド。

【請求項 134】

13個のアミノ酸の長さであるか、またはそれより短い、請求項127～133のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 135】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも63%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 136】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも66%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 137】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも70%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 138】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも72%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 139】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも77%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 140】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも80%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 141】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも81%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 142】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも88%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 143】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも90%の配列同一性を含む、請求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項 144】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する100%の配列同一性を含む、請

10

20

30

40

50

求項127～134のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項145】

9個のアミノ酸からなる、請求項134～144のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項146】

10個のアミノ酸からなる、請求項134～144のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項147】

11個のアミノ酸からなる、請求項134～144のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項148】

12個のアミノ酸からなる、請求項134～144のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項149】

13個のアミノ酸からなる、請求項134～144のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項150】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドからなる、請求項127～149のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項151】

免疫原性である、請求項127～150のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項152】

修飾されている、請求項127～151のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項153】

前記修飾が、ある分子とのコンジュゲーションを含む、請求項152記載のペプチド。

【請求項154】

前記分子が、抗体、脂質、アジュバント、または検出部分を含む、請求項152または153記載のペプチド。

【請求項155】

SEQ ID NO:22～38のうちの1つを含むか、もしくはそれからなる、またはSEQ ID NO:22～38のうちの1つに対する少なくとも60%の配列同一性を含むペプチドを含むか、もしくはそれからなる、請求項127～154のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項156】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対して1、2、または3個の置換を有する、請求項127～155のいずれか一項記載のペプチド。

【請求項157】

請求項127～156のいずれか一項記載のペプチドを含む、ポリペプチド。

【請求項158】

少なくとも1つのMHCポリペプチドと、請求項1～157のいずれか一項記載のペプチドまたはポリペプチドとを含む、組成物。

【請求項159】

前記MHCポリペプチドが、および/または前記ペプチドが、検出タグにコンジュゲートされている、請求項158記載の組成物。

【請求項160】

前記MHCポリペプチドと前記ペプチドとが機能的に連結されている、請求項158または159記載の組成物。

【請求項161】

前記MHCポリペプチドと前記ペプチドとがペプチド結合によって機能的に連結されている、請求項160記載の組成物。

【請求項162】

前記MHCポリペプチドと前記ペプチドとがファンデルワールス力によって機能的に連結されている、請求項161記載の組成物。

【請求項163】

少なくとも2つのMHCポリペプチドが、1つのペプチドに連結されている、請求項158～162のいずれか一項記載の組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 164】

MHCポリペプチド対ペプチドの平均比が4:1である、請求項158～163のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 165】

請求項127～のいずれか一項記載のペプチドまたは請求項157記載のポリペプチドと、MHCポリペプチドとを含む、分子複合体。

【請求項 166】

請求項127～157のいずれか一項記載のペプチドもしくはポリペプチドまたは請求項165記載の分子複合体に特異的に結合する、ペプチド特異的結合分子。

【請求項 167】

抗体、TCR模倣抗体、scFv、ラクダ科動物由来、アプタマー、またはDARPINである、請求項166記載の結合分子。

【請求項 168】

(a) 免疫エフェクター細胞の出発集団を得る段階、および

(b) 免疫エフェクター細胞の出発集団を、請求項127～157のいずれか一項記載のペプチドもしくはポリペプチドまたは請求項165記載の分子複合体と接触させる段階であって、それによりペプチド特異的免疫エフェクター細胞を作製する、段階を含む、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞を産生する方法。

【請求項 169】

コロナウイルスが、コウモリから単離されたコロナウイルスである、請求項168記載の方法。

【請求項 170】

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、請求項168または169記載の方法。

【請求項 171】

接触させる段階が、免疫エフェクター細胞の出発集団を、抗原提示細胞(APC)、人工抗原提示細胞(aAPC)、または人工抗原提示表面(aAPS)と共培養すること、としてさらに定義され、ここでAPC、aAPC、またはaAPSが、その表面に前記ペプチドを提示する、請求項168～170のいずれか一項記載の方法。

【請求項 172】

APCが樹状細胞である、請求項171記載の方法。

【請求項 173】

免疫エフェクター細胞が、T細胞、末梢血リンパ球、NK細胞、インバリアントNK細胞、NKT細胞である、請求項168～172のいずれか一項記載の方法。

【請求項 174】

免疫エフェクター細胞が、間葉系幹細胞(MSC)または人工多能性幹(iPS)細胞から分化されている、請求項168～173のいずれか一項記載の方法。

【請求項 175】

T細胞が、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、または $\gamma\delta$ T細胞である、請求項173記載の方法。

【請求項 176】

T細胞が細胞傷害性Tリンパ球(CTL)である、請求項173記載の方法。

【請求項 177】

得る段階が、末梢血単核細胞(PBMC)から免疫エフェクター細胞の出発集団を単離することを含む、請求項168～176のいずれか一項記載の方法。

【請求項 178】

免疫エフェクター細胞の出発集団が対象から得られる、請求項168～177のいずれか一項記載の方法。

【請求項 179】

対象がヒトである、請求項178記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 180】

対象が、コロナウイルス感染症を有する、請求項179記載の方法。

【請求項 181】

コロナウイルス感染症がCOVID-19またはSARSを含む、請求項180記載の方法。

【請求項 182】

対象が、コロナウイルス感染症の1つまたは複数の症状を有する、請求項168～181のいずれか一項記載の方法。

【請求項 183】

対象が、コロナウイルス感染症のいかなる症状も有しない、請求項168～181のいずれか一項記載の方法。

【請求項 184】

対象が、コロナウイルス感染症と診断されている、請求項168～181のいずれか一項記載の方法。

【請求項 185】

対象が、コロナウイルス感染症と診断されていない、請求項178～183のいずれか一項記載の方法。

【請求項 186】

対象が、コロナウイルス感染症について以前に処置されている、請求項178～185のいずれか一項記載の方法。

【請求項 187】

共培養の前に、前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸を樹状細胞に導入する段階をさらに含む、請求項178～186のいずれか一項記載の方法。

【請求項 188】

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、エレクトロポレーションにより導入される、請求項187記載の方法。

【請求項 189】

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、樹状細胞培養培地に前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸を添加することにより導入される、請求項187記載の方法。

【請求項 190】

免疫エフェクター細胞が、前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が導入された樹状細胞の第2の集団と共培養される、請求項187～189のいずれか一項記載の方法。

【請求項 191】

共培養の後に、免疫エフェクター細胞から、CD8またはCD4陽性かつコロナウイルスペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団が精製される、請求項187～190のいずれか一項記載の方法。

【請求項 192】

コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団が、限界希釈または連続希釈、続いて急速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって作製される、請求項191記載の方法。

【請求項 193】

ペプチド特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団からのT細胞受容体(TCR)のクローニングをさらに含む、請求項192記載の方法。

【請求項 194】

TCRのクローニングが、TCR α 鎖および β 鎖のクローニングである、請求項193記載の方法。

【請求項 195】

TCRが、5'-cDNA末端迅速増幅(RACE)法を用いてクローニングされる、請求項193または請求項194記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 196】

クローニングされたTCRが、発現ベクターにサブクローニングされる、請求項195記載の方法。

【請求項 197】

発現ベクターがレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項196記載の方法。

【請求項 198】

発現ベクターを宿主細胞に形質導入して、TCRを発現する操作された細胞を作製する段階をさらに含む、請求項196または197記載の方法。

【請求項 199】

宿主細胞が免疫細胞である、請求項198記載の方法。

【請求項 200】

免疫細胞がT細胞であり、かつ操作された細胞が、操作されたT細胞である、請求項168～199のいずれか一項記載の方法。

【請求項 201】

T細胞が、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、または $\gamma\delta$ T細胞であり、かつ操作された細胞が、操作されたT細胞である、請求項200記載の方法。

【請求項 202】

免疫エフェクター細胞の出発集団が、SARS-CoV-2感染症を有する対象から得られ、かつ宿主細胞が対象に対して同種または自家である、請求項168～201のいずれか一項記載の方法。

【請求項 203】

CD8またはCD4陽性かつペプチドMHC四量体陽性の操作されたT細胞の集団が、形質導入された宿主細胞から精製される、請求項198～202のいずれか一項記載の方法。

【請求項 204】

ペプチド特異的な操作されたT細胞のクローン集団が、限界希釈または連続希釈、続いて迅速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって作製される、請求項168～203のいずれか一項記載の方法。

【請求項 205】

(a) 免疫エフェクター細胞の出発集団を得る段階、
(b) 免疫エフェクター細胞の出発集団を、請求項216～157のいずれか一項記載のコロナウイルスペプチドまたはポリペプチドと接触させる段階であって、それによりコロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞を作製する、段階、
(c) 該コロナウイルスペプチドに特異的な免疫エフェクター細胞を精製する段階、
(d) 精製された免疫エフェクター細胞からTCR配列を単離する段階
を含む、コロナウイルスT細胞受容体(TCR)をクローニングする方法。

【請求項 206】

コロナウイルスが、コウモリから単離されたコロナウイルスである、請求項205記載の方法。

【請求項 207】

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、請求項205または206記載の方法。

【請求項 208】

接触させる段階が、免疫エフェクター細胞の出発集団を、抗原提示細胞(APC)と共培養すること、としてさらに定義され、ここでAPCが、その表面に前記コロナウイルスペプチドを提示する、請求項206～207のいずれか一項記載の方法。

【請求項 209】

APCが樹状細胞である、請求項208記載の方法。

【請求項 210】

免疫エフェクター細胞が、T細胞、末梢血リンパ球、NK細胞、インバリアントNK細胞

10

20

30

40

50

、NKT細胞である、請求項205～209のいずれか一項記載の方法。

【請求項211】

免疫エフェクター細胞が、間葉系幹細胞(MSC)または人工多能性幹(iPS)細胞から分化されている、請求項205～210のいずれか一項記載の方法。

【請求項212】

T細胞が、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、または $\gamma\delta$ T細胞である、請求項210または211記載の方法。

【請求項213】

T細胞が細胞傷害性Tリンパ球(CTL)である、請求項210～212のいずれか一項記載の方法。

【請求項214】

得る段階が、末梢血単核細胞(PBMC)から免疫エフェクター細胞の出発集団を単離することを含む、請求項205～213のいずれか一項記載の方法。

【請求項215】

免疫エフェクター細胞の出発集団が対象から得られる、請求項205～214のいずれか一項記載の方法。

【請求項216】

対象がヒトである、請求項215記載の方法。

【請求項217】

対象が、コロナウイルス感染症を有する、請求項215または216記載の方法。

【請求項218】

対象が、COVID-19またはSARSを有する、請求項217記載の方法。

【請求項219】

共培養の前に、前記コロナウイルスペプチドまたは前記コロナウイルスペプチドをコードする核酸を樹状細胞に導入する段階をさらに含む、請求項205～218のいずれか一項記載の方法。

【請求項220】

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、エレクトロポレーションにより導入される、請求項219記載の方法。

【請求項221】

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、樹状細胞の培地に前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸を添加することにより導入される、請求項219記載の方法。

【請求項222】

免疫エフェクター細胞が、前記コロナウイルスペプチドまたは前記コロナウイルスペプチドをコードする核酸が導入された樹状細胞の第2の集団と共培養される、請求項219記載の方法。

【請求項223】

精製する段階が、共培養の後に、免疫エフェクター細胞から、CD8陽性かつコロナウイルスペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団を精製すること、として定義される、請求項219記載の方法。

【請求項224】

CD8陽性かつコロナウイルスペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団が、蛍光活性化細胞選別(FACS)によって精製される、請求項223記載の方法。

【請求項225】

精製する段階が、選別された細胞の限界希釈または連続希釈、続いて迅速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団を作製することをさらに含む、請求項224記載の方法。

【請求項226】

単離する段階が、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団からのT

10

20

30

40

50

細胞受容体(TCR)のクローニングとして定義される、請求項225記載の方法。

【請求項227】

TCR α 遺伝子および/もしくは β 遺伝子を配列決定する段階、ならびに/またはパラトープホットスポット(GLIPH)分析によるリンパ球相互作用のグループ化を実施する段階をさらに含む、請求項205～226のいずれか一項記載の方法。

【請求項228】

TCRのクローニングが、TCR α 鎖および β 鎖のクローニングである、請求項226または227記載の方法。

【請求項229】

TCR α 鎖および β 鎖が、5'-cDNA末端迅速増幅(RACE)法を用いてクローニングされる、請求項228記載の方法。

10

【請求項230】

クローニングされたTCRが、発現ベクターにサブクローニングされる、請求項229記載の方法。

【請求項231】

発現ベクターが、TCR α 配列とTCR β 配列との間にリンカードメインを含む、請求項230記載の方法。

【請求項232】

リンカードメインが、1つまたは複数のペプチド切断部位をコードする配列を含む、請求項231記載の方法。

20

【請求項233】

1つまたは複数の切断部位が、フォーリン切断部位および/またはP2A切断部位である、請求項232記載の方法。

【請求項234】

TCR α 配列とTCR β 配列とがIRES配列によって連結される、請求項233記載の方法。

【請求項235】

発現ベクターがレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項230～234のいずれか一項記載の方法。

【請求項236】

TCR α 鎖および β 鎖を発現する操作された細胞を作製するために、発現ベクターが宿主細胞に形質導入される、請求項235記載の方法。

30

【請求項237】

宿主細胞が免疫細胞である、請求項236記載の方法。

【請求項238】

請求項168～267のいずれか一項記載の方法によって產生される、コロナウイルスに特異的な操作されたT細胞。

【請求項239】

請求項168～237のいずれか一項記載の方法によって產生される、TCR。

【請求項240】

請求項89～126もしくは239のいずれか一項記載のTCRまたはそのペプチド結合断片と、CD3結合領域とを含む、融合タンパク質。

40

【請求項241】

CD3結合領域が、CD3特異的断片抗原結合(Fab)、一本鎖可変断片(scFv)、単ドメイン抗体、または一本鎖抗体を含む、請求項240記載の融合タンパク質。

【請求項242】

検出剤または治療剤にコンジュゲートされている、請求項89～126もしくは239のいずれか一項記載のTCRまたは請求項240もしくは241記載の融合タンパク質。

【請求項243】

前記剤が、蛍光分子、放射性分子、または毒素を含む、請求項242記載のTCRまたは融合タンパク質。

50

【請求項 2 4 4】

請求項 1～88 もしくは 157 のいずれか一項記載のポリペプチド、請求項 89～126、239、242、もしくは 243 のいずれか一項記載の TCR、請求項 127～156 のいずれか一項記載のペプチド、または請求項 240～243 のいずれか一項記載の融合タンパク質をコードする、核酸。

【請求項 2 4 5】

RNA である、請求項 244 記載の核酸。

【請求項 2 4 6】

前記ペプチドもしくはポリペプチドをコードする、または前記ペプチドもしくはポリペプチドの相補体をコードする DNA または cDNA である、請求項 245 記載の核酸。

10

【請求項 2 4 7】

SEQ ID NO:1、8、15、またはその断片に対して少なくとも 70% の配列同一性を有する、請求項 244 記載の核酸。

【請求項 2 4 8】

請求項 244～247 のいずれか一項記載の核酸を含む、核酸発現ベクター。

【請求項 2 4 9】

核酸の発現を指令するプロモーターを含む、請求項 248 記載のベクター。

【請求項 2 5 0】

プロモーターがマウス幹細胞ウイルス(MSCV)プロモーターを含む、請求項 249 記載のベクター。

20

【請求項 2 5 1】

TCR-a および TCR-b 遺伝子を含む、請求項 248～250 のいずれか一項記載のベクター。

【請求項 2 5 2】

請求項 1～88 もしくは 157 のいずれか一項記載のポリペプチド、請求項 89～126、239、242、もしくは 243 のいずれか一項記載の TCR、請求項 127～156 のいずれか一項記載のペプチド、請求項 240～243 のいずれか一項記載の融合タンパク質、請求項 244～247 のいずれか一項記載の核酸、または請求項 248～252 のいずれか一項記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 2 5 3】

幹細胞、前駆細胞、免疫細胞、またはナチュラルキラー(NK)細胞を含む、請求項 252 記載の細胞。

30

【請求項 2 5 4】

造血幹細胞もしくは造血前駆細胞、T細胞、間葉系幹細胞(MSC)から分化した細胞、または人工多能性幹細胞(iPSC)を含む、請求項 252 記載の細胞。

【請求項 2 5 5】

末梢血単核細胞(PBMC)から単離または誘導される、請求項 252～254 のいずれか一項記載の細胞。

【請求項 2 5 6】

T細胞が、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、不変NK T (iNKT)細胞、ガンマ-デルタT細胞、NKT細胞、または調節性T細胞を含む、請求項 252～255 のいずれか一項記載の細胞。

40

【請求項 2 5 7】

SARS-CoV-2 を有する対象から単離される、請求項 252～256 のいずれか一項記載の細胞。

【請求項 2 5 8】

請求項 127～157 のいずれか一項記載のペプチドもしくはポリペプチド、請求項 244～247 のいずれか一項記載の核酸、または請求項 248～252 のいずれか一項記載のベクターを含む、インビトロで単離された樹状細胞。

【請求項 2 5 9】

50

成熟樹状細胞である、請求項258記載の樹状細胞。

【請求項260】

HLA-A、HLA-B、またはHLA-C型を有する細胞である、請求項258または259記載の樹状細胞。

【請求項261】

請求項244～247のいずれか一項記載の核酸または請求項248～252のいずれか一項記載のベクターを細胞に移入する段階を含む、細胞を作製する方法。

【請求項262】

発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離する段階をさらに含む、請求項261記載の方法。

【請求項263】

請求項127～157のいずれか一項記載のペプチドまたはポリペプチドとT細胞とを共培養する段階を含む、治療用T細胞ワクチンを作製するためのインビトロの方法。

【請求項264】

T細胞がCD8+ T細胞を含む、請求項263記載の方法。

【請求項265】

前記ペプチドがMHCと複合体化されている、請求項263または264記載の方法。

【請求項266】

MHCが、HLA-A、HLA-B、またはHLA-C型を含む、請求項265記載の方法。

【請求項267】

前記ペプチドが、樹状細胞、リンパ芽球様細胞、末梢血単核細胞(PBMC)、人工抗原提示細胞(aAPC)、または人工抗原提示表面に負荷されている、請求項263～266のいずれか一項記載の方法。

【請求項268】

請求項263～267のいずれか一項記載の方法により作製される、T細胞。

【請求項269】

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに特異的に結合するTCRを含む、T細胞。

【請求項270】

CD8+ T細胞またはCD4+ T細胞を含む、請求項268または269記載のT細胞。

【請求項271】

細胞傷害性Tリンパ球を含む、請求項270記載のT細胞。

【請求項272】

請求項1～88もしくは157のいずれか一項記載のポリペプチド、請求項89～126、239、242、もしくは243のいずれか一項記載のTCR、請求項127～156のいずれか一項記載のペプチド、請求項165記載の分子複合体、請求項166もしくは167記載のペプチド特異的結合分子、請求項238もしくは268～271のいずれか一項記載のペプチド特異的T細胞、または請求項258～260のいずれか一項記載の樹状細胞と、薬学的担体とを含む、薬学的組成物。

【請求項273】

非経口投与、静脈内注射、筋肉内注射、吸入、または皮下注射のために製剤化されている、請求項272記載の薬学的組成物。

【請求項274】

前記ペプチドが、リボソーム、脂質含有ナノ粒子、または脂質ベースの担体の中に含まれる、請求項272または273記載の薬学的組成物。

【請求項275】

注射のためにまたは鼻腔スプレーとしての吸入のために製剤化されている、請求項272～274のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項276】

ワクチンとして製剤化されている、請求項272～275のいずれか一項記載の薬学的組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 277】

アジュバントをさらに含む、請求項272～276のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 278】

無血清、マイコプラズマ不含、内毒素不含、および/または無菌であると決定されている、請求項272～277のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項 279】

請求項244～247のいずれか一項記載の核酸または請求項248～251のいずれか一項記載のベクターを細胞に移入する段階を含む、操作された細胞を作製する方法。

【請求項 280】

培地中で細胞を培養する段階、細胞の分裂を可能にする条件で細胞をインキュベートする段階、細胞をスクリーニングする段階、および/または細胞を凍結する段階をさらに含む、請求項279記載の方法。 10

【請求項 281】

発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離する段階をさらに含む、請求項279または280記載の方法。

【請求項 282】

請求項158～164もしくは272～278のいずれか一項記載の組成物または請求項238もしくは268～271のいずれか一項記載の細胞を、その必要がある対象に投与する段階を含む、対象においてコロナウイルス感染症を処置または予防するための方法。

【請求項 283】

請求項158～164もしくは272～278のいずれか一項記載の組成物または請求項238もしくは268～271のいずれか一項記載の細胞を対象に投与する段階を含む、対象において免疫応答を刺激する方法。 20

【請求項 284】

対象がヒト対象である、請求項282または283記載の方法。

【請求項 285】

細胞が自家である、請求項282～284のいずれか一項記載の方法。

【請求項 286】

細胞が同種である、請求項282～284のいずれか一項記載の方法。

【請求項 287】

対象が、コロナウイルス感染症の1つまたは複数の症状を有する、請求項282または284記載の方法。 30

【請求項 288】

対象が、コロナウイルス感染症のいかなる症状も有しない、請求項282または284記載の方法。

【請求項 289】

対象が、コロナウイルス感染症と診断されている、請求項282～288のいずれか一項記載の方法。

【請求項 290】

対象が、コロナウイルス感染症と診断されていない、請求項282～288のいずれか一項記載の方法。 40

【請求項 291】

対象が、コロナウイルス感染症について以前に処置されている、請求項282～290のいずれか一項記載の方法。

【請求項 292】

コロナウイルスが、コウモリから単離されたコロナウイルスを含む、請求項282～291のいずれか一項記載の方法。

【請求項 293】

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、請求項292記載の方法。

【請求項 294】

COVID-19またはSARSを予防または処置する段階を含む、請求項282～293のいずれか一項記載の方法。

【請求項295】

対象が、コロナウイルスに関連する合併症と診断されている、請求項282～294のいずれか一項記載の方法。

【請求項296】

合併症が、肺炎、呼吸困難もしくは息切れ、胸痛もしくは胸部圧迫感、急性呼吸不全、急性呼吸窮迫症候群、急性心障害、二次感染、急性腎障害、敗血症性ショック、血餅、多系統炎症症候群、慢性疲労、横紋筋融解症、播種性血管内凝固、および/または急性肝障害を含む、請求項295記載の方法。

【請求項297】

対象が、コロナウイルスに対してワクチン接種される、請求項282～296のいずれか一項記載の方法。

【請求項298】

対象が、コロナウイルスに対してワクチン接種されない、請求項282～296のいずれか一項記載の方法。

【請求項299】

対象が、以前の処置に対して耐性または非応答性であると決定されている、請求項291～298のいずれか一項記載の方法。

【請求項300】

対象が、さらなる治療用物質を投与される、請求項282～299のいずれか一項記載の方法。

【請求項301】

さらなる治療用物質が、ステロイドまたは抗ウイルス治療用物質を含む、請求項300記載の方法。

【請求項302】

さらなる治療用物質が、デキサメタゾン、モノクローナル抗体、レムデシビル、パクスロビド、モルヌピラビル、回復期血漿、またはそれらの組み合わせを含む、請求項301記載の方法。

【請求項303】

患者からの生物学的サンプルを、請求項127～157のいずれか一項記載のペプチドもしくはポリペプチドまたは請求項165記載の分子複合体と接触させる段階を含む、患者を予後予測するための、または患者におけるT細胞応答を検出するための方法。

【請求項304】

生物学的サンプルが、血液サンプルまたはその画分を含む、請求項303記載の方法。

【請求項305】

生物学的サンプルがリンパ球を含む、請求項304記載の方法。

【請求項306】

生物学的サンプルが、リンパ球を含む分画サンプルを含む、請求項305記載の方法。

【請求項307】

前記ペプチドが固体支持体に連結されている、請求項303～306のいずれか一項記載の方法。

【請求項308】

前記ペプチドが、固体支持体にコンジュゲートされているか、または固体支持体にコンジュゲートされている抗体に結合されている、請求項307記載の方法。

【請求項309】

固体支持体が、マイクロプレート、ビーズ、ガラス表面、スライド、または細胞培養皿を含む、請求項307記載の方法。

【請求項310】

T細胞応答を検出することが、T細胞またはTCRへの前記ペプチドの結合を検出するこ

10

20

30

40

50

とを含む、請求項303～309のいずれか一項記載の方法。

【請求項311】

T細胞応答を検出することが、ELISA、ELISPOT、または四量体アッセイを含む、請求項303～310のいずれか一項記載の方法。

【請求項312】

対象が、コロナウイルスと診断されている、請求項303～311のいずれか一項記載の方法。

【請求項313】

対象が、コロナウイルスに関連する合併症と診断されている、請求項303～312のいずれか一項記載の方法。

【請求項314】

合併症が、肺炎、呼吸困難もしくは息切れ、胸痛もしくは胸部圧迫感、急性呼吸不全、急性呼吸窮迫症候群、急性心障害、二次感染、急性腎障害、敗血症性ショック、血餅、多系統炎症症候群、慢性疲労、横紋筋融解症、播種性血管内凝固、および/または急性肝障害を含む、請求項313記載の方法。

【請求項315】

対象が、コロナウイルスと診断されていない、請求項303～311、313または314のいずれか一項記載の方法。

【請求項316】

対象が、コロナウイルスについてワクチン接種されている、請求項303～315のいずれか一項記載の方法。

【請求項317】

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、請求項312～316のいずれか一項記載の方法。

【請求項318】

ワクチンの有効性を決定するためのものである、請求項316または317記載の方法。

【請求項319】

請求項158～164のいずれか一項記載の組成物を、T細胞を含む組成物と接触させる段階、ならびに検出タグを検出することによって、結合したペプチドおよび/またはMHCポリペプチドを有するT細胞を検出する段階を含む、方法。

【請求項320】

ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞の数を計数する段階をさらに含む、請求項319記載の方法。

【請求項321】

T細胞を含む組成物が、対象から単離されている、請求項319または320記載の方法。

【請求項322】

対象がヒト対象である、請求項321記載の方法。

【請求項323】

対象が、SARS-CoV-2感染症の1つまたは複数の症状を有する、請求項321または322記載の方法。

【請求項324】

対象が、SARS-CoV-2感染症のいかなる症状も有しない、請求項321～323のいずれか一項記載の方法。

【請求項325】

対象が、SARS-CoV-2感染症と診断されている、請求項321～324のいずれか一項記載の方法。

【請求項326】

対象が、SARS-CoV-2感染症と診断されていない、請求項321～324のいずれか一項記載の方法。

【請求項327】

対象が、SARS-CoV-2感染症について以前に処置されている、請求項321～326のいずれか一項記載の方法。

【請求項328】

対象が、以前の処置に対して耐性または非応答性であると決定されている、請求項202記載の方法。

【請求項329】

ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞の数を選別する段階をさらに含む、請求項319～328のいずれか一項記載の方法。

【請求項330】

ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞からの1つまたは複数のTCR遺伝子を配列決定する段階をさらに含む、請求項329記載の方法。

【請求項331】

パラトープホットスポット(GLIPH)分析によるリンパ球相互作用のグループ化を行う段階をさらに含む、請求項330記載の方法。

【請求項332】

請求項127～157のいずれか一項記載のペプチドまたはポリペプチドを容器中に含む、キット。

【請求項333】

前記ペプチドが、薬学的調製物中に含まれる、請求項332記載のキット。

【請求項334】

薬学的調製物が、非経口投与または吸入のために製剤化されている、請求項333記載のキット。

【請求項335】

前記ペプチドが、細胞培養培地中に含まれる、請求項332記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

I. 関連出願の相互参照

本出願は、2021年3月29日付で出願された米国仮特許出願第63/167,433号；2021年6月14日付で出願された米国仮特許出願第63/210,198号；および2022年2月28日付で出願された米国仮特許出願第63/314,870号の優先権を主張するものであり、これらは参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0002】

II. 発明の分野

本発明は、免疫療法およびウイルス感染症の処置の分野に関する。

【背景技術】

【0003】

III. 背景

2019年12月にSARS-CoV-2が出現して以来、世界保健機関は、感染が200ヶ国以上に広がり、世界中で感染者数が1億7千万人を超え、死者数が350万人を超えたと報告している。この苦難にもかかわらず、効果的なワクチン、治療法および防御バイオマーカーを特定する探求は続いている。

【0004】

SARS-CoV-2は、ヒトにおいて高い罹患率と死亡率を伴う重症の非定型肺炎として現れる。T細胞リンパ球減少に関連する調節不全/過剰な先天的応答は、この症候群における肺病理の主要な要因である。T細胞数の減少は、ヒトにおけるSARS疾患の急性期の重症度とウイルス排除の遅れに相関する。A型インフルエンザおよびパラインフルエンザなどの他の呼吸器ウイルス感染症からのいくつかの証拠により、一次応答および記憶応答の間に生じたウイルス特異的CD4およびCD8 T細胞がウイルスを排除し、宿主を重篤な感染症から保護しうることが立証されている。実際、SARSおよびMERSに感染した患者お

10

20

30

40

50

よび動物からの研究でも、呼吸器コロナウイルス感染症の防御および排除において、T細胞を介した適応免疫応答が重要な役割を果たしていることが指摘されている。SARSから回復した患者では、中和抗体価および記憶B細胞応答は短命で数ヶ月しか持続しないが、SARS-CoV特異的記憶T細胞は感染後6年まで持続する。

【0005】

SARS-CoVの排除および宿主防御におけるウイルス特異的CD4およびCD8 T細胞の役割に関する直接的な証拠は、養子移入研究から得られた。SARSに罹りやすいマウスにSARS-CoV特異的エフェクターCD4およびCD8 T細胞を養子移入したところ、急速にウイルスが排除され、動物の臨床疾患と生存が改善された。当技術分野では、効果的なコロナウイルスの処置および予防が必要とされている。

10

【発明の概要】

【0006】

本開示は、ワクチン接種および他の用途に有用なペプチド、操作されたT細胞受容体(TCR)、該ペプチドおよびTCRを含む細胞、ならびに該ペプチドおよびTCRを作製および使用する方法を提供する。本開示は、SEQ ID NO:22~81によって表されるものなどの、コロナウイルスペプチドを特異的に認識するTCRに関する。

【0007】

したがって、本開示の局面は、本開示のCDR3のアミノ酸配列または本開示のCDR3に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む抗原結合可変領域を含むポリペプチドに関する。さらなる局面は、T細胞受容体(TCR)-bポリペプチドおよびTCR-aポリペプチドを含む操作されたTCRであって、TCR-bポリペプチドが、本開示のCDR3のアミノ酸配列または本開示のCDR3に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-aポリペプチドが、本開示のCDR3のアミノ酸配列または本開示のCDR3に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、操作されたTCRに関する。さらなる局面は、本開示のCDR3のアミノ酸配列を含むもしくは本開示のCDR3に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むTCR-bポリペプチドおよび/または本開示のCDR3のアミノ酸配列を含むもしくは本開示のCDR3に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するTCR-aポリペプチドをコードする核酸に関する。CDR3は、SEQ ID NO:7、14、21、92、99、106、113、120、127、134および141のCDR3でありうる。TCR-a CDR3の局面は、SEQ ID NO:7、14、92、106、120および134のアミノ酸配列を有するCDRを含む。TCR-b CDR3の局面は、SEQ ID NO:21、99、113、127および141のアミノ酸配列を有するCDRを含む。

20

30

【0008】

さらなる局面は、本ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、および操作されたTCRをコードする核酸に関する。本開示は同様に、本開示の1つまたは複数の核酸を含む核酸ベクター、ならびに本開示のペプチド、融合タンパク質、ポリペプチド、操作されたTCRおよび/または核酸を含む細胞について記述する。本開示のペプチド、ポリペプチド、細胞、核酸または操作されたTCRを含む組成物も提供される。さらなる局面は、本開示の核酸またはベクターを細胞に移入する段階を含む、操作された細胞を作製する方法に関する。さらなる局面は、対象においてコロナウイルス感染症を処置または予防するための方法であって、ポリペプチド、組成物、細胞、核酸、または操作されたTCRを対象に投与する段階を含む該方法に関する。いくつかの局面において、本方法は、新型コロナウイルス感染後遺症を処置するためのものであり、該方法は、ポリペプチド、組成物、細胞、核酸または操作されたTCRを対象に投与する段階を含む。対象において免疫応答を刺激する方法であって、本開示の組成物または細胞を対象に投与する段階を含む該方法も提供される。方法には、腫瘍量を低減する方法；がん細胞を溶解する方法；腫瘍/がん細胞を殺傷する方法；全生存期間を増加させる方法；がんになるリスクもしくは腫瘍になるリスクを低減する方法；無再発生存期間を増加させる方法；がんを予防する方法；および/またはがんの広がりもしくは転移を低減する、排除するもしくは減少させる方法であって、ポ

40

50

リペプチド、組成物、細胞、核酸または操作されたTCRを、その必要がある対象に投与する段階を含む該方法も含まれる。

【0009】

さらなる局面は、本開示のTCR、またはその抗原結合断片およびCD3結合領域を含む融合タンパク質に関する。CD3結合領域は、CD3特異的断片抗原結合(Fab)、一本鎖可変断片(scFv)、単一ドメイン抗体、または一本鎖抗体を含みうる。例示的なCD3特異的断片抗原結合(Fab)は、当技術分野において公知である。例えば、参照により本明細書に組み入れられるUS20180222981には、本開示の局面において用いられうるCD3に特異的に結合する可変領域が開示されている。抗CD3抗体および可変領域は、US20180117152に開示されており、これも参照により組み入れられる。

10

【0010】

本開示の局面は、SEQ ID NO:22~81の1つのペプチドに対する少なくとも60%の配列同一性を含むペプチドに関する。SEQ ID NO:22~38の1つのペプチドに対する少なくとも60%の配列同一性を含むペプチドも提供される。該ペプチドまたはポリペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つと60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有し、または少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有しうる。該ペプチドは、SEQ ID NO:22~38のうちの1つと60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有し、または少なくとも60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有しうる。本開示のペプチドを含むポリペプチドも提供される。さらなる局面は、本開示のペプチドまたはポリペプチドおよびMHCポリペプチドを含む分子複合体に関する。本開示の他の局面は、以下の段階: (a) 免疫エフェクター細胞の出発集団を得る段階; および(b) 免疫エフェクター細胞の出発集団を本開示のペプチドと接触させる段階であって、それによりペプチド/コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞を作製する、段階を含む、ペプチド/コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞を産生する方法に関する。本開示は同様に、本開示の方法によって産生される、ペプチド/コロナウイルスに特異的な操作されたT細胞およびTCRについて記述する。さらなる局面は、本開示のペプチド、ポリペプチド、核酸または発現ベクターを含むインビトロで単離された樹状細胞に関する。

20

30

【0011】

患者を予後予測するための、または患者におけるT細胞応答を検出するための方法であって、患者からの生物学的サンプルを本開示の組成物、ペプチドまたはポリペプチドと接触させる段階を含む該方法も提供される。さらなる局面は、本開示のペプチドに結合する、またはペプチド-MHC複合体に結合する、ペプチド/コロナウイルス特異的結合分子に関する。例示的な結合分子としては、抗体、TCR模倣抗体、scFv、ナノボディ、ラクダ科動物由来、アプタマーおよびDARPINが挙げられる。関連する方法は、少なくとも1つのMHCポリペプチドおよび本開示のペプチドまたはポリペプチドを含む組成物を、T細胞を含む組成物と接触させる段階、ならびに検出タグを検出することによって、結合したペプチドおよび/またはMHCポリペプチドを有するT細胞を検出する段階を含む方法を提供する。さらなる局面は、本開示のペプチド、ポリペプチド、核酸、発現ベクターまたは組成物を含むキットに関する。さらなる方法の局面は、コロナウイルスT細胞受容体(TC

40

50

R)をクローニングする方法であって、(a) 免疫エフェクター細胞の出発集団を得る段階；(b) 免疫エフェクター細胞の出発集団を本開示のコロनावirusペプチドと接触させる段階であって、それによりコロनावirus特異的免疫エフェクター細胞を作製する、段階；(c) コロनावirusペプチドに特異的な免疫エフェクター細胞を精製する段階；および(d) 精製された免疫エフェクター細胞からTCR配列を単離する段階を含む該方法に関する。さらなる局面は、本開示の核酸または発現ベクターを細胞に移入する段階を含む、細胞を作製する方法に関する。さらなる局面は、T細胞を本開示のペプチドと共培養する段階を含む、治療用T細胞ワクチンを作製するためのインビトロの方法に関する。いくつかの局面において、本方法はSARSを処置または予防するためのものである。いくつかの局面において、本方法はCOVID-19を処置または予防するためのものである。いくつかの局面において、COVID-19は新型コロナウイルス感染後遺症としてさらに定義される。

10

【0012】

本開示の核酸は、本明細書において記述されるCDR領域、可変領域、操作されたTCR、ポリペプチド、TCR-aポリペプチド、TCR-bポリペプチド、ペプチド、ポリペプチドおよび融合タンパク質をコードするものを含む。核酸はRNAであってもよい。核酸は、ペプチドもしくはポリペプチド、またはペプチドもしくはポリペプチドの相補体をコードするcDNAまたはDNAであってもよい。核酸は、SEQ ID NO:1、8、15、86、93、100、107、114、121、128もしくは135の1つ、またはその断片を含みうる。いくつかの局面において、核酸は、SEQ ID NO:1、8、15、86、93、100、107、114、121、128もしくは135の1つ、またはその断片と75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するヌクレオチドを含む。

20

【0013】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:7に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。いくつかの局面において、ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:7のアミノ酸配列を有するCDR3を含む。ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:14に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。いくつかの局面において、ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:14のアミノ酸配列を有するCDR3を含む。ポリペプチドは、SEQ ID NO:7、14または21のうちの1つのアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:21に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:21のアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。操作さ

30

40

50

れたTCRは、(i) SEQ ID NO:7のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:7に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3;または(ii) SEQ ID NO:14のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:14に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチド;およびSEQ ID NO:21のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:21に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、(i) SEQ ID NO:7のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:7に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3;または(ii) SEQ ID NO:14のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:14に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチド;およびSEQ ID NO:21のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:21に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

10

20

30

40

50

【0014】

本ポリペプチドまたはTCRは、TCR-aポリペプチドおよび/またはTCR-bポリペプチド由来のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:5、12もしくは19のうちの1つのアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:5、12もしくは19のうちの1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR1を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:5、12または19のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR1を含みうる。

【0015】

本ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:5および12のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:5および12のうちの1つのアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:19に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意

の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。

【0016】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:5および12のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:19に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:5または12のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:19のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0017】

本ポリペプチド、TCR-aまたはTCR-bは、可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:6、13および20のうちの1つのアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:6、13および20のうちの1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR2を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:6、13および20のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR2を含みうる。

【0018】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:6および13のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:6および13のうちの1つのアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:20に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。

【0019】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:6および13のうちの1つと75、76、77、78、79、

80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:20に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:6および13のうちの1つのアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:20のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

10

20

30

40

50

【0020】

可変領域は、SEQ ID NO:3、10および17のうちの1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:3、10および17のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:3、10および17のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:3および10のうちの1つに対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:3および10のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:3および10のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:17に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:17に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:17のアミノ酸配列を含みうる。

【0021】

本ポリペプチドはT細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含みうる。該可変領域はCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含みうる。該ポリペプチドはTCR-a可変および定常領域を含みうる。該ポリペプチドはシグナルペプチドを含みうる、またはシグナルペプチドをさらに含む。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:4、11および18のうちの1つに対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:4、11および18のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88

、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:4、11および18のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。

【0022】

本開示のTCRの局面は、TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、(i) それぞれSEQ ID NO:5、6、および7のアミノ酸配列; または(ii) それぞれSEQ ID NO:12、13、および14のアミノ酸配列を含み; ならびにTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:19、20、および21のアミノ酸配列を含む、TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含むTCRに関する。

【0023】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:2のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:2に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:16のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:16に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:9のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:9に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:16のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:16に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0024】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:1の核酸配列あるいはSEQ ID NO:1に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:15の核酸配列あるいはSEQ ID NO:15に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる。TCR-aポリペプチドは、

SEQ ID NO:8の核酸配列あるいはSEQ ID NO:8に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:15の核酸配列あるいはSEQ ID NO:15に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる。

10

【0025】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:92に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。いくつかの局面において、該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:92のアミノ酸配列を有するCDR3を含む。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:99に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:99のアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:92のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:92に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:99のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:99に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:92のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:92に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:99のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:99に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

20

30

40

【0026】

本ポリペプチドまたはTCRは、TCR-aポリペプチドおよび/またはTCR-bポリペプチド由来のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む可変領域を含みうる。該可変領域は

50

、SEQ ID NO:90もしくは97のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:90もしくは97に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR1を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:90または97のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR1を含みうる。

【0027】

本ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:90に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:90のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:97に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:97のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。

【0028】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:90に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:97に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:90のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:97のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0029】

本ポリペプチド、TCR-aまたはTCR-bは、可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:91もしくは98のうちの1つのアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:91もしくは98のうちの1つに対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR2を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:91または98のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (また

はその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR2を含みうる。

【0030】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:91に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:91のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:98に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:98のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。

【0031】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:91に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:98に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:91のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:98のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0032】

可変領域は、SEQ ID NO:88または95に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:88または95に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。該可変領域は、SEQ ID NO:88または95のアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:88に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:88に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:88のアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は

、SEQ ID NO:95に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:95に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:95のアミノ酸配列を含みうる。

【0033】

本ポリペプチドはT細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含みうる。該可変領域はCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含みうる。該ポリペプチドはTCR-a可変および定常領域を含みうる。該ポリペプチドはシグナルペプチドを含みうる、またはシグナルペプチドをさらに含む。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:89および96のうちの1つに対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:89および96のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:89および96のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。

【0034】

本開示のTCRの局面は、TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:90、91、および92のアミノ酸配列を含み; ならびにTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:97、98、および99のアミノ酸配列を含む、TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含むTCRに関する。

【0035】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:87のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:87に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:94のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:94に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。

【0036】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:86の核酸配列あるいはSEQ ID NO:86に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:93の核酸配列あるいはSEQ ID NO:93に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは

100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる。

【0037】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:106に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。いくつかの局面において、該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:106のアミノ酸配列を有するCDR3を含む。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:113に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:113のアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:106のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:106に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:113のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:113に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:106のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:106に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:113のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:113に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0038】

本ポリペプチドまたはTCRは、TCR-aポリペプチドおよび/またはTCR-bポリペプチド由来のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:104もしくは111のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:104もしくは111に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR1を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:104もしくは111のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR1を含みうる。

【0039】

本ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:104に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:104のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:111に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:111のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。

10

【0040】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:104に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:111に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:104のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:111のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

20

30

【0041】

本ポリペプチド、TCR-aまたはTCR-bは、可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:105もしくは112のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:105もしくは112に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR2を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:105または112に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR2を含みうる。

40

【0042】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:105に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:1

50

05のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:112に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:112のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。

【0043】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:105に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:112に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:105のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:112のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0044】

可変領域は、SEQ ID NO:102または109に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:102または109に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。該可変領域は、SEQ ID NO:102または109のアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:102に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:102に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:102のアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:109に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:109に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:109のアミノ酸配列を含みうる。

【0045】

本ポリペプチドはT細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含みうる。該可変領域はCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含みうる。該ポリペプチドはTCR-a可変および定常領域を含みうる。該ポリペプチドはシグナルペプチドを含みうる、またはシグナルペプチドをさらに含む。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:103および110のうちの1つに対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:103および110のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:103および110のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。

10

【0046】

本開示のTCRの局面は、TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:104、105、および106のアミノ酸配列を含み; ならびにTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:111、112、および113のアミノ酸配列を含む、TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含むTCRに関する。

【0047】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:101のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:101に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:108のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:108に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。

20

30

【0048】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:100の核酸配列あるいはSEQ ID NO:100に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:107の核酸配列あるいはSEQ ID NO:107に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる。

40

【0049】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:120に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の

50

配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。いくつかの局面において、該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:120のアミノ酸配列を有するCDR3を含む。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:127に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:127のアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:120のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:120に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:127のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:127に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:120のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:120に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:127のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:127に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

10

20

30

【0050】

本ポリペプチドまたはTCRは、TCR-aポリペプチドおよび/またはTCR-bポリペプチド由来のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:118もしくは125のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:118もしくは125に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR1を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:118もしくは125のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR1を含みうる。

40

【0051】

本ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:118に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:118のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR

50

-bポリペプチドは、SEQ ID NO:125に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:125のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。

【0052】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:118に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:125に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:118のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:125のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0053】

本ポリペプチド、TCR-aまたはTCR-bは、可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:119もしくは126のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:119もしくは126に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR2を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:119もしくは126に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR2を含みうる。

【0054】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:119に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:119のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:126に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:126のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。

【0055】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:119に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:126に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:119のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:126のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

10

【0056】

可変領域は、SEQ ID NO:116または123に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:116または123に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:116または123のアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:116に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:116に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:116のアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:123に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:123に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:123のアミノ酸配列を含みうる。

20

30

40

【0057】

本ポリペプチドはT細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含みうる。該可変領域はCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含みうる。該ポリペプチドはTCR-a可変および定常領域を含みうる。該ポリペプチドはシグナルペプチドを含みうる、またはシグナルペプチドをさらに含む。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:117および124のうちの1つに対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:117および124のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または

50

少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:117および124のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。

【0058】

本開示のTCRの局面は、TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:118、119、および120のアミノ酸配列を含み；ならびにTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:125、126、および127のアミノ酸配列を含む、TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含むTCRに関する。

【0059】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:115のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:115に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:122のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:122に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。

【0060】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:114の核酸配列あるいはSEQ ID NO:114に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:121の核酸配列あるいはSEQ ID NO:121に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる。

【0061】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:134に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。いくつかの局面において、該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:134のアミノ酸配列を有するCDR3を含む。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:141に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、

または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:141のアミノ酸配列を含むCDR3を含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:134のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:134に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:141のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:141に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:134のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:134に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:141のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:141に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

10

20

【0062】

本ポリペプチドまたはTCRは、TCR-aポリペプチドおよび/またはTCR-bポリペプチド由来のCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:132もしくは139のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:132もしくは139に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR1を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:132もしくは139のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有するCDR1を含みうる。

30

【0063】

本ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:132に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:132のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:139に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%（またはその中で導出可能な任意の範囲）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。該ポリペプチド、TCRまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:139のアミノ酸配列を含むCDR1を含みうる。

40

50

【0064】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:132に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:139に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:132のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:139のアミノ酸配列を有するCDR1を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

10

【0065】

本ポリペプチド、TCR-aまたはTCR-bは、可変領域を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:133もしくは140のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:133もしくは140に対して少なくとも80%の配列同一性を有するCDR2を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:133もしくは140に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するCDR2を含みうる。

20

【0066】

本ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:133に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:133のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:140に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。該ポリペプチドまたはTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:140のアミノ酸配列を含むCDR2を含みうる。

30

40

【0067】

操作されたTCRは、SEQ ID NO:133に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドならびにSEQ ID NO:140に対して75、76、77、78、79、80、81、

50

82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。操作されたTCRは、SEQ ID NO:133のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-aポリペプチドおよびSEQ ID NO:140のアミノ酸配列を有するCDR2を含むTCR-bポリペプチドを含みうる。

【0068】

可変領域は、SEQ ID NO:130または137に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:130または137に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該可変領域は、SEQ ID NO:130または137のアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:130に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:130に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-a可変領域は、SEQ ID NO:130のアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:137に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:137に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。TCR-b可変領域は、SEQ ID NO:137のアミノ酸配列を含みうる。

【0069】

本ポリペプチドはT細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含みうる。該可変領域はCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含みうる。該ポリペプチドはTCR-a可変および定常領域を含みうる。該ポリペプチドはシグナルペプチドを含みうる、またはシグナルペプチドをさらに含む。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:131および138のうちの1つに対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:131および138のうちの1つと75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる。該シグナルペプチドは、SEQ ID NO:131および138のうちの1つのアミノ酸配列を含みうる。

【0070】

本開示のTCRの局面は、TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:132、133、および134のアミノ酸配列を含み; ならびにTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:1139、140、およ

び141のアミノ酸配列を含む、TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含むTCRに関する。

【0071】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:129のアミノ酸配列あるいはSEQ ID NO:129に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含みうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:136のア

10

【0072】

TCR-aポリペプチドは、SEQ ID NO:128の核酸配列あるいはSEQ ID NO:128に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる、およびTCR-bポリペプチドは、SEQ ID NO:135の核酸配列あるいはSEQ ID NO:135に対して75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する、または少なくとも75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100% (またはその中で導出可能な任意の範囲)の配列同一性を有する核酸配列によりコードされうる。

20

30

【0073】

TCRは修飾を含みうるか、またはキメラでありうる。TCRの可変領域は、本開示のペプチドに特異的に結合するクローニングされたTCRの定常領域とは異なるTCR定常領域に融合されうる。

【0074】

TCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとが機能的に連結されうる。「機能的に連結された」という用語は、ペプチド結合(例えば、2つの要素がポリペプチドであり、同じポリペプチド上にある)などの共有結合、またはファンデルワールス力(例えば、互いにある程度の特異的結合親和性を有する2つのポリペプチド)などの非共有結合をいうことができる。TCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとが、ペプチド結合によって機能的に連結されうる。TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドは同じポリペプチド上にあってよく、TCR-bがTCR-aのアミノ近位にある。TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドは同じポリペプチド上にあってよく、TCR-aがTCR-bのアミノ近位にある。したがって、TCRは一本鎖TCRでありうる。一本鎖TCRはTCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとの間のリンカーを含みうるか、またはさらに含みうる。リンカーは、本明細書において記述のまたは当技術分野において公知のリンカーでありうる。リンカーはまた、グリシンおよびセリン残基を含みうるか、またはグリシンおよびセリン残基からなりうる。いくつかの局面において、リンカーは、グリシンおよびセリン残基のみから構成される(グリシン-セリンリンカー)。リンカーは可動性リンカーでありうる。例示的な可動性リンカーとしては、グリシン重合体(G)_n、グリシン-セリン重合体(例えば、(GS)

40

50

n 、 $(GSGGS)_n$ 、 $(G_4S)_n$ および $(GGGS)_n$ を含み、ここで n は少なくとも1の整数である)が挙げられる。いくつかの局面において、 n は少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10 (またはその中で導出可能な任意の範囲)、多くとも1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10 (またはその中で導出可能な任意の範囲)、あるいはちょうど1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10 (またはその中で導出可能な任意の範囲)である。グリシン-アラニン重合体、アラニン-セリン重合体、および当技術分野において公知の他の可動性リンカーが、本開示のポリペプチドにおけるリンカーとして用いられうる。例示的なリンカーは、 $GGSG$ 、 $GGSGG$ 、 $GSGSG$ 、 $GSGGG$ 、 $GGGSG$ 、 $GSSSG$ などを含みうるか、またはそれらからなりうる。第1の領域が第2の領域のカルボキシ末端に結合している場合、第1の領域は第2の領域のカルボキシ近位にある。第1の領域と第2の領域との間にさらに介在するアミノ酸残基が存在しうる。したがって、介在するアミノ酸残基を有しないと具体的に指定されない限り、これらの領域は直接隣接している必要はない。「アミノ近位」という用語は、同様に、第1の領域が第2の領域のアミノ末端に結合している場合、第1の領域が第2の領域のアミノ近位にあると定義される。同様に、特に明記しない限り、第1の領域と第2の領域との間にさらに介在するアミノ酸残基が存在しうる。

10

【0075】

CDRはまた、TCR-aまたはTCR-bポリペプチドの可変領域との関連で特定のCDR配列の片側または両側に隣接する1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、16、18、19、20、21、22、23個もしくはそれ以上(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸残基を含みうる; それゆえ、SEQ ID NO:3、10および17に示されるものなどの、特定のCDR配列のN末端またはC末端に1つまたは複数のさらなるアミノ酸が存在しうる。あるいは、または組み合わせで、CDRはまた、本明細書において記述されるCDRの断片であってもよく、特定のCDR配列のC末端またはN末端から少なくとも1、2、3、4または5アミノ酸を欠いていてもよい。

20

【0076】

TCRまたは融合タンパク質は、検出剤または治療剤にコンジュゲートされうる。剤は蛍光分子、放射性分子、または毒素を含みうる。TCRまたは融合タンパク質は、本明細書において記述される剤にコンジュゲートされうる。

【0077】

ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドについての少なくとも6個の連続するアミノ酸を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドについての少なくとも4、5、6、7、8、9、10、11、12または13個の連続するアミノ酸を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つを含みうるか、またはそれからなりうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~38のうちの1つを含みうるか、またはそれからなりうる。いくつかの局面において、ペプチドは、13個のアミノ酸の長さであるか、またはそれより短い。ペプチドは、少なくとも7、8、9、10、11、12、13、14もしくは15個(またはその中で導出可能な任意の範囲)のアミノ酸、多くとも7、8、9、10、11、12、13、14もしくは15個(またはその中で導出可能な任意の範囲)のアミノ酸、ちょうど7、8、9、10、11、12、13、14もしくは15個(またはその中で導出可能な任意の範囲)のアミノ酸を有しうるか、あるいは7、8、9、10、11、12、13、14もしくは15個(またはその中で導出可能な任意の範囲)のアミノ酸からなりうる。特定の局面において、ペプチドは9個のアミノ酸からなる。ペプチドは10個のアミノ酸からなりうる。ペプチドは11個のアミノ酸からなりうる。ペプチドは12個のアミノ酸からなりうる。ペプチドは13個のアミノ酸からなりうる。いくつかの局面において、ペプチドは免疫原性である。免疫原性という用語は、防御免疫応答などの免疫応答の生成をいう。ペプチドは修飾されうる。修飾は、ある分子とのコンジュゲーションを含みうる。分子は抗体、脂質、アジュバント、または検出部分(タグ)でありうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する100%の配列同一性を含みうる。本開示のペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対して55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、

30

40

50

75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%の配列同一性を有する、または少なくとも55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99もしくは100%の配列同一性を有するものも含む。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも63%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも66%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも70%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも72%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも77%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも80%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも80%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも81%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも88%の同一性を含みうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも90%の同一性を含みうる。本開示のペプチドは、SEQ ID NO:18~21のうちの1つのペプチドに対して1、2または3個の置換を有しうる。ペプチドは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対して少なくとも1、2、3、4もしくは5個の置換を有し、または多くとも1、2、3、4もしくは5個の置換を有しうる。

10

20

【0078】

薬学的組成物は、経口投与、静脈内注射、筋肉内注射、吸入、または皮下注射のために製剤化されうる。ペプチドは、リポソーム、脂質含有ナノ粒子、または脂質ベースの担体中に含まれうる。薬学的調製物は注射のためにまたは鼻腔スプレーとしての吸入のために製剤化されうる。いくつかの局面において、本開示の組成物はワクチンとして製剤化される。組成物はアジュバントをさらに含みうる。

【0079】

本開示の樹状細胞に関するいくつかの局面において、樹状細胞は成熟樹状細胞を含む。細胞は、HLA-A型を有する細胞でありうる。HLAは、HLA-A、HLA-B、またはHLA-Cでありうる。いくつかの局面において、細胞はHLA-A24型である。いくつかの局面において、細胞はHLA-A11型である。いくつかの局面において、細胞はHLA-A01、HLA-A02、HLA-A11、HLA-A24、HLA-B07、HLA-B08、HLA-B15またはHLA-B40である。

30

【0080】

本方法は、発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離する段階をさらに含みうる。いくつかの局面において、T細胞はCD8⁺ T細胞を含む。いくつかの局面において、T細胞はCD4⁺ T細胞、Th1、Th2、Th17、Th9もしくはTfh T細胞、細胞傷害性T細胞、記憶T細胞、中央記憶T細胞、またはエフェクター記憶T細胞である。

【0081】

本開示の方法の局面において、接触させる段階は、免疫エフェクター細胞の出発集団を、抗原提示細胞(APC)、人工抗原提示細胞(aAPC)、または人工抗原提示表面(aAPS)と共培養すること、としてさらに定義され;ここでAPC、aAPC、またはaAPSは、その表面にペプチドを提示する。いくつかの局面において、APCは樹状細胞である。

40

【0082】

本開示の局面において、免疫エフェクター細胞は、T細胞、末梢血リンパ球、ナチュラルキラー(NK)細胞、インバリアントNK細胞、またはNKT細胞である。免疫エフェクター細胞は、間葉系幹細胞(MSC)または人工多能性幹(iPS)細胞から分化したものであってもよい。T細胞の局面は、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞または $\gamma\delta$ T細胞としてさらに定義されるT細胞を含む。ある特定の局面において、T細胞は細胞傷害性Tリンパ球(CTL)

50

である。いくつかの局面において、得る段階は、末梢血単核細胞(PBMC)から免疫エフェクター細胞の出発集団を単離することを含む。

【0083】

核酸はTCR-a (TRA)およびTCR-b (TRB)遺伝子を含みうる。核酸はポリシストロン性でありうる。核酸は、内部リボソーム侵入部位(IRES)またはP2Aリンカーなどの、2A切断可能リンカーを含みうる。核酸は、TCR-aおよび/またはTCR-b遺伝子をコードするcDNAを含みうる。核酸は、CD3結合領域を含むポリペプチドをさらにコードしうる。CD3結合領域は、CD3特異的断片抗原結合(Fab)、一本鎖可変断片(scFv)、単ドメイン抗体、または一本鎖抗体を含みうる。

【0084】

ベクターはTCR-aおよびTCR-b遺伝子の両方を含みうる。ベクターは、核酸の発現を指令するプロモーターを含みうる。プロモーターはマウス幹細胞ウイルス(MSCV)プロモーターを含みうる。細胞は幹細胞、前駆細胞、免疫細胞、またはナチュラルキラー(NK)細胞を含みうる。細胞は造血幹細胞もしくは造血前駆細胞、T細胞、間葉系幹細胞(MSC)から分化した細胞、または人工多能性幹細胞(iPSC)を含みうる。細胞は末梢血単核細胞(PBMC)から単離または誘導されうる。T細胞は、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、CD8+ T細胞、CD4+ T細胞、不変NK T (iNKT)細胞、ガンマ-デルタT細胞、NKT細胞、または調節性T細胞を含みうる。細胞は、現在または過去のコロナウイルス感染症を有する患者から単離されうる。いくつかの局面において、細胞は、現在または過去のコロナウイルス感染症を有しない健常な対象から単離される。いくつかの局面において、細胞は健常な患者から単離される。細胞は凍結されていてもよく、または凍結されていなくてもよい。細胞は細胞培養中の細胞であってもよい。いくつかの局面において、細胞はTCR遺伝子の内因性発現を欠いている。細胞はキメラ抗原受容体(CAR)をさらに含みうる。

【0085】

組成物は、無血清、マイコプラズマ不含、内毒素不含、および/または無菌であることが確認されているものでありうる。本方法は、培地中で細胞を培養する段階、細胞の分裂を可能にする条件で細胞をインキュベートする段階、細胞をスクリーニングする段階、および/または細胞を凍結する段階をさらに含みうる。

【0086】

本開示の局面において、コロナウイルスは、コウモリから単離されたコロナウイルスをいう。本開示のいくつかの局面において、コロナウイルスは、ヒトにおいてSARSを引き起こすウイルスであるSARS-CoVである。いくつかの局面において、コロナウイルスは、ヒトにおいてCOVID-19を引き起こすウイルスであるSARS-CoV-2である。いくつかの局面において、本方法はSARSを処置または予防するためのものである。いくつかの局面において、本方法はCOVID-19を処置または予防するためのものである。いくつかの局面において、コロナウイルスは、SEQ ID NO:22~81のうちの1つを含むポリペプチドを発現するコロナウイルスである。対象はマウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウマまたはブタなどの、実験室試験動物を含みうる。いくつかの局面において、対象はヒトである。対象は、コロナウイルス感染症の1つまたは複数の症状を有するものでありうる。いくつかの局面において、対象は、コロナウイルス感染症のいかなる症状も有しない。対象は、コロナウイルス感染症を有するおよび/またはコロナウイルス感染症と診断されたものでありうる。いくつかの局面において、対象は、コロナウイルス感染症を有しない、および/またはコロナウイルス感染症と診断されていない。いくつかの局面において、対象は、コロナウイルス感染症について以前に処置されている。対象は、以前の処置に対して耐性または非応答性であると決定されたものでありうる。いくつかの局面において、対象はさらなる治療用物質を投与される。いくつかの局面において、さらなる治療用物質はステロイドまたは抗ウイルス治療用物質を含む。いくつかの局面において、さらなる治療用物質はデキサメタゾン、モノクローナル抗体、レムデシビル、パクスロビド、モルヌピラビル、回復期血漿、またはそれらの組み合わせを含む。

【0087】

10

20

30

40

50

いくつかの局面において、対象は、SARSを有する、および/またはSARSと診断されている。いくつかの局面において、対象は、コロナウイルス感染症に関連する合併症と診断されている。いくつかの局面において、対象は、COVID-19またはSARSに関連する合併症と診断されている。合併症は、肺炎、呼吸困難もしくは息切れ、胸痛もしくは胸部圧迫感、急性呼吸不全、急性呼吸窮迫症候群、急性心障害、二次感染、急性腎障害、敗血症性ショック、血餅、多系統炎症症候群、慢性疲労、横紋筋融解症、播種性血管内凝固、または急性肝障害を含みうる。いくつかの局面において、対象はコロナウイルスに対してワクチン接種される。いくつかの局面において、対象はSARS-CoV-2またはSARS-CoVに対してワクチン接種される。対象は、コロナウイルスについてワクチン接種を受けていないものであってもよい。いくつかの局面において、対象は新型コロナウイルス感染後遺症と診断されている。いくつかの局面において、患者は免疫不全または免疫抑制状態である。

10

【0088】

本開示の組成物はワクチンとして製剤化されうる。本開示の組成物および方法は、COVID-19またはSARS-CoV-2感染症を予防するために予防的療法を提供する。組成物はアジュバントをさらに含みうる。アジュバントは当技術分野において公知であり、例えば、TLRアゴニストおよびアルミニウム塩を含む。

【0089】

本開示の方法は、TCR発現、TCR遺伝子をコードする核酸の組み込み、または抗原へのTCRの結合などの免疫原性についてなど、1つまたは複数の細胞特性について細胞をスクリーニングする段階をさらに含みうる。

20

【0090】

本方法は、自家細胞を含む細胞または細胞を含む組成物を投与する段階を含みうる。いくつかの局面において、細胞は非自家細胞を含む。細胞はまた、同種細胞または異種細胞として定義されうる。

【0091】

本開示の方法における生物学的サンプルは、血液サンプルまたはその画分を含みうる。いくつかの局面において、生物学的サンプルはリンパ球を含む。いくつかの局面において、生物学的サンプルは、リンパ球を含む分画サンプルを含む。生物学的サンプルは、本明細書において記述されるものであってもよい。

【0092】

組成物は、本開示のMHCポリペプチドおよびペプチドを含んでもよく、ここでMHCポリペプチドおよび/またはペプチドは、検出タグにコンジュゲートされている。したがって、適当な検出タグは、放射性同位体、蛍光色素、化学発光性化合物、色素、および酵素を含むタンパク質を含むが、これらに限定されない。タグは単純に検出してもよいが、または定量してもよい。単純に検出される応答は、一般にその存在を単に確認する応答を含み、一方、定量される応答は、一般に、強度、偏光および/または他の特性などの定量可能な(例えば、数値的に報告可能な)値を有する応答を含む。発光または蛍光アッセイ法では、検出可能な応答は、結合に実際に関与するアッセイ構成要素と会合した発光団もしくはフルオロフォアを用いて直接的に、または別の(例えば、レポーターもしくは指示薬の)構成要素と会合した発光団もしくはフルオロフォアを用いて間接的に生じうる。シグナルを生じる発光タグの例としては、生物発光および化学発光が挙げられるが、これらに限定されることはない。適当な蛍光タグの例としては、フルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリスロシン、クマリン、メチルクマリン、ピレン、マラサイトグリーン、スチルベン、ルシファーイエロー、Cascade Blue (商標)、およびテキサスレッドが挙げられるが、これらに限定されることはない。他の適当な光学色素は、Haugland, Richard P. (1996) Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (6th)に記述されている。検出タグは、ストレプトアビジンまたはその結合パートナーであるビオチンも含む。

30

40

【0093】

MHCポリペプチドとペプチドとが機能的に連結されうる。「機能的に連結された」と

50

いう用語は、2つの構成要素が組み合わされているか、または組み合わされて複合体を形成することができる状況をいう。例えば、構成要素は、融合タンパク質などの、同じポリペプチド上に共有結合されても、および/または同じポリペプチド上にあってもよく、あるいは構成要素は、ファンデルワールス力によって生じる結合親和性などの、互いにある程度の結合親和性を有していてもよい。したがって、本開示の局面は、MHCポリペプチドとペプチドとがペプチド結合によって機能的に連結されることに関する。さらなる局面は、MHCポリペプチドとペプチドとがファンデルワールス力によって機能的に連結されることに関する。ペプチド-MHCは機能的に連結されてpMHC複合体を形成しうる。いくつかの局面において、少なくとも2つのpMHC複合体がともに機能的に連結される。他の局面は、互いに機能的に連結された2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個のpMHC複合体を含み、互いに機能的に連結された少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個のpMHC複合体を含み、または互いに機能的に連結された多くとも2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10個のpMHC複合体を含む。いくつかの局面において、少なくとも2つのMHCポリペプチドが1つのペプチドに連結される。他の局面において、MHCポリペプチド対ペプチドの平均比は1:1~4:1である。いくつかの局面において、比または平均比は、少なくとも1、2、3、4、5もしくは6対約1、2、3、4、5もしくは6 (またはその中で導出可能な任意の範囲)、多くとも1、2、3、4、5もしくは6対約1、2、3、4、5もしくは6 (またはその中で導出可能な任意の範囲)、または約1、2、3、4、5もしくは6対約1、2、3、4、5もしくは6 (またはその中で導出可能な任意の範囲)である。

【0094】

10

20

本開示の局面のいくつかにおいて、ペプチドはMHCと複合体化される。いくつかの局面において、MHCはHLA-A型を含む。MHCは、HLA-A3型またはHLA-A11型としてさらに定義されうる。ペプチドは、樹状細胞、リンパ芽球様細胞、末梢血単核細胞(PBMC)、人工抗原提示細胞(aAPC)、または人工抗原提示表面に負荷されうる。いくつかの局面において、人工抗原提示表面は、表面にコンジュゲートまたは連結されたMHCポリペプチドを含む。例示的な表面としては、ビーズ、マイクロプレート、スライドガラスまたは細胞培養プレートが挙げられる。

【0095】

本開示の方法は、ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞の数を計数する段階をさらに含む。T細胞を含む組成物は、対象から単離されうる。対象はヒト対象などの、本明細書において定義されるものでありうる。本方法は、ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞の数を選別する段階をさらに含む。本開示の方法は同様に、ペプチドおよび/もしくはMHCと結合したT細胞からの1つもしくは複数のTCR遺伝子を配列決定する段階を含んでもよく、またはさらに含んでもよい。いくつかの局面において、本方法は、本開示のペプチドに結合するTCRなどのTCRからのTCR α 遺伝子および/もしくは β 遺伝子を配列決定する段階を含むか、またはさらに含む。方法には、パラトープホットスポット(GLIPH)分析によるリンパ球相互作用のグループ化も含まれうるか、またはさらに含まれうる。これは、参照により本明細書に組み入れられるGlanville et al., Nature, 2017 Jul 6; 547(7661): 94-98にさらに記述されている。

30

【0096】

本開示の組成物は、無血清、マイコプラズマ不含、内毒素不含、および/または無菌でありうる。本方法は、培地中で本開示の細胞を培養する段階、細胞の分裂を可能にする条件で細胞をインキュベートする段階、細胞をスクリーニングする段階、および/または細胞を凍結する段階をさらに含む。本方法は同様に、本開示の細胞から発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離する段階をさらに含む。

40

【0097】

本開示の方法は、樹状細胞を1つもしくは複数の細胞特性についてスクリーニングする段階を含んでもよく、またはさらに含んでもよい。いくつかの局面において、本方法は、細胞を1つまたは複数のサイトカインまたは成長因子と接触させる段階をさらに含む。1つまたは複数のサイトカインまたは成長因子は、GM-CSFを含む。いくつかの局面

50

において、細胞特性はCD86、HLAおよびCD14のうちの1つまたは複数の細胞表面発現を含む。樹状細胞はCD34+造血幹細胞または前駆細胞由来であってもよい。

【0098】

本開示の方法における接触させる段階は、その表面にペプチドを提示する抗原提示細胞(APC)と免疫エフェクター細胞の出発集団とを共培養すること、としてさらに定義される。特定の局面において、APCは樹状細胞である。いくつかの局面において、樹状細胞は末梢血単球(PBMC)に由来する。いくつかの局面において、樹状細胞はPBMCから単離される。樹状細胞またはDCが由来する細胞は白血球分離によって単離される。

【0099】

本開示の局面におけるペプチド-MHC (pMHC)複合体は、本開示のペプチドをMHC複合体と接触させることによって作製される。いくつかの局面において、ペプチドは細胞内で発現され、内因性MHC複合体に結合してpMHCを形成する。いくつかの局面において、ペプチド交換を用いてpMHC複合体を作製する。例えば、MHCに結合しMHCを安定化する光切断可能なペプチドなどの、切断可能なペプチドがデザインされる。ペプチドの切断(例えば、光切断可能なペプチドの場合は照射による)は、HLA複合体からペプチドを解離させ、「レスキューペプチド」の存在下でUV照射が実施されない限り、急速に崩壊する空のHLA複合体をもたらす。したがって、本開示のペプチドは、ペプチド交換手順において「レスキューペプチド」として用いられる。本開示のさらなる局面は、本開示のペプチドを含むpMHC複合体に関する。pMHC複合体は、固体支持体に機能的に連結されてもよく、または蛍光分子、放射性同位体もしくは抗体などの、検出可能な部位に付加されてもよい。本開示のさらなる局面は、ともに機能的に連結された、1、2、3、4、5もしくは6個のペプチド-MHC分子を含む、少なくとも1、2、3、4、5もしくは6個のペプチド-MHC分子を含むペプチド-MHC多量体複合体に関する。連結は、ペプチド結合によるような、共有結合であってもよく、または非共有結合であってもよい。いくつかの局面において、pMHC分子はビオチン分子に結合されてもよい。そのようなpMHC分子は、ストレプトアビジン分子との結合により多量体化される。pMHC多量体は、組成物中または組織中に存在する抗原特異的T細胞またはTCR分子を検出するために用いられる。多量体は、インサイチューにおいてまたは生検サンプルにおいてペプチド特異的T細胞またはコロナウイルス特異的T細胞を検出するために用いられる。多量体は固体支持体に結合されてもよく、またはアレイもしくはスライドなどの、固体支持体上に沈着されてもよい。その後、細胞はスライドに添加され、pMHC多量体と細胞との間の結合の検出が行われる。したがって、本開示のpMHC分子および多量体は、対象におけるSARS-CoV-2感染症を検出および診断するために、またはCOVID-19を有する個体における免疫応答を決定するために用いられる。

【0100】

本明細書において記述される方法において定義されるように、得る段階は、末梢血単核球(PBMC)から免疫エフェクター細胞の出発集団を単離することを含みうるか、またはさらに含みうる。いくつかの局面において、免疫エフェクター細胞の出発集団は、対象から得られる。本開示の方法は、共培養の前に、樹状細胞にペプチドまたはペプチドをコードする核酸を導入する段階を含みうるか、またはさらに含みうる。ペプチドの導入は、樹状細胞にペプチドをコードする核酸をトランスフェクトもしくは感染させることにより、または樹状細胞とともにペプチドをインキュベートすることにより行われる。ペプチドまたはペプチドをコードする核酸は、エレクトロポレーションにより導入される。リポフェクション、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストランによるトランスフェクション、マイクロインジェクション、およびウイルス媒介形質導入などの、核酸移入の他の方法が当技術分野において公知であり、本開示の核酸を細胞に移入するための本開示の方法において有用である。いくつかの局面において、ペプチドまたはペプチドをコードする核酸は、樹状細胞培養培地にペプチドまたはペプチドをコードする核酸を添加することにより導入される。いくつかの局面において、免疫エフェクター細胞は、ペプ

10

20

30

40

50

チドまたはペプチドをコードする核酸が導入された樹状細胞の第2の集団と共培養される。いくつかの局面において、共培養の後に、免疫エフェクター細胞から、CD4陽性またはCD8陽性かつペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団が精製される。いくつかの局面において、CD4陽性またはCD8陽性かつペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団は、蛍光活性化細胞選別(FACS)によって精製される。いくつかの局面において、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団は、限界希釈または連続希釈、続いて急速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって作製される。

【0101】

いくつかの局面において、精製する段階は、選別された細胞の限界希釈または連続希釈、続いて迅速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団を作製することをさらに含む。本開示の方法は、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団からのT細胞受容体(TCR)のクローニングを含みうるか、またはさらに含む。本開示の方法における単離という用語は、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団からのT細胞受容体(TCR)のクローニングと定義されうるか、またはさらに定義されうる。いくつかの局面において、TCRのクローニングは、TCR α 鎖および β 鎖のクローニングである。いくつかの局面において、TCRは5'-cDNA末端迅速増幅(RACE)法を用いてクローニングされる。いくつかの局面において、TCR α 鎖および β 鎖は、5'-cDNA末端迅速増幅(RACE)法を用いてクローニングされる。いくつかの局面において、クローニングされたTCRは発現ベクターにサブクローニングされる。いくつかの局面において、発現ベクターはTCR α 配列とTCR β 配列との間にリンカードメインを含む。発現ベクターはレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターでありうる。ベクターは、本明細書において記述される発現ベクターであってもよい。リンカードメインは、1つまたは複数のペプチド切断部位をコードする配列を含んでもよい。1つまたは複数の切断部位は、フーリン切断部位および/またはP2A切断部位であってもよい。いくつかの局面において、TCR α 配列およびTCR β 配列はIRES配列によって連結される。

【0102】

本開示の宿主細胞に発現ベクターを形質導入して、TCR α 鎖および/または β 鎖を発現する操作された細胞を作製してもよい。いくつかの局面において、宿主細胞は免疫細胞である。免疫細胞はT細胞であってもよく、操作された細胞は操作されたT細胞といわれてもよい。T細胞はCD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞または $\gamma\delta$ T細胞などの、本明細書において記述されるT細胞のタイプであってもよい。免疫エフェクター細胞の出発集団は、SARS-CoV-2感染症を有する対象から得られてもよく、宿主細胞は対象に対して同種または自家である。コロナウイルス特異的T細胞は、自己または同種であってもよい。CD4陽性またはCD8陽性かつペプチドMHC四量体陽性の操作されたT細胞の集団は、形質導入された宿主細胞から精製されうる。いくつかの局面において、コロナウイルスに特異的な操作されたT細胞のクローン集団は、限界希釈または連続希釈、続いて迅速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって作製される。いくつかの局面において、本開示の方法において精製する段階は、共培養の後に、免疫エフェクター細胞から、CD4陽性またはCD8陽性かつペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団を精製すること、として定義される。

【0103】

ペプチドは固体支持体に連結されうる。いくつかの局面において、ペプチドは固体支持体にコンジュゲートされるか、または固体支持体にコンジュゲートされている抗体に結合される。固体支持体はマイクロプレート、ビーズ、ガラス表面、スライド、または細胞培養皿を含みうる。いくつかの局面において、固体支持体はナノ流体チップを含む。T細胞応答を検出することは、T細胞またはTCRへのペプチドの結合を検出することを含みうるか、またはさらに含む。いくつかの局面において、T細胞応答を検出することは、ELISA、ELISPOT、または四量体アッセイを含む。

【0104】

10

20

30

40

50

本開示の方法は、コロナウイルス、SARSまたはSARS-CoV2ワクチンなどの、ワクチンの有効性を決定するためにも用いられうる。

【0105】

本開示のキットの局面は、本開示のペプチドを容器中に含みうる。ペプチドは、薬学的調製物中に含まれうる。薬学的調製物は、非経口投与または吸入のために製剤化されうる。いくつかの局面において、ペプチドは細胞培養培地中に含まれる。

【0106】

「対象」および「患者」という用語は、互換的に用いられることがあり、ヒト対象をいうことがある。対象は哺乳類対象として定義されることがある。対象はマウス、ラット、ブタ、ウマ、ヒト以外の霊長類、ネコ、イヌ、ウシなどであってもよい。

10

【0107】

本出願の全体を通じて、「約」という用語は、値にはその値を決定するために利用される装置または方法に対しての誤差の標準偏差が含まれることを示すために、細胞および分子生物学の分野におけるその平易で通常の意味にしたがって用いられる。

【0108】

「含む」という用語とともに用いられる時には、「1つの(a)」または「1つの(an)」という単語の使用は、「1つ」を意味しうるが、「1つまたは複数」、「少なくとも1つ」および「1つまたは2つ以上」の意味とも一致している。

【0109】

本明細書において用いられる場合、「または」および「および/または」という用語は、複数の構成要素を組み合わせて、または互いに排他的に記述するために利用される。例えば、「x、y、および/またはz」は、「x」のみ、「y」のみ、「z」のみ、「x、y、およびz」、「(xおよびy)またはz」、「xまたは(yおよびz)」または「xまたはyまたはz」をいうことができる。x、y、またはzが態様から特に除外されることが特に企図される。

20

【0110】

「含む(comprising)」(ならびに「含む(comprise)」および「含む(comprises)」などの、含む(comprising)の任意の形態)、「有する(having)」(ならびに「有する(have)」および「有する(has)」などの、有する(having)の任意の形態)、「含む(including)」(ならびに「含む(includes)」および「含む(include)」などの、含む(including)の任意の形態)、「によって特徴付けられる」(および「として特徴付けられる」などの、含む(including)の任意の形態)または「含有する(containing)」(ならびに「含有する(contains)」および「含有する(contain)」などの、含有する(containing)の任意の形態)という単語は、包括的または非制限的であり、さらなる、引用していない要素または方法の段階を除外しない。

30

【0111】

その使用のための組成物および方法は、本出願の全体に開示されている成分または段階のいずれか「を含む」、「から本質的になる」または「からなる」ことができる。「からなる」という語句は、指定されていない任意の要素、段階、または成分を除外する。「から本質的になる」という語句は、記述された主題の範囲を、特定の材料または段階およびその基本かつ新規の特徴に実質的に影響を与えないものに限定する。「含む」という用語の文脈のなかで記述された態様はまた、「からなる」または「から本質的になる」という用語の文脈のなかで実施されることが企図される。

40

【0112】

治療的、診断的または生理学的な目的または効果の文脈における任意の方法は、記述された治療的、診断的または生理学的な目的または効果を達成または実施するための、本明細書において論じられる任意の化合物、組成物または薬剤「の使用」などの「使用」の請求項の言語においても記述されうる。

【0113】

1つまたは複数の配列または組成物の使用は、本明細書において記述される方法のい

50

れかに基づいて利用されうる。他の態様が本出願の全体にわたって論じられる。本開示の1つの局面に関して論じられた任意の態様は、本開示の他の局面にも同様に適用され、逆もまた同様である。

【0114】

本発明の1つの態様に関して論じられた任意の制限が、本発明の他の任意の態様に適用されることが特に企図される。さらに、本発明の任意の組成物が本発明の任意の方法において用いられてもよく、本発明の任意の組成物を作製または利用するために本発明の任意の方法が用いられてもよい。実施例に記載された態様の局面はまた、異なる実施例中の他所にまたは本出願中の他所に、例えば発明の概要、態様の詳細な説明、特許請求の範囲、および図の凡例の説明に論じられている態様の文脈において実施されうる態様である。

10

【0115】

本発明の他の目的、特徴、および利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、詳細な説明および具体的な実施例は、本発明の特定の態様を示しているが、この詳細な説明から本発明の趣旨および範囲の中でさまざまな修正および変更が当業者には明らかになるので、例示にすぎないことが理解されるはずである。

【図面の簡単な説明】

【0116】

以下の図面は、本明細書の一部を構成し、本発明の特定の局面をさらに実証するために含まれている。本発明は、これらの図面の1つまたは複数を本明細書に提示した具体的な態様の詳細な説明と併せて参照することによってよりよく理解されうる。

20

【0117】

【図1】MHC免疫沈降(IP)法によるSARS-CoV-2膜糖タンパク質(MGP) HLA-A0201拘束性ペプチドの同定。

【図2】SARS-CoV-2 HLA-A0201拘束性ペプチド(MGP-65, FVLAADVYRI - SEQ ID NO:22) CTL作製。

【図3】図3A~C: MGP-65ペプチド特異的CTL細胞株の機能検証。

【図4】非放射性標的阻害アッセイによる特異性検出を認識するMGP-65 CTL細胞株。

【図5-1】図5: 細胞内サイトカイン染色(ICS)法を用いたMGP-65特異的CTL細胞株の機能検証。

【図5-2】図5-1の続きの図である。

30

【図6】SARS-CoV-2特異的TCR-T作製。

【図7】図7A~C: SARS-CoV-2特異的TCR-Tの機能検証。(A) 標的細胞を溶解するSARS-CoV-2特異的TCR-Tの能力を示す(Cr51放出アッセイ, CRA)。さまざまな濃度のSARS-CoV-2ペプチドをパルスしたT2細胞を標的として用いた。エフェクター対標的(E:T)比は20:1である。(B, C) 異なる標的を溶解するSARS-CoV-2 TCR-Tの能力を示す(CRA)。eGFPまたはSARS-CoV-2全長タンパク質を過剰発現しているA375、Mel624細胞株を標的として用いた。

【図8-1】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(A) HLA-Iペプチド同定の概略図。免疫ペプチドームおよびプロテオーム分析のMS/MSスペクトルをSwiss-Protヒトおよびウイルスタンパク質データベースに対して検索し、1% FDRでフィルタリングした。

40

【図8-2】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(B) NSP13-400ペプチド(VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37)のMS/MSアノテーション。(C~E) NSP13-448ペプチド(IVDTVSALVY - SEQ ID NO:34)、NSP13-242ペプチド(TLVPQEHYV - SEQ ID NO:35)およびMGP-65ペプチド(FVLAADVYRI - SEQ ID NO:22)のPRM分析。Skylineソフトウェアを用いて、各標的ペプチドのMS1 XIC領域およびMS/MSをプロットした。

【図8-3】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(C~E) NSP13-448ペプチド(IVDTVSALVY - SEQ ID NO:34)、NSP13-242ペプチド(TLVPQEHYV - SEQ ID NO:35)およびMGP-65ペプチド(FVLAADVYRI - SEQ ID

50

NO:22)のPRM分析。Skylineソフトウェアを用いて、各標的ペプチドのMS1 XIC領域およびMS/MSをプロットした。

【図8-4】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(F~J) ヒトに感染することが知られた全てのコロナウイルスに対する5つの候補ペプチド配列の多重配列アライメント。

【図8-5】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(F~J) ヒトに感染することが知られた全てのコロナウイルスに対する5つの候補ペプチド配列の多重配列アライメント。

【図8-6】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(K) Nextstrainプロジェクト(<http://nextstrain.org>)から引用。5つの候補SARS-CoV-2ペプチド配列はSARS-CoV-2ゲノムの保存領域に位置していた。

10

【図8-7】図8A~L: 質量分析によるSARS-CoV-2由来HLAクラス-Iペプチド同定。(L) NSP13タンパク質から4つの変異が報告された: E341D、A368V (P.1系統)、K460R (B.1.1.7系統)およびT588I (B.1.351系統)。以下の略号を用いる: VAR: 変種、ドット(.)はその位置における同じアミノ酸を示す。

【図9-1】図9A~G: 膜グリコールタンパク質(membrane glycol-protein)(MGP)由来HLA-A0201ペプチドMGP-65のT細胞作製および機能検証。(A) HLA-A0201健康ドナーに由来する成熟樹状細胞(DC)にMGP-65ペプチド(FVLAADVRI - SEQ ID NO:22)をパルスし、自家PBMCと共培養した。2ラウンドの刺激後、小さなCD8+およびMGP-65四量体+集団が観察された(左側)。その後、CD8+およびMGP-65四量体陽性細胞を選別し、標準的な急速拡大増殖プロトコル(REP)を用いて拡大増殖させた。2週間の拡大増殖後、高純度CTL(90%超の四量体+集団)が作製された(右側)。(B) さまざまな濃度のMGP-65ペプチドをパルスした⁵¹Cr標識T2細胞を、エフェクター対標的(E:T)比20:1でMGP-65特異的CTLと共培養した。MGP-65特異的CTLの溶解能は、標準的な⁵¹Cr放出アッセイ(CRA)を用いて検出された。データは三つ組の平均値として示した。(C, D) ⁵¹Cr標識MGPまたはGFP強制発現HLA-A0201細胞株A375 (A375-MGP, A375-GFP)およびMel624 (Mel624-MGP, Mel624-GFP)を、さまざまなE:T比(40:1から1.25:1まで)でMGP-65特異的CTLと共培養した。異なる標的に対するMGP-65特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

20

【図9-2】図9A~G: 膜グリコールタンパク質(MGP)由来HLA-A0201ペプチドMGP-65のT細胞作製および機能検証。(E, F) 非放射性標的阻害アッセイ。⁵¹Cr標識A375-MGPおよびMel624-MGPを放射性標的とした。MGP-65ペプチドまたはM26無関連ペプチドをパルスした非放射線標識T2細胞を非放射性標的とした。非放射性標的:放射性標的の比は10:1または20:1であった。MGP-65特異的CTLを放射性標的単独でまたは放射性標的と、非放射性標的とともに20:1のE:放射性T比で共培養した。MGP-65特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

30

【図9-3】図9A~G: 膜グリコールタンパク質(MGP)由来HLA-A0201ペプチドMGP-65のT細胞作製および機能検証。(G) 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ。MGP-65特異的CTLを、MGP-65ペプチドまたはM26無関連ペプチド、ならびにA375-MGP、A375-GFP、Mel624-MGP、Mel624-GFPをパルスしたT2と、ブレフェルジンA (BF A)存在下、10:1のE:T比で終夜共培養した。インキュベーション後、IFN- γ およびTNF- α 、ならびにTCR経路の下流活性化マーカーCD137およびCD69のレベルを、フローサイトメトリーを用いて検出した。

40

【図10-1】図10A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0201ペプチドNSP13-242のT細胞作製および機能検証。(A) HLA-A0201健康ドナー由来のPBMCを、NSP13-242ペプチド(TLVPQEHYV - SEQ ID NO:35)パルス自家DCと共培養した。2ラウンドの刺激後、CD8+およびNSP13-242四量体陽性T細胞が誘導された(左側)。CD8+および四量体+ T細胞を選別し、その後にREPで2週間拡大増殖させて、高純度のNSP13-242特異的CTLを作製した(右側)。(B) さまざまな濃度のNSP13-242ペプチドをパルスした⁵¹Cr標識T2細胞を、20:1のE:T比でNSP13-242特異的CTLと共培養した。N

50

SP13-242特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。(C, D) ^{51}Cr 標識NSP13またはGFP強制発現HLA-A0201細胞株A375 (A375-NSP13, A375-GFP)およびMel624 (Mel624-NSP13, Mel624-GFP)を、さまざまなE:T比(40:1から1.25:1まで)でNSP13-242特異的CTLと共培養した。異なる標的に対するNSP13-242特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

【図10-2】図10A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0201ペプチドNSP13-242のT細胞作製および機能検証。(E, F) 非放射性標的阻害アッセイ。 ^{51}Cr 標識A375-NSP13およびMel624-NSP13を放射性標的とした。NSP13-242ペプチドまたはM26無関連ペプチドをパルスした非放射線標識T2細胞を非放射性標的とした。非放射性標的:放射性標的の比は10:1または20:1であった。NSP13-242特異的CTLを放射性標的単独でまたは放射性標的と、非放射性標的とともに20:1のE:放射性T比で共培養した。NSP13-242特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

10

【図10-3】図10A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0201ペプチドNSP13-242のT細胞作製および機能検証。(G) 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ。NSP13-242特異的CTLを、NSP13-242ペプチドまたはM26無関連ペプチド、ならびにA375-NSP13、A375-GFP、Mel624-NSP13、Mel624-GFPをパルスしたT2と、BFAの存在下、10:1のE:T比で終夜共培養した。インキュベーション後、IFN- γ およびTNF- α 、ならびにTCR経路の下流活性化マーカーCD137およびCD69のレベルを、フローサイトメトリーを用いて検出した。

20

【図11-1】図11A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0101ペプチドNSP13-448のT細胞作製および機能検証。(A) HLA-A0101健常ドナー由来のPBMCを、NSP13-448ペプチド(VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37)パルス自家DCと共培養した。2ラウンドの刺激後、CD8+およびNSP13-448四量体陽性T細胞が誘導された(左側)。CD8+および四量体+ T細胞を選別し、その後にREPで2週間拡大増殖させて、高純度のNSP13-448特異的CTLを作製した(右側)。(B) さまざまな濃度のNSP13-448ペプチドをパルスした ^{51}Cr 標識A375細胞を、20:1のE:T比でNSP13-448特異的CTLと共培養した。NSP13-448特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。(C, D) ^{51}Cr 標識NSP13またはGFP強制発現HLA-A0101細胞株A375 (A375-NSP13, A375-GFP)およびRPMI-7951 (RPMI-7951-NSP13, RPMI-7951-GFP)を、さまざまなE:T比(40:1から1.25:1まで)でNSP13-448特異的CTLと共培養した。異なる標的に対するNSP13-448特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

30

【図11-2】図11A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0101ペプチドNSP13-448のT細胞作製および機能検証。(E, F) 非放射性標的阻害アッセイ。 ^{51}Cr 標識A375-NSP13およびRPMI-7951-NSP13を放射性標的とした。NSP13-448ペプチドまたは無関連HLA-A0101ペプチドをパルスした非放射線標識A375細胞を非放射性標的とした。非放射性標的:放射性標的の比は10:1または20:1であった。NSP13-448特異的CTLを放射性標的単独でまたは放射性標的と、非放射性標的とともに20:1のE:放射性T比で共培養した。NSP13-448特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

40

【図11-3】図11A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0101ペプチドNSP13-448のT細胞作製および機能検証。(G) 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ。NSP13-448特異的CTLを、NSP13-448ペプチドまたは無関連HLA-A0101ペプチド、ならびにA375-NSP13、A375-GFP、RPMI-7951-NSP13、RPMI-7951-GFPをパルスしたA375と、BFAの存在下、10:1のE:T比で終夜共培養した。インキュベーション後、IFN- γ およびTNF- α 、ならびにTCR経路の下流活性化マーカーCD137およびCD69のレベルを、フローサイトメトリーを用いて検出した。

【図12-1】図12A~E: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0301ペプチドNSP13

50

-134のT細胞作製および機能検証。(A) NSP13-134ペプチド(KLFAAETLK - SEQ ID NO:36)パルス自家DCをHLA-A0301健常ドナーの自家PBMCと共培養した。2ラウンドの刺激後、CD8+およびNSP13-134四量体陽性T細胞が誘導された(左側)。CD8+および四量体+ T細胞を選別し、その後にREPで2週間拡大増殖させて、高純度のNSP13-134特異的CTLを作製した(右側)。(B) さまざまな濃度のNSP13-134ペプチドをパルスした⁵¹Cr標識HLA-A0301細胞株Hs-578Tを、20:1のE:T比でNSP13-134特異的CTLと共培養した。NSP13-134特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。(C) ⁵¹Cr標識NSP13またはGFP強制発現HLA-A0301細胞株Hs-578T (Hs-578T-NSP13, Hs-578T-GFP)を、さまざまなE:T比(40:1から1.25:1まで)でNSP13-134特異的CTLと共培養した。異なる標的に対するNSP13-134特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。(D) 非放射性標的阻害アッセイ。⁵¹Cr標識Hs-578T-NSP13細胞を放射性標的とした。NSP13-134ペプチドまたは無関連HLA-A0301ペプチドをパルスした非放射線標識Hs-578T細胞を非放射性標的とした。非放射性標的:放射性標的の比は10:1または20:1であった。NSP13-134特異的CTLを放射性標的単独でまたは放射性標的と、非放射性標的とともに20:1のE:放射性T比で共培養した。NSP13-134特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

10

【図12-2】図12A~E: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A0301ペプチドNSP13-134のT細胞作製および機能検証。(E) 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ。NSP13-134特異的CTLを、NSP13-134ペプチドまたは無関連HLA-A0301ペプチド、なら

20

びにHs-578T-NSP13、Hs-578T-GFPをパルスしたHs-578Tと、BFAの存在下、10:1のE:T比で終夜共培養した。インキュベーション後、IFN- γ およびTNF- α 、ならびにTCR経路の下流活性化マーカーCD137およびCD69のレベルを、フローサイトメトリーを用いて検出した。

【図13-1】図13A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A2402ペプチドNSP13-400のT細胞作製および機能検証。(A) HLA-A2402健常ドナー由来のPBMCをNSP13-400ペプチド(VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37)パルス自家DCと共培養した。2ラウンドの刺激後、CD8+およびNSP13-400四量体陽性T細胞が誘導された(左側)。2週間でのCD8+および四量体+ T細胞の選別およびREP後、高純度のNSP13-400特異的CTLが拡大増殖した(右側)。(B) さまざまな濃度のNSP13-400ペプチドをパルスした⁵¹Cr標識HLA-A2402細胞株M14を、20:1のE:T比でNSP13-400特異的CTLと共培養した。NSP13-400特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。(C, D) ⁵¹Cr標識NSP13またはGFP強制発現HLA-A2402細胞株Hs-578T (Hs-578T-NSP13, Hs-578T-GFP)およびM14 (M14-NSP13, M14-GFP)を、さまざまなE:T比(40:1から1.25:1まで)でNSP13-400特異的CTLと共培養した。異なる標的に対するNSP13-400特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

30

【図13-2】図13A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A2402ペプチドNSP13-400のT細胞作製および機能検証。(E, F) 非放射性標的阻害アッセイ。⁵¹Cr標識Hs-578T-NSP13およびM14-NSP13を放射性標的とした。NSP13-400ペプチドまたは無関連HLA-A2402ペプチドをパルスした非放射線標識M14細胞を非放射性標的とした。非放射性標的:放射性標的の比は10:1または20:1であった。NSP13-400特異的CTLを放射性標的単独でまたは放射性標的と、非放射性標的とともに20:1のE:放射性T比で共培養した。NSP13-242特異的CTLの溶解能を標準的CRAで検出した。データは三つ組の平均値として示した。

40

【図13-3】図13A~G: 非構造タンパク質NSP13由来HLA-A2402ペプチドNSP13-400のT細胞作製および機能検証。(G) 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ。NSP13-400特異的CTLを、NSP13-400ペプチドまたは無関連HLA-A2402ペプチド、ならびにHs-578T-NSP13、Hs-578T-GFP、M14-NSP13、M14-GFPをパルスしたM14と、BFAの存在下、10:1のE:T比で終夜共培養した。インキュベーション後、IFN- γ お

50

よびTNF- α 、ならびにTCR経路の下流活性化マーカーCD137およびCD69のレベルを、フローサイトメトリーを用いて検出した。

【図14-1】図14A~E: MGP-65ペプチド特異的T細胞受容体操作T細胞(TCR-T)の作製および機能検証。(A) FP2Aペプチドで連結された全長MGP-65 TCR α 鎖および β 鎖をレトロウイルスベクターpMSGV1に挿入し、次いでこの組換えレトロウイルスベクターを用いてOKT3活性化HLA-A0201アロ(allo)-PBMCに感染させた。約5日間の感染後、CD8+およびMGP-65-四量体+ T細胞集団をフローサイトメトリーによって分析した(中央)。その後、CD8+およびMGP-65四量体陽性細胞を選別し、REPで拡大増殖させた。2週間の拡大増殖後、高純度CTL(90%超の四量体+集団)が作製された(右側)。(B) MGP-65特異的TCR-Tのペプチド用量設定アッセイ。さまざまな濃度のMGP-65ペプチドをパルスした ^{51}Cr 標識T2細胞を、MGP-65特異的TCR-Tと共培養した。MGP-65特異的TCR-Tの溶解レベルを標準的CRAで分析した。データは三つ組の平均値として示した。(C, D) MGP-65特異的TCR-Tの抗原特異的細胞溶解分析。 ^{51}Cr 標識A375-MGP、A375-GFP、Mel624-MGPまたはMel624-GFPを、さまざまなE:T比でMGP-65特異的TCR-Tと共培養した。異なる標的に対するMGP-65特異的TCR-Tの溶解レベルを標準的CRAで分析した。データは三つ組の平均値として示した。

10

【図14-2】図14A~E: MGP-65ペプチド特異的T細胞受容体操作T細胞(TCR-T)の作製および機能検証。(E) 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ。MGP-65特異的TCR-Tを、MGP-65ペプチドまたはM26無関連ペプチド、ならびにA375-MGP、A375-GFP、Mel624-MGP、Mel624-GFPをパルスしたT2と、BFAの存在下、10:1のE:T比で終夜共培養した。インキュベーション後、IFN- γ およびTNF- α 、ならびにTCR経路の下流活性化マーカーCD137およびCD69のレベルを、フローサイトメトリーを用いて検出した。

20

【図15】SARS-CoV-2 MHC結合ペプチド同定および特異的T作製ワークフロー。SARS-CoV-2の抗原発見プラットフォームの概略図。(1) 高頻度のHLA対立遺伝子を有するSARS-CoV-2構造タンパク質膜グリコールタンパク質(MGP)および非構造タンパク質ヘリカーゼ(NSP13)遺伝子強制発現細胞株を樹立した。免疫ペプチドーム測定の場合、拡大増殖したMGPまたはNSP13強制発現細胞を溶解し、抗MHC抗体(W6/32)でMHCペプチド複合体を免疫沈降し、酸で溶出した。溶出したMHC結合ペプチドを次にLC-MS/MSによって分析した。(2) 内因性T細胞(ETC)作製ワークフローを展開して、ペプチド特異的CTLを作製した。(3) SARS-CoV-2標的認識を有する作製されたSARS-CoV-2特異的CTLの検証。(4) 特異的CTLの検証に基づくSARS-CoV-2機能性T細胞受容体(TCR)操作T細胞(TCR-T)の開発。

30

【図16】予測されたSARS-CoV-2 HLA-A0201拘束性ペプチドのT細胞作製および機能検証。内因性T細胞(ETC)作製ワークフローを用いて抗原特異的T細胞作製のために予測された3つの膜グリコールタンパク質(MGP) HLA-A0201ペプチドMGP-53 (FLWL LWPVTL - SEQ ID NO:63)、MGP-56 (LLWPVTLACFV - SEQ ID NO:67)、MGP-89 (GLMWLSYFI - SEQ ID NO:43)、および予測された4つのスパイクタンパク質(SP) HLA-A0201ペプチドSP-424 (KLPDDFTGCV - SEQ ID NO:78)、SP-821 (LLFNKVTLA - SEQ ID NO:79)、SP-983 (RLDKVEAEV - SEQ ID NO:80)、SP-995 (RLITGRLQSL - SEQ ID NO:81)を選択した(左側)。抗原特異的細胞溶解を、標的としてMGP、SPまたはGFP強制発現HLA-A0201細胞株(A375-MGP、A375-SP、A375-GFP、Mel624-MGP、Mel624-GFP、SK-MEL-5-SP、SK-MEL-5-GFP)を用いて標準的な ^{51}Cr 放出アッセイ(CRA)で分析した(右側)。

40

【図17】NSP13から予測されたHLA-A0301ペプチドのPRMスクリーニング。NSP13から予測された10種類の高潜在性HLA-A0301結合ペプチドを選択し、PRM法によって分析した。

【図18-1】図18: ETCワークフローを用いたMGP-65特異的T細胞作製。HLA-A0201健常ドナーに由来する成熟樹状細胞(DC)にMGP-65ペプチド(FVLAAYVRI - SEQ ID NO:22)をパルスし、1枚の48ウェルプレート中で自家PBMCと共培養した。2ラウン

50

ドの刺激後、フローサイトメトリーを用いて個々のウェル中のCD8+およびMGP-65四量体+集団を検出した。

【図18-2】図18-1の続きの図である。

【図19-1】図19: ETCワークフローを用いたNSP13-242特異的T細胞作製。HLA-A0201健常ドナーに由来する成熟樹状細胞(DC)にNSP13-242ペプチド(TLV PQEHYV-SEQ ID NO:35)をパルスし、1枚の48ウェルプレート中で自家PBMCと共培養した。2ラウンドの刺激後、フローサイトメトリーを用いて個々のウェル中のCD8+およびNSP13-242四量体+集団を検出した。

【図19-2】図19-1の続きの図である。

【図20-1】図20: ETCワークフローを用いたNSP13-448特異的T細胞作製。HLA-A0101健常ドナーに由来する成熟樹状細胞(DC)にNSP13-448ペプチド(IVDTVSALVY-SEQ ID NO:34)をパルスし、1枚の48ウェルプレート中で自家PBMCと共培養した。2ラウンドの刺激後、フローサイトメトリーを用いて個々のウェル中のCD8+およびNSP13-134四量体+集団を検出した。

【図20-2】図20-1の続きの図である。

【図21-1】図21: ETCワークフローを用いたNSP13-134特異的T細胞作製。HLA-A0301健常ドナーに由来する成熟樹状細胞(DC)にNSP13-134ペプチド(KLFAAETLK-SEQ ID NO:36)をパルスし、1枚の48ウェルプレート中で自家PBMCと共培養した。2ラウンドの刺激後、フローサイトメトリーを用いて個々のウェル中のCD8+およびNSP13-134四量体+集団を検出した。

【図21-2】図21-1の続きの図である。

【図22-1】図22: ETCワークフローを用いたNSP13-400特異的T細胞作製。HLA-A0201健常ドナーに由来する成熟樹状細胞(DC)にNSP13-400ペプチド(VYIGDPAQL-SEQ ID NO:37)をパルスし、1枚の48ウェルプレート中で自家PBMCと共培養した。2ラウンドの刺激後、フローサイトメトリーを用いて個々のウェル中のCD8+およびNSP13-400四量体+集団を検出した。

【図22-2】図22-1の続きの図である。

【図23】NSP13-134ペプチド特異的TCR-T細胞の作製。全長TCR α 鎖および β 鎖をレトロウイルスベクターpMSGV3に挿入し、次に組換えレトロウイルスベクターを用いてPBMCに感染させた。感染後、CD8+/四量体+集団をフローサイトメトリーによって検出した。四量体誘導による選別および拡大増殖の後、高純度のTCR-T細胞が作製された。

【図24】図24A~C: NSP13-134ペプチド特異的TCR-T細胞の標的殺傷アッセイ。(A) さまざまな濃度のNSP13-134ペプチドをパルスしたT2細胞を標的として用いた。NSP13-134特異的TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は20:1であった。(B, C) GFPまたはSARS-CoV-2 NSP13ペプチドの強制発現を有するSK-MES-1 (HLA-A0301+), Hs-578T (HLA-A0301+)細胞株を標的として用い、NSP13-134特異的TCR-T細胞と共培養した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は40:1から1.25:1であった。異なる標的に対するNSP13-134 TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。NSP13-134 TCR-T細胞は、陰性対照よりも陽性標的に対して有意に高い殺傷レベルを示す。

【図25-1】図25: 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによるNSP13-134 TCR-T細胞の機能検証。NSP13-134特異的TCR-T細胞をSK-MES-1+対照A0301ペプチド、SK-MES-1+NSP13-134、SK-MES-1-GFP、SK-MES-1-NSP13、Hs-578T-GFPおよびHs-578T-NSP13と共培養した(E:T=10:1)。終夜の共培養後、TCR経路の下流活性化マーカーCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α をICSアッセイで検出した。NSP13-134特異的TCR-TのCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α のレベルは、陰性対照の標的と比較して、陽性標的と共培養された場合に有意に増強された。

【図25-2】図25-1の続きの図である。

【図26】NSP13-242ペプチド特異的TCR-T細胞の作製。全長TCR α 鎖および β 鎖をレトロウイルスベクターpMSGV3に挿入し、次に組換えレトロウイルスベクターを用い

てPBMCに感染させた。感染後、CD8+/四量体+集団をフローサイトメトリーによって検出した。四量体誘導による選別および拡大増殖の後、高純度のTCR-T細胞が作製された。

【図27】図27A~C: NSP13-242ペプチド特異的TCR-T細胞の標的殺傷アッセイ。(A) さまざまな濃度のNSP13-242ペプチドをパルスしたT2細胞を標的として用いた。NSP13-242特異的TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は20:1であった。(B, C) GFPまたはSARS-CoV-2 NSP13の強制発現を有するA375 (HLA-A0201+)、RPMI-7951 (HLA-A0201+)細胞株を標的として用い、NSP13-242特異的TCR-T細胞と共培養した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は40:1から1.25:1であった。異なる標的に対するNSP13-242 TCR-Tの溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。NSP13-242 TCR-Tは、陰性対照よりも陽性標的に対して有意に高い殺傷レベルを示した。

10

【図28-1】図28: 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによるNSP13-242 TCR-Tの機能検証。NSP13-242特異的TCR-T細胞をT2+M26、T2+NSP13-242、A375-GFP、A375-NSP13、RPMI-7951-GFPおよびRPMI-7951-NSP13と共培養した(E:T=10:1)。終夜の共培養後、TCR経路の下流活性化マーカーCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α をICSアッセイで検出した。NSP13-242特異的TCR-T細胞のCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α のレベルは、陰性対照の標的と比較して、陽性標的と共培養された場合に有意に増強された。

【図28-2】図28-1の続きの図である。

【図29】NSP13-400抗原特異的TCR-T細胞の作製。NSP13-400特異的CTL細胞株のうちの1つから α 鎖および β 鎖TCR遺伝子をクローニングした。全長TCR α 鎖および β 鎖をレトロウイルスベクターpMSGV3に挿入し、次に組換えレトロウイルスベクターを用いてPBMCに感染させた。感染後、CD8+/四量体+集団とCD4+/四量体+集団の両方が観察された。四量体誘導による選別および拡大増殖の後、高純度のCD8+およびCD4+ TCR-T細胞が作製された。

20

【図30-1】図30A~F: 殺傷アッセイによるMGP-65特異的TCR-T細胞の特異性の検証。(A, D) さまざまな濃度のNSP13-400ペプチドをパルスしたM14細胞を標的として用いた。NSP13-400 CD8+およびCD4+特異的TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。エフェクター対標的(E:T)比は20:1である。(B, C, E, F) GFPまたはSARS-CoV-2 NSP13の強制発現を有するHs-578T (HLA-A2402+)、M14 (HLA-A2402+)細胞株を標的として用い、NSP13-400特異的TCR-T細胞と共培養した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は40:1から1.25:1であった。異なる標的に対するNSP13-400特異的TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。

30

【図30-2】図30A~F: 殺傷アッセイによるMGP-65特異的TCR-T細胞の特異性の検証。(A, D) さまざまな濃度のNSP13-400ペプチドをパルスしたM14細胞を標的として用いた。NSP13-400 CD8+およびCD4+特異的TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。エフェクター対標的(E:T)比は20:1である。(B, C, E, F) GFPまたはSARS-CoV-2 NSP13の強制発現を有するHs-578T (HLA-A2402+)、M14 (HLA-A2402+)細胞株を標的として用い、NSP13-400特異的TCR-T細胞と共培養した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は40:1から1.25:1であった。異なる標的に対するNSP13-400特異的TCR-T細胞の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。

40

【図31-1】図31: 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによるNSP13-400 TCR-Tの機能検証。NSP13-400特異的CD8+およびCD4+ TCR-TをM14+対照ペプチド、M14+NSP13-400、Hs-578T-GFP、Hs-578T-NSP13、M14-GFPおよびM14-NSP13と共培養した(E:T=10:1)。終夜の共培養後、TCR経路の下流活性化マーカーCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α をICSアッセイで検出した。NSP13-400特異的CTL細胞株のCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α のレベルは、陰性対照の標的と比較して、陽性標的と共培養された場合に有意に増強された。

【図31-2】図31-1の続きの図である。

【図31-3】図31-1の続きの図である。

50

【図31-4】図31-1の続きの図である。

【図32】NSP13-448ペプチド特異的TCR-T細胞の作製。全長TCR α 鎖および β 鎖をレトロウイルスベクターpMSGV3に挿入し、次に組換えレトロウイルスベクターを用いてPBMCに感染させた。感染後、CD8+/四量体+集団をフローサイトメトリーによって検出した。四量体誘導による選別および拡大増殖の後、高純度のTCR-T細胞が作製された。

【図33】図33A~C: NSP13-448ペプチド特異的TCR-T細胞の標的殺傷アッセイ。(A)さまざまな濃度のNSP13-448ペプチドをパルスしたA375細胞を標的として用いた。NSP13-448特異的TCR-Tの溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。エフェクター対標的(E:T)比は20:1である。(B, C) GFPまたはSARS-CoV-2 NSP13を強制発現させたA375 (HLA-A0101+)、RPMI-7951 (HLA-A0101+)細胞株を標的とし、NSP13-448特異的TCR-Tと共培養した。エフェクター対標的(E:T)比は40:1から1.25:1である。異なる標的に対するNSP13-448 TCR-Tの溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。NSP13-448 TCR-Tは、陰性対照よりも陽性標的に対して有意に高い殺傷レベルを示す。

【図34-1】図34: 細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイによるNSP13-448 TCR-T細胞の機能検証。NSP13-448特異的TCR-TをA375+対照A0101ペプチド、A375+NSP13-448、A375-GFP、A375-NSP13、RPMI-7951-GFPおよびRPMI-7951-NSP13と共培養した(E:T=10:1)。終夜の共培養後、TCR経路の下流活性化マーカーCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α をICSアッセイで検出した。NSP13-448特異的TCR-TのCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α のレベルは、陰性対照の標的と比較して、陽性標的と共培養された場合に有意に増強された。

【図34-2】図34-1の続きの図である。

【発明を実施するための形態】

【0118】

発明の詳細な説明

SARS-CoV-2感染症は体液性免疫応答と細胞性免疫応答の両方を誘発する。SARS-CoV-2によって引き起こされる疾患であるCOVID19の予防および処置のために、回復と免疫防御を媒介する上で、T細胞応答が体液性応答と同等か、それ以上に重要であることがますます明らかになってきている。感染症や悪性疾患に対するT細胞に基づく治療法の開発における大きな課題の1つは、意味のあるT細胞応答を誘発できる免疫原性エピトープを同定することであった。従来、これは、結合親和性やコンセンサスデータから推定される推定上のエピトープを予測する高度なインシリコ法を用いて達成されてきた。本発明者らは、このようにして定義された「免疫優性」SARS-CoV-2ペプチドが、天然に提示されたSARS-CoV-2エピトープを認識するT細胞応答を誘発できないことを見出した。本発明者らは、SARS-CoV-2の免疫原性エピトープが、天然にプロセッシングされたペプチド-MHC複合体から溶出されたペプチドを直接分析し、そのようなペプチドがSARS-CoV-2抗原を発現する細胞を認識するT細胞を誘発できるかどうかを決定することによって免疫原性を検証することにより経験的に定義するのが最良であると仮定した。タンデム質量分析法を用いて、本発明者らは、最近認識された変種を含むSARS-CoV-2株間で高度に保存された領域において、構造遺伝子のみならず非構造遺伝子に由来するSARS-CoV-2のエピトープを同定した。最後に、組換えベクターに組み込んだ場合に、T細胞の特異性をSARS-CoV-2標的細胞を認識し、殺傷するように方向転換できるTCR配列は報告されていない。本発明者らは、ここで初めて、MHC溶出ペプチドの質量分析によって定義されたいくつかの新規SARS-CoV-2エピトープを報告し、それらの免疫原性についての経験的証拠を提供し、操作されたTCRリダイレクトによる殺傷を実証する。

【0119】

本明細書において記述されるペプチドは、SARS-CoV-2感染症(COVID19)を有する患者の免疫応答を検出するために、またはワクチン接種のために用いることができる。これは、COVID19免疫のより良い理解につながり、COVID19を有する患者の管理に直接影響を与え、ワクチンの免疫応答の評価を可能にするであろう。さらに、このペプチド細胞

傷害性T細胞と操作されたTCRは、HLAに適合した標的に対するSARS-CoV-2特異的T細胞の作製に用いることができるため、COVID19疾患を有する患者に対する既製のT細胞療法を提供することができる。

【0120】

1. 本開示のペプチドを用いた免疫療法

本明細書において記述されるペプチド(例えば、SEQ ID NO:22~81のペプチド)は、ウイルス感染症を処置するための免疫療法に用いられてもよい。例えば、SEQ ID NOS:22~81のうちの1つのペプチドを、T細胞の集団と接触させるか、またはT細胞の集団を刺激するために使用して、該ペプチドを認識または結合するT細胞の増殖を誘導することができる。他の局面において、本開示のペプチドは、SARS-CoV-2感染症に対する対象の免疫応答を増強するために、ヒト患者などの対象に投与されてもよい。

10

【0121】

本開示のペプチドは、能動免疫療法(例えば、ワクチン)または受動免疫療法(例えば、養子免疫療法)に含まれてもよい。能動免疫療法には、精製ペプチド抗原または免疫優性ペプチド(天然または修飾型)で対象を免疫することが含まれる;あるいは、本開示のペプチドをパルスした(またはペプチドを含む抗原をコードする遺伝子をトランスフェクトした)抗原提示細胞が対象に投与されてもよい。ペプチドは修飾されていてもよく、または例えば置換変異などの1つもしくは複数の変異を含んでいてもよい。受動免疫療法には、養子免疫療法が含まれる。養子免疫療法は一般に、本開示のペプチドに対してインビトロで感作されている細胞(例えば、細胞傷害性T細胞)を対象に投与することを伴う(例えば、US 7910109参照)。

20

【0122】

いくつかの局面において、フローサイトメトリーは、例えば、カルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル(CFSE)と組み合わせたT細胞受容体(TCR) V β 抗体に基づく増殖アッセイを用いることにより、ヒト腫瘍抗原特異的T細胞クローンの迅速な単離のための養子免疫療法において用いられてもよい。例えば、Lee et al., J. Immunol. Methods, 331:13-26, 2008を参照されたく、これは参照により全ての目的のために組み入れられる。いくつかの局面において、例えば、Pollack, et al., J Immunother Cancer, 2014; 2: 36に記述されている方法などの四量体誘導細胞選別が用いられてもよく、これは参照により全ての目的のために本明細書に組み入れられる。養子免疫療法にはさまざまな培養プロトコルも知られており、本開示の局面において用いられてもよい。いくつかの局面において、細胞は、抗原提示細胞の使用を必要としない条件において培養されてもよい(例えば、参照により組み入れられる、Hida et al., Cancer Immunol. Immunotherapy, 51:219-228, 2002)。他の局面において、T細胞は、樹状細胞などの抗原提示細胞を利用する培養条件の下で増殖されてもよく(参照により組み入れられる Nestle et al., 1998)、いくつかの局面において、人工抗原提示細胞がこの目的のために用いられてもよい(参照により組み入れられる Maus et al., 2002)。養子免疫療法のさらなる方法は、参照により組み入れられるDudley et al. (2003)に開示されており、これが本開示の局面で用いられてもよい。さまざまな方法が知られており、ヒト抗原特異的T細胞のクローニングおよび拡張に用いられてもよい(例えば、Riddell et al., 1990を参照されたく、これは参照により本明細書に組み入れられる)。

30

40

【0123】

ある特定の局面において、以下のプロトコルは、本開示のペプチドを選択的に認識するT細胞を作製するために用いられてもよい。ペプチド特異的T細胞株は、以前に報告された方法(Hida et al., 2002)を用いて、正常ドナーまたはHLA拘束性の正常ドナーおよび患者から作製されうる。ENREF 32 簡単に述べると、PBMC (1×10^5 細胞/ウェル)を培養培地約200 μ l中、96ウェルのU底マイクロカルチャープレート(Corning Incorporated, Lowell, MA)において四重反復にて約10 μ g/mlの各ペプチドで刺激することができる。培養培地は、50% AIM-V培地(Invitrogen)、50% RPMI1640培地(Invitrogen)、10%ヒトAB血清(Valley Biomedical, Winchester, VA)および100

50

IU/mlのインターロイキン-2 (IL-2)からなりうる。細胞は、約3日ごとに対応するペプチドで再刺激されてもよい。5回の刺激後、各ウェルのT細胞を洗浄し、対応するペプチドの存在下または非存在下でT2細胞とともにインキュベートすることができる。約18時間後、ELISAによって上清中のインターフェロン(IFN)- γ の産生を決定することができる。多量のIFN- γ を分泌するT細胞を、急速拡張プロトコルによってさらに拡張することができる(Riddell et al., 1990; Yee et al., 2002b)。

【0124】

いくつかの局面において、免疫療法は、リボソームまたは細胞透過性ペプチド(CPP)などの細胞貫通剤と関連した本開示のペプチドを利用してもよい。ペプチドをパルスした抗原提示細胞(樹状細胞などの)が、抗腫瘍免疫を増強するために用いられてもよい(Celluzzi et al., 1996; Young et al., 1996)。リボソームおよびCPPについては、以下にさらに詳しく記述する。いくつかの局面において、免疫療法は、本開示のペプチドをコードする核酸を利用してもよく、ここで核酸は、例えば、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクター中で送達される。

【0125】

II. 細胞透過性ペプチド

本開示のペプチドはまた、細胞透過性ペプチド(CPP)と会合しているか、または細胞透過性ペプチド(CPP)と共有結合していてもよい。本開示のペプチドに共有結合されうる細胞透過性ペプチドは、例えば、HIV Tat、ヘルペスウイルスVP22、ショウジョウバエ(*Drosophila*)アンテナペディアルホメオボックス遺伝子産物、シグナル配列、融合配列またはプロテグリンIを含む。ペプチドをCPPに共有結合させることにより、樹状細胞によるペプチドの提示を引き延ばすことができ、かくして抗腫瘍免疫を増強することができる(Wang and Wang, 2002)。いくつかの局面において、本開示のペプチド(例えば、ペプチドまたはポリエピトープストリング内に含まれる)は、融合タンパク質を作製するために、CPPに共有結合(例えば、ペプチド結合を介して)されてもよい。他の局面において、本開示によるペプチドまたはペプチドをコードする核酸は、多層リボソーム、小胞リボソームまたは多胞リボソームなどの、リボソーム内にカプセル封入されても、またはリボソームと会合されてもよい。

【0126】

本明細書において用いられる場合、「会合」とは、物理的会合、化学的会合またはその両方を意味する。例えば、会合は共有結合、疎水性相互作用、カプセル封入、表面吸着などを伴うことができる。

【0127】

本明細書において用いられる場合、「細胞透過剤」とは、抗原提示細胞へのペプチド/ポリエピトープストリングの細胞内送達を増強する組成物または化合物をいう。例えば、細胞透過剤は、ペプチドと会合すると、原形質膜を通過するその能力を増強する脂質であってもよい。あるいは、細胞透過剤はペプチドであってもよい。細胞透過性ペプチド(CPP)は当技術分野において公知であり、例えば、HIVのTatタンパク質(Frankel and Pabo, 1988)、HSVのVP22タンパク質(Elliott and O'Hare, 1997)および線維芽細胞増殖因子(Lin et al., 1995)を含む。

【0128】

細胞透過性ペプチド(または「タンパク質導入ドメイン」)は、ショウジョウバエアンテナペディアルホメオボックス遺伝子(Antp)、HIV TatおよびヘルペスウイルスVP22の3番目のヘリックスから同定されており、これらの全てがアルギニンおよびリジン残基に富む正電荷ドメインを含む(Schwarze et al., 2000; Schwarze et al., 1999)。また、シグナル配列に由来する疎水性ペプチドも細胞透過性ペプチドとして同定されている。(Rojas et al., 1996; Rojas et al., 1998; Du et al., 1998)。これらのペプチドを β -ガラクトシダーゼなどのマーカータンパク質に結合させると、細胞へのマーカータンパク質の効率的な内部移行が付与されることが示されており、これらのペプチドを含むキメラのインフレーション融合タンパク質は、インビトロとインビボの両方で、広範囲の細胞

型にタンパク質を送達するために使用されている(Drin et al., 2002)。これらの細胞透過性ペプチドの本開示のペプチドへの融合は、ポリペプチドの細胞取り込みを増強しうる。

【0129】

いくつかの局面において、細胞取り込みは、ステアラートまたはミリスチラート(myristilate)などの脂質の付加によって促進される。脂質付加は、細胞へのペプチドの通過を増強することが示されている。脂質部分の付加は、本発明が細胞によるポリペプチドの取り込みを増加させるもう1つの方法である。

【0130】

本発明のペプチドは、リボソームワクチン組成物中に含まれうる。例えば、リボソーム組成物は、プロテオリボソーム組成物でありうるかまたはこれを含みうる。本発明とともに使用されうるプロテオリボソーム組成物を製造するための方法は、例えば、Neelapu et al. (2007)およびPopescu et al. (2007)に記述されている。いくつかの局面において、プロテオリボソーム組成物は、黒色腫を処置するために用いられうる。

【0131】

本開示のポリペプチドの取り込みを増強することによって、処置のために必要とされるタンパク質またはペプチドの量を減らすことが可能となりうる。これがひいては、処置費用を著しく減らし、治療剤の供給を増加させることができる。より低い投薬量はまた、ペプチドの潜在的な免疫原性を最小限にし、毒性副作用を制限することができる。

【0132】

いくつかの局面において、本開示のペプチドは、ナノ粒子と相互作用し、ナノ粒子-ポリペプチド複合体を形成しうる。いくつかの局面において、ナノ粒子は、リボソームまたは他の脂質ベースのナノ粒子、例えば、脂質ベースの小胞(例えば、DOTAP:コレステロール小胞)である。他の局面において、ナノ粒子は、酸化鉄ベースの超常磁性ナノ粒子である。直径が約10~100 nmの範囲にある超常磁性ナノ粒子は、脾臓による隔離を回避するのに十分に小さいが、肝臓による排除を回避するのに十分に大きい。このサイズの粒子は、非常に小さな毛細血管に浸透することができ、体組織中に効果的に分布されうる。超常磁性ナノ粒子-ポリペプチド複合体は、ペプチドを取り込む細胞を同定および追跡するために、MRI造影剤として用いられうる。いくつかの局面において、ナノ粒子は、半導体ナノ結晶または半導体量子ドットであり、これらは両方とも光学イメージングにおいて用いることができる。さらなる局面において、ナノ粒子は、シリカのコア上に金の層を含む、ナノシェルでありうる。ナノシェルの一つの利点は、ポリペプチドが、標準化学を使用して金の層へコンジュゲートされうることである。他の局面において、ナノ粒子はフラーレンまたはナノチューブでありうる(Gupta et al., 2005)。

【0133】

ペプチドは、腎臓によって循環から迅速に除去され、また、血清中のプロテアーゼによる分解に敏感である。ペプチドをナノ粒子と相互作用させることによって、本発明のナノ粒子-ポリペプチド複合体は、分解から保護しかつ/または腎臓による排除を減少させうる。これは、ポリペプチドの血清半減期を増加させ、それによって有効な療法のために必要なポリペプチド用量を減少させうる。さらに、これは、処置費用を下げることができ、療法の免疫学的な問題および毒性反応を最小限にする。

【0134】

III. ポリエピトープストリング

いくつかの局面において、ペプチドは、ポリエピトープストリング中に包含されるかまたは含まれる。ポリエピトープストリングは、一緒に連結された1つまたは複数の抗原由来の複数の抗原性エピトープを含有するペプチドまたはポリペプチドである。ポリエピトープストリングは、ヒト対象のような対象において免疫応答を誘導するために用いられうる。ポリエピトープストリングは、マラリアおよび他の病原体を標的とするために以前に使用された(Baraldo et al., 2005; Moorthy et al., 2004; Baird et al., 2004)。ポリエピトープストリングは、核酸(例えば、本開示のペプチドを含む複数の抗原をコ

ードする核酸)またはペプチドもしくはポリペプチド(例えば、本開示のペプチドを含む複数の抗原を含有する)をいう。ポリエピトープストリングはワクチン組成物中に含まれる。

【0135】

IV. 抗原ペプチドの適用

さまざまな局面は、ある特定のウイルス感染症を処置および予防するのに有用な抗原ペプチドの開発および使用を対象とする。多くの局面において、抗原ペプチドは、化学合成によってまたは宿主細胞における分子発現によって産生される。ペプチドは精製され、ペプチド免疫原性を決定するためのアッセイ、T細胞による認識を決定するためのアッセイ、ウイルス感染症の処置のためのペプチドワクチン、T細胞の修飾TCRの開発、および抗体の開発を含む(しかし、これらに限定されない)種々の用途において利用することができる。

10

【0136】

ペプチドはいくつかの方法によって化学的に合成することができる。一般的な方法の1つは固相ペプチド合成(SPPS)を用いることである。一般に、SPPSは、N末端の脱保護とカップリング反応のサイクルを交互に繰り返し、C末端からN末端までペプチドを構築することにより実施される。第1のアミノ酸のC末端は樹脂にカップリングされ、次にアミンが除去され、その後第2のアミノ酸の遊離酸とカップリングされる。このサイクルはペプチドが合成されるまで繰り返される。

20

【0137】

ペプチドは分子ツールと宿主細胞を利用して合成することもできる。抗原ペプチドに対応する核酸配列を合成することができる。いくつかの局面において、合成核酸は、インビトロ合成機(例えば、ホスホルアミダイト合成機)、細菌組換え系、または他の適当な方法において合成される。さらに、合成された核酸は精製および凍結乾燥することができ、または生物系(例えば、細菌、酵母など)内で貯蔵し続けることができる。生物系で使用するために、合成核酸分子はプラスミドベクターなどに挿入することができる。プラスミドベクターは、適当なプロモーターおよび適当な3'-ポリA尾部が転写産物配列と組み合わされた発現ベクターであることもできる。

30

【0138】

局面は、抗原ペプチドまたはタンパク質を産生する発現ベクターおよび発現系にも向けられる。これらの発現系は、適当な発現系において転写産物およびタンパク質を発現するために発現ベクターを組み込むことができる。典型的な発現系は、細菌(例えば、大腸菌(*E. coli*))、昆虫(例えば、SF9)、酵母(例えば、出芽酵母(*S. cerevisiae*))、動物(例えば、CHO)またはヒト(例えば、HEK 293)細胞株を含む。RNAおよび/またはタンパク質分子は、標準的な生物工学の産生手順を用いて、これらの系から精製することができる。

40

【0139】

免疫原性および/またはTCR結合を決定するためのアッセイを実施することができる。そのようなものの1つが、デキストラマーフローサイトメトリーアッセイである。一般に、カスタムメイドのHLA適合MHCクラスIデキストラマー：ペプチド(pMHC)複合体が開発または購入される(Immudex, Copenhagen, Denmark)。末梢血単核球(PBMC)または腫瘍浸潤リンパ球(TIL)からのT細胞を、pMHC複合体とインキュベートし、染色し、これを次いでフローサイトメーターに通してペプチドがT細胞のTCRに結合できるかどうかを決定する。

50

【0140】

本開示のペプチドは、該ペプチドに結合するT細胞受容体を単離および/または同定するために用いることもできる。T細胞受容体はジスルフィド結合によって連結された、T細胞受容体 α (TCR α)鎖および β (TCR β)鎖と称される、2つの異なるポリペプチド鎖を含む。これらの α : β ヘテロ二量体は、免疫グロブリン分子のFab断片と構造が非常に類似しており、ほとんどのT細胞による抗原認識の原因となっている。少数のT細胞は、 γ

およびδと呼ばれる異なるポリペプチド鎖のペアで構成される別の、しかし構造的に類似の、受容体を持つ。どちらのタイプのT細胞受容体も、B細胞受容体として機能する膜結合型免疫グロブリンとは異なる：T細胞受容体は抗原結合部位を1つしか有しないが、B細胞受容体は2つ有し、T細胞受容体は決して分泌されないが、免疫グロブリンは抗体として分泌されることができる。

【0141】

T細胞受容体の両方の鎖は、免疫グロブリンVドメインと相同性を有するアミノ末端可変(V)領域、免疫グロブリンCドメインと相同性を有する定常(C)領域、および鎖間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含む短いヒンジ領域を有する。各鎖は疎水性の膜貫通ドメインによって脂質二重層にまたがっており、短い細胞質尾部で終わっている。

【0142】

T細胞受容体の三次元構造が決定されている。この構造は、T細胞受容体をコードする遺伝子に関する以前の研究から推測されたように、抗体Fab断片のそれと確かに類似している。T細胞受容体の鎖は、Fab断片の鎖とほぼ同じように折り畳まれているが、最終的な構造は少し短く、幅が広がっているように見える。しかしながら、T細胞受容体とFab断片の間には、いくつかの明確な違いがある。最も顕著な違いはCαドメインにあり、折り畳みは他のどの免疫グロブリン様ドメインとも異なる。Cβドメインと並置されたドメインの半分は、他の免疫グロブリン様ドメインに見られるものと同様のβシートを形成するが、ドメインの残りの半分は、緩く詰まった鎖およびαヘリックスの短いセグメントで形成される。分子内ジスルフィド結合は、通常、免疫グロブリン様ドメインでは2本のβ鎖を結合しているが、Cαドメインでは、このαヘリックスのセグメントにβ鎖を結合している。

【0143】

ドメインが相互作用する方法にも違いがある。両方のT細胞受容体鎖のVドメインとCドメインとの間の界面は、抗体におけるよりも広範囲に及ぶため、ドメイン間のヒンジ結合の可動性が低下せらる。そしてCαドメインとCβドメインの間の相互作用は、Cαドメインからの糖基がCβドメインにいくつかの水素結合を作ることによって、炭水化物により支援されるという点で特徴的である。最後に、可変結合部位の比較から、相補性決定領域(CDR)ループが抗体分子のループとかなり密接に整列しているが、抗体分子のループと比べていくらかの置換があることが示される。この置換はVα CDR2ループで特に顕著であり、ドメインの一方の面からループの一方の端を他方に固定するβ鎖のシフトの結果として、抗体Vドメインの同等のループに対してほぼ直角に配向される。鎖置換は、構造が知られている7つのVβドメインのうちの2つのVβ CDR2ループの方向にも変化を引き起こす。今のところ、7つのT細胞受容体の結晶構造が、このレベルの分解能で解明されている。

【0144】

本開示の局面は、SEQ ID NO:22~81の1つのペプチドなどの、本開示のペプチドに結合する操作されたT細胞受容体に関する。「操作された」という用語は、本開示のペプチドおよび抗原に結合するキメラポリペプチドを作製するために、TCR定常領域にグラフト化されたTCR可変領域を有するT細胞受容体をいう。ある特定の局面において、TCRは、クローニング、発現の増強、検出のために、または構築体の治療的制御のために用いられるが、しかし内因性TCRには存在しない介在配列、例えばマルチクローニング部位、リンカー、ヒンジ配列、修飾されたヒンジ配列、修飾された膜貫通配列、検出ポリペプチドもしくは分子、またはTCRを含む細胞の選択もしくはスクリーニングを可能にする治療的制御を含む。

【0145】

いくつかの局面において、TCRは非TCR配列を含む。したがって、ある特定の局面は、TCR遺伝子に由来しない配列を有するTCRに関する。いくつかの局面において、TCRは、TCR遺伝子に通常見出される配列を含むが、自然界で必ずしも一緒に見出されない少なくとも2つのTCR遺伝子からの配列を含むという点で、キメラである。

【0146】

V. 抗体

本開示の局面は、本開示のペプチドを標的とする抗体、またはその断片に関する。「抗体」という用語は、標的抗原への特異的結合についてインタクトな抗体と競合できる任意のアイソタイプのインタクトな免疫グロブリン、またはその断片をいい、キメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、および二重特異性抗体を含む。本明細書において用いられる場合、「抗体」または「免疫グロブリン」という用語は互換的に用いられ、IgG、IgD、IgE、IgA、IgMおよび関連タンパク質を含めて、動物の免疫応答の一部として機能する構造的に関連するタンパク質のいくつかのクラスのいずれか、ならびに抗原結合活性を保持する抗体CDRドメインを含むポリペプチドをいう。

10

【0147】

「抗原」という用語は、抗体などの、選択的結合剤によって結合されうる分子または分子の一部分をいう。抗原は、異なる抗体と相互作用することができる1つまたは複数のエピトープを保有しうる。

【0148】

「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に結合することによって免疫応答を誘発することができる分子の任意の領域または部分を含む。エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホニル基などの化学的に活性な表面基を含み、特定の三次元構造特性および/または特定の電荷特性を有しうる。一般に、特定の標的抗原に特異的な抗体は、複合混合物内の標的抗原上のエピトープを選択的に認識する。

20

【0149】

所与のポリペプチドのエピトープ領域は、X線結晶構造解析、核磁気共鳴分光法、部位特異的変異誘発マッピング、タンパク質ディスプレイレイを含む、当技術分野において周知である多くの異なるエピトープマッピング技法を用いて同定することができ、例えば、Epitope Mapping Protocols, (Johan Rockberg and Johan Nilvebrant, Ed., 2018) Humana Press, New York, N.Y.を参照されたい。そのような技法は当技術分野において公知であり、例えば、米国特許第4,708,871号; Geysen et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002 (1984); Geysen et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:178-182 (1985); Geysen et al. Molec. Immunol. 23:709-715 (1986)を参照されたい。さらに、タンパク質の抗原性領域は、標準的な抗原性および疎水性プロットを用いて予測および同定することもできる。

30

【0150】

「免疫原性配列」という用語は、分子が適切な宿主における抗体の産生を刺激することができるように、少なくとも1つのエピトープのアミノ酸配列を含む分子を意味する。「免疫原性組成物」という用語は、少なくとも1つの免疫原性分子(例えば、抗原または炭水化物)を含む組成物を意味する。

【0151】

インタクトな抗体は一般に、2本の全長重鎖および2本の全長軽鎖で構成されるが、場合によっては、重鎖のみを含みうるラクダ科動物に天然に存在する抗体のような、より少ない鎖を含みうる。本明細書において開示される抗体は、単一の供給源のみに由来しうるか、または「キメラ」でありえ、すなわち、抗体の異なる部分が2つの異なる抗体に由来しうる。例えば、可変領域またはCDR領域は、ラットまたはマウス供給源に由来しうるが、定常領域はヒトなどの、異なる動物供給源に由来する。抗体または結合断片は、ハイブリドーマにおいて、組換えDNA技法によって、またはインタクトな抗体の酵素的もしくは化学的切断によって産生されうる。特に指示のない限り、「抗体」という用語は、その誘導体、変種、断片、およびムテインを含み、その例は以下に記述されている(Sela-Culang et al. Front Immunol. 2013; 4: 302; 2013)。

40

【0152】

「軽鎖」という用語は、結合特異性を付与するのに十分な可変領域配列を有する全長軽

50

鎖およびその断片を含む。全長軽鎖は、25,000ダルトン前後の分子量を有し、可変領域ドメイン(本明細書においてVLと略される)、および定常領域ドメイン(本明細書においてCLと略される)を含む。カップ(κ)およびラムダ(λ)と特定される、軽鎖の分類が2つある。「VL断片」という用語は、CDRを含む、軽鎖可変領域の全部または一部を含むモノクローナル抗体の軽鎖の断片を意味する。VL断片は、軽鎖定常領域配列をさらに含むことができる。軽鎖の可変領域ドメインは、ポリペプチドのアミノ末端にある。

【0153】

「重鎖」という用語は、結合特異性を付与するのに十分な可変領域配列を有する全長重鎖およびその断片を含む。全長重鎖は、50,000ダルトン前後の分子量を有し、可変領域ドメイン(本明細書においてVHと略される)、および3つの定常領域ドメイン(本明細書においてCH1、CH2、およびCH3と略される)を含む。「VH断片」という用語は、CDRを含む、重鎖可変領域の全部または一部を含むモノクローナル抗体の重鎖の断片を意味する。VH断片は、重鎖定常領域配列をさらに含むことができる。重鎖定常領域ドメインの数は、アイソタイプに依存するであろう。VHドメインはポリペプチドのアミノ末端にあり、CHドメインはカルボキシ末端にあり、CH3は-COOH末端に最も近い。抗体のアイソタイプは、IgM、IgD、IgG、IgA、またはIgEであることができ、5つの分類:それぞれミュー(μ)、デルタ(δ)、ガンマ(γ)、アルファ(α)、またはイプシロン(ϵ)鎖が存在する重鎖により定義される。IgGは、IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4を含むが、これらに限定されない、いくつかのサブタイプを有する。IgMサブタイプはIgM1およびIgM2を含む。IgAサブタイプはIgA1およびIgA2を含む。

【0154】

VI. 抗体コンジュゲート

本開示の局面は、抗体コンジュゲートを形成するために少なくとも1つの薬剤に連結されている、一般にモノクローナル型の、本発明のペプチドに対する抗体に関する。診断剤または治療剤としての抗体分子の効能を高めるために、少なくとも1つの所望の分子または部分を連結または共有結合または複合体化することが通常である。そのような分子または部分は、少なくとも1つのエフェクターまたはレポーター分子でありうるが、これらに限定されない。エフェクター分子は、所望の活性、例えば、細胞傷害活性を有する分子を含む。抗体へ付加されたエフェクター分子の非限定的な例としては、毒素、抗腫瘍剤、治療用酵素、放射標識ヌクレオチド、抗ウイルス剤、キレート剤、サイトカイン、成長因子、およびオリゴ-もしくはポリ-ヌクレオチドが挙げられる。対照的に、レポーター分子は、アッセイを用いて検出されうる任意の部分と定義される。抗体へコンジュゲートされたレポーター分子の非限定的な例としては、酵素、放射標識、ハプテン、蛍光標識、リン光分子、化学発光分子、発色団、発光分子、光親和性分子、着色粒子またはリガンド、例えばビオチンが挙げられる。

【0155】

十分な選択性、特異性、または親和性を有する任意の抗体が、抗体コンジュゲートの基礎として用いられうる。このような特性は、当業者に公知の従来の免疫学的スクリーニング法を用いて評価されうる。抗体分子における生物学的活性分子との結合部位には、標準的な抗原結合部位に加えて、病原体、B細胞スーパー抗原、T細胞補助受容体CD4、およびHIV-1エンベロープに結合できる可変ドメイン内に位置する部位が含まれる(Sasso et al., 1989; Shorki et al., 1991; Silvermann et al., 1995; Cleary et al., 1994; Lenert et al., 1990; Berberian et al., 1993; Kreier et al., 1991)。さらに、可変ドメインは、抗体の自己結合に関与し(Kang et al., 1988)、抗抗体により認識されるエпитープ(イディオトープ)を含む(Kohler et al., 1989)。

【0156】

抗体コンジュゲートの特定の例は、抗体が検出可能な標識に連結されているコンジュゲートである。「検出可能な標識」とは、それらの特別な機能的特性および/または化学的特徴により検出でき、それらを用いることによって、それらが付加されている抗体を検出および/または必要な場合はさらに定量することができる、化合物および/または要素で

ある。別のそのような例は、細胞傷害剤または抗細胞剤に連結された抗体を含むコンジュゲートの形成であり、「免疫毒素」と称されうる。

【0157】

抗体コンジュゲートは、一般に、診断剤としての使用について好ましい。抗体診断法は、一般に、種々のイムノアッセイのような、インビトロ診断法において使用するのためのもの、および/または、「抗体特異的イメージング(antibody-directed imaging)」として一般に知られている、インビボ診断プロトコルにおいて使用するのためのものという、2つのクラスの範囲に入る。

【0158】

多くの適切な画像化剤が当技術分野において公知であり、それらを抗体に付加する方法も公知である(例えば、各々参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,021,236号;同第4,938,948号;および同第4,472,509号を参照のこと)。使用される画像化部分は、常磁性イオン;放射性同位体;蛍光色素;NMR検出物質;X線イメージングでありうる。

【0159】

常磁性イオンの場合、例として、クロム(III)、マンガン(II)、鉄(III)、鉄(II)、コバルト(II)、ニッケル(II)、銅(II)、ネオジム(III)、サマリウム(III)、イッテルビウム(III)、ガドリニウム(III)、バナジウム(II)、テルビウム(III)、ジスプロシウム(III)、ホルミウム(III)、および/またはエルビウム(III)などのイオンが言及され得、ガドリニウムが特に好ましい。他の文脈、例えばX線イメージングにおいて有用なイオンには、ランタン(III)、金(III)、鉛(II)、および特にビスマス(III)が含まれるがこれらに限定されない。

【0160】

治療適用および/または診断適用のための放射性同位体の場合、アスタチン²¹¹、¹⁴炭素、⁵¹クロム、³⁶塩素、⁵⁷コバルト、⁵⁸コバルト、銅⁶⁷、¹⁵²Eu、ガリウム⁶⁷、³水素、ヨウ素¹²³、ヨウ素¹²⁵、ヨウ素¹³¹、インジウム¹¹¹、⁵⁹鉄、³²リン、レニウム¹⁸⁶、レニウム¹⁸⁸、⁷⁵セレン、³⁵硫黄、テクネチウム(technetium)^{99m}および/またはイットリウム⁹⁰が言及されうる。¹²⁵Iは、ある特定の局面において使用するのに好ましい場合が多く、テクネチウム^{99m}および/またはインジウム¹¹¹もまた、多くの場合、それらの低エネルギー性および広範囲の検出への適性から好ましい。本発明の放射標識モノクローナル抗体は、当技術分野において周知の方法にしたがって産生されうる。例えば、モノクローナル抗体は、ヨウ化ナトリウムおよび/またはヨウ化カリウムならびに化学的酸化剤、例えば次亜塩素酸ナトリウム、または酵素的酸化剤、例えばラクトペルオキシダーゼと接触させることによってヨウ素化されうる。本発明によるモノクローナル抗体は、例えば、第一スズ溶液でペルテクネート(pertechnate)を還元し、セファデックスカラム上で還元型テクネチウムをキレート化し、抗体をこのカラムに適用することによる、リガンド交換プロセスによって、テクネチウム^{99m}で標識されうる。あるいは、例えば、ペルテクネート、還元剤、例えば SnCl_2 、緩衝溶液、例えばフタル酸ナトリウムカリウム溶液、および抗体をインキュベートすることによる、直接標識技術が用いられうる。金属イオンとして存在する放射性同位体を抗体に結合するために用いられることが多い中継官能基(intermediary functional group)は、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)またはエチレンジアミン四酢酸(EDTA)である。

【0161】

コンジュゲートとして使用することが意図される蛍光標識は、アレクサ350、アレクサ430、AMCA、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665、BODIPY-FL、BODIPY-R6G、BODIPY-TMR、BODIPY-TRX、カスケードブルー、Cy3、Cy5、6-FAM、フルオレセインイソチオシアネート、HEX、6-JOE、オレゴングリーン488、オレゴングリーン500、オレゴングリーン514、パシフィックブルー、REG、ローダミンググリーン、ローダミンレッド、レノグラフィン、ROX、TAMRA、TET、テトラメチルローダミン、および/またはテキサスレッドを含む。

【0162】

本発明において意図される別のタイプの抗体コンジュゲートは、色素形成性の基質との接触によって有色の生成物を生じる酵素(酵素タグ)および/または二次結合性リガンドに抗体が連結されている、主としてインビトロ用途が意図される抗体コンジュゲートである。適当な酵素の例としては、ウレアーゼ、アルカリホスファターゼ、(西洋ワサビ)水素ペルオキシダーゼ、またはグルコースオキシダーゼが挙げられる。好ましい二次結合性リガンドは、ビオチンならびに/またはアビジンおよびストレプトアビジン化合物である。このような標識の使用は当業者に周知であり、例えば、各々参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第3,817,837号; 同第3,850,752号; 同第3,939,350号; 同第3,996,345号; 同第4,277,437号; 同第4,275,149号および同第4,366,241号に記述されている。

10

【0163】

抗体への分子の部位特異的付加というさらに別の公知の方法は、抗体とハプテンベースのアフィニティー標識との反応を含む。基本的に、ハプテンベースのアフィニティー標識は、抗原結合部位中のアミノ酸と反応し、それによってこの部位を破壊し、特異的抗原反応をブロックする。しかし、これは、抗体コンジュゲートによる抗原結合の減少を生じさせるために、有利ではない場合がある。

【0164】

アジド基を含む分子もまた、強度の低い紫外線により生じる反応性ニトレン中間体を通じてタンパク質への共有結合を形成するのに用いられうる(Potter & Haley, 1983)。特に、プリンヌクレオチドの2-および8-アジド類似体が、粗細胞抽出物中のヌクレオチド結合タンパク質を同定するための部位特異的光プローブとして使用された(Owens & Haley, 1987; Atherton et al., 1985)。2-および8-アジドヌクレオチドはまた、精製タンパク質のヌクレオチド結合ドメインをマッピングするために使用され(Khattoon et al., 1989; King et al., 1989; およびDholakia et al., 1989)、また、抗体結合剤として用いられうる。

20

【0165】

コンジュゲート部分への抗体の付加またはコンジュゲーションについて、いくつかの方法が当技術分野で公知である。いくつかの付加方法は、抗体へ付加された、例えば、有機キレート剤、例えばジエチレントリアミン五酢酸無水物(DTPA); エチレントリアミン四酢酸; N-クロロ-p-トルエンスルホンアミド; および/またはテトラクロロ-3 α -6 α -ジフェニルグリコウリル-3を用いる、金属キレート錯体の使用を必要とする(各々参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第4,472,509号および同第4,938,948号)。モノクローナル抗体はまた、カップリング剤、例えばグルタルアルデヒドまたは過ヨウ素酸塩の存在下で酵素と反応されうる。フルオレセインマーカを有するコンジュゲートは、これらのカップリング剤の存在下でまたはイソチオシアネートとの反応によって調製される。米国特許第4,938,948号において、胸部腫瘍の画像化がモノクローナル抗体を用いて達成され、検出可能な画像化部分が、メチル-p-ヒドロキシベンゾイミデートまたはN-スクシニミジル-3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオネートなどのリンカーを用いて抗体に結合されている。

30

40

【0166】

他の局面において、抗体結合部位を変化させない反応条件を用いて、免疫グロブリンのFc領域にスルフヒドリル基を選択的に導入することによる、免疫グロブリンの誘導体化が意図される。この方法にしたがって産生される抗体コンジュゲートは、改善された長寿命性、特異性、および感度を示すことが開示されている(参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,196,066号)。レポーターまたはエフェクター分子がFc領域中の糖残基にコンジュゲートされる、エフェクター分子またはレポーター分子の部位特異的付加もまた、文献に開示されている(O'Shannessy et al., 1987)。このアプローチは、診断上および治療上見込みのある抗体を生じることが報告されており、これらは現在臨床評価の段階にある。

50

【0167】

本発明の別の局面において、抗体は、米国特許第6,048,616号；同第5,990,479号；同第5,690,807号；同第5,505,928号；同第5,262,357号(これらは全て、それらの全体が本明細書に組み入れられる)；ならびにPCT公開公報第99/26299号(1999年5月27日公開)に記述されるものなどの半導体ナノ結晶に連結されうる。特に、本発明の生物学および化学的アッセイにおける半導体ナノ結晶としての使用のための例示的な材料としては、ZnS、ZnSe、ZnTe、CdS、CdSe、CdTe、MgS、MgSe、MgTe、CaS、CaSe、CaTe、SrS、SrSe、SrTe、BaS、BaSe、BaTe、GaN、GaP、GaAs、GaSb、InP、InAs、InSb、AlS、AlP、AlSb、PbS、PbSe、GeおよびSiならびにその三級および四級混合物のようなII～VI属、III～V属、およびIV属半導体を含む、先に記述された材料が挙げられるが、これらに限定されない。半導体ナノ結晶を抗体に連結させるための方法は、米国特許第6,630,307号および同第6,274,323号に記述されている。

10

【0168】

なおさらなる局面において、本発明は、本開示のペプチドを選択的に結合または認識するT細胞のような、生物学的成分を結合、精製、除去、定量、および/またはそうでなければ一般的に検出するための免疫検出法に関する。いくつかの局面において、四量体アッセイが本発明とともに用いられうる。四量体アッセイは、一般に、抗原特異的Tリンパ球に結合しうる可溶性ペプチド-MHC四量体を作製することを伴い、四量体アッセイのための方法は、例えば、Altman et al. (1996)に記述されている。使用されうるいくつかの免疫検出法としては、例えば、酵素結合免疫吸着測定(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、免疫放射線測定法、蛍光免疫測定法、化学発光アッセイ、生物発光アッセイ、四量体アッセイ、およびウエスタンブロットが挙げられる。さまざまな有用な免疫検出法の段階が、例えば、それぞれ参照により本明細書に組み入れられる、Doolittle and Ben-Zeev, 1999; Gulbis and Galand, 1993; De Jager et al., 1993; および Nakamura et al., 1987のような科学文献に記述されている。

20

【0169】

VII. MHCポリペプチド

本開示の局面は、MHCポリペプチドを含む組成物に関する。いくつかの局面において、MHCポリペプチドは、別個のポリペプチドとしてまたは融合タンパク質として発現されうる少なくとも2つ、3つまたは4つのMHCポリペプチドを含む。T細胞への抗原の提示は、異なる抗原プロセッシング経路を用いる、2つの別個のクラスの分子MHCクラスI(MHC-I)とMHCクラスII(MHC-II)(本明細書においては「pMHC」としても同定されている)によって媒介される。細胞内抗原に由来するペプチドは、ほぼすべての細胞に発現されているMHCクラスI分子によってCD8+ T細胞に提示されるのに対し、細胞外抗原に由来するペプチドは、MHC-II分子によってCD4+ T細胞に提示される。ある特定の局面において、特定の抗原は、同定されて、適切なMHCクラスIまたはIIポリペプチドの下で抗原-MHC複合体で提示される。ある特定の局面において、特定の患者および特定のペプチドセットのためにどのMHCポリペプチドが使用されるべきかを決定するために、対象の遺伝子構造が評価されうる。ある特定の局面において、MHCクラスIポリペプチドは、HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、またはCD-1分子の全部または一部を含む。MHCポリペプチドがMHCクラスIIポリペプチドである局面において、MHCクラスIIポリペプチドは、HLA-DR、HLA-DQ、またはHLA-DPの全部または一部を含むことができる。

30

40

【0170】

非古典的MHCポリペプチドもまた、本発明のMHC複合体での使用が意図される。非古典的MHCポリペプチドは、非多型であり、種間で保存され、かつ、狭くて深い疎水性のリガンド結合ポケットを保有する。これらの結合ポケットは、糖脂質とリン脂質をナチュラルキラーT(NKT)細胞にまたはQa1、HLA-E拘束性CD8+ T細胞またはMAIT細胞などのCD8+ T細胞の特定のサブセットに提示することができる。NKT細胞は、NK細胞マーカーと半不変なT細胞受容体(TCR)を共発現する特異なリンパ球集団を表す。それらは

50

広範な疾患に関連した免疫応答の調節に関与している。

【0171】

VIII. さらなる薬剤

いくつかの局面において、本方法はさらなる薬剤の投与をさらに含む。いくつかの局面において、さらなる薬剤は免疫賦活剤である。本明細書において用いられる「免疫賦活剤」という用語は、対象において免疫応答を刺激することができる化合物をいい、アジュバントを含みうる。いくつかの局面において、免疫賦活剤は、特定の抗原を構成しないが、抗原に対する免疫応答の強度および有用な期間(longevity)を高めることができる薬剤である。そのような免疫賦活剤は、トール様受容体、RIG-1およびNOD様受容体(NLR)などの、パターン認識受容体の賦活剤、ミョウバン、大腸菌(*Escherichia coli*)、サルモネラ・ミネソタ(*Salmonella minnesota*)、サルモネラ・チフムリウム(*Salmonella typhimurium*)もしくはシゲラ・フレクスネリ(*Shigella flexneri*)などの腸内細菌のモノホスホリル脂質(MPL) Aと組み合わせたミョウバンまたは特にMPL(登録商標)と組み合わせたミョウバン(AS04)、上記細菌のMPL Aを別々に組み合わせたミョウバンなどの、無機塩、QS-21、Quil-A、ISCOM、ISCOMATRIXなどのサポニン、MF59、モンタニド、ISA 51およびISA 720、AS02 (QS21+スクアレン+MPL)などの乳濁液、AS01などのリポソームおよびリポソーム製剤、淋菌(*N. gonorrhoeae*)、クラミジア・トラコマチス(*Chlamydia trachomatis*)などの細菌由来外膜小胞(OMV)などの合成されたまたは特別に調製されたマイクロ粒子およびマイクロキャリア、あるいはキトサン粒子、ブルロニックブロック共重合体などのデポー形成剤、ムラミルジペプチドなどの、特別に修飾または調製されたペプチド、RC529などのアミノアルキルグルコサミニド4-リン酸、あるいは細菌トキソイドまたは毒素断片などのタンパク質を含みうるが、これらに限定されることはない。

10

20

【0172】

いくつかの局面において、さらなる薬剤は、トール様受容体(TLR)、具体的にはTLR 2、3、4、5、7、8、9および/またはその組み合わせを含むがこれらに限定されない、パターン認識受容体(PRR)に対するアゴニストを含む。いくつかの局面において、さらなる薬剤は、トール様受容体3に対するアゴニスト、トール様受容体7および8に対するアゴニスト、またはトール様受容体9に対するアゴニストを含み; 好ましくは、引用されている免疫賦活剤は、イミダゾキノリン; 例えばR848; アデニン誘導体、例えば米国特許第6,329,381号、米国公開特許出願第2010/0075995号、もしくはWO 2010/018132に開示されているもの; 免疫賦活性DNA; または免疫賦活性RNAを含む。いくつかの局面において、さらなる薬剤はまた、限定されるものではないが、dsRNA、ポリI:CもしくはポリI:ポリC12U (Ampligen(登録商標)として入手可能、ポリI:CもポリI:ポリC12UもともにTLR3刺激剤として知られている)、および/またはF. Heil et al., 「Species-Specific Recognition of Single-Stranded RNA via Toll-like Receptor 7 and 8」 *Science* 303(5663), 1526-1529 (2004); J. Vollmer et al., 「Immune modulation by chemically modified ribonucleosides and oligoribonucleotides」 WO 2008033432 A2; A. Forsbach et al., 「Immunostimulatory oligoribonucleotides containing specific sequence motif(s) and targeting the Toll-like receptor 8 pathway」 WO 2007062107 A2; E. Uhlmann et al., 「Modified oligoribonucleotide analogs with enhanced immunostimulatory activity」 米国特許出願公開第US 2006241076号; G. Lipford et al., 「Immunostimulatory viral RNA oligonucleotides and use for treating cancer and infections」 WO 2005097993 A2; G. Lipford et al., 「Immunostimulatory G,U-containing oligoribonucleotides, compositions, and screening methods」 WO 2003086280 A2に開示されているものなどの、免疫賦活性RNA分子を含みうる。いくつかの局面において、さらなる薬剤は細菌性リポ多糖(LPS)、VSV-G、および/またはHMGB-1などの、TLR-4アゴニストでありうる。いくつかの局面において、さらなる薬剤は、限定されるものではないが、米国特許第6,130,082号

30

40

50

、同第6,585,980号、および同第7,192,725号に開示されているものを含む、フラジェリンなどのTLR-5アゴニスト、またはその部分もしくは誘導体を含む。

【0173】

いくつかの局面において、さらなる薬剤は、壊死細胞から放出される炎症誘発性刺激(例えば、尿酸塩結晶)でありうる。いくつかの局面において、さらなる薬剤は、補体カスケードの活性化された成分(例えば、CD21、CD35など)でありうる。いくつかの局面において、さらなる薬剤は、免疫複合体の活性化された成分でありうる。さらなる薬剤は、CD21またはCD35に結合する分子などの、補体受容体アゴニストも含む。いくつかの局面において、補体受容体アゴニストは、合成ナノキャリアの内因性補体オプソニン化を誘導する。いくつかの局面において、免疫賦活剤は、細胞により放出され、細胞間の相互作用、伝達および他の細胞の挙動に特定の効果を及ぼす小タンパク質または生物学的因子(5 kD~20 kDの範囲内)である、サイトカインである。いくつかの局面において、サイトカイン受容体アゴニストは、小分子、抗体、融合タンパク質、またはアプタマーである。

【0174】

IX. 操作されたT細胞受容体

T細胞受容体はジスルフィド結合によって連結された、T細胞受容体 α (TCR α)鎖および β (TCR β)鎖と称される、2つの異なるポリペプチド鎖を含む。これらの α : β ヘテロ二量体は、免疫グロブリン分子のFab断片と構造が非常に類似しており、ほとんどのT細胞による抗原認識の原因となっている。少数のT細胞は、 γ および δ と呼ばれる異なるポリペプチド鎖のペアで構成される別の、しかし構造的に類似の、受容体を持つ。どちらのタイプのT細胞受容体も、B細胞受容体として機能する膜結合型免疫グロブリンとは異なる: T細胞受容体は抗原結合部位を1つしか有しないが、B細胞受容体は2つ有し、T細胞受容体は決して分泌されないが、免疫グロブリンは抗体として分泌されうる。

【0175】

T細胞受容体の両方の鎖は、免疫グロブリンVドメインと相同性を有するアミノ末端可変(V)領域、免疫グロブリンCドメインと相同性を有する定常(C)領域、および鎖間ジスルフィド結合を形成するシステイン残基を含む短いヒンジ領域を有する。各鎖は疎水性の膜貫通ドメインによって脂質二重層にまたがっており、短い細胞質尾部で終わっている。

【0176】

T細胞受容体の三次元構造が決定されている。この構造は、T細胞受容体をコードする遺伝子に関する以前の研究から推測されたように、抗体Fab断片のそれと確かに類似している。T細胞受容体の鎖は、Fab断片の鎖とほぼ同じように折り畳まれているが、最終的な構造は少し短く、幅が広がっているように見える。しかしながら、T細胞受容体とFab断片の間には、いくつかの明確な違いがある。最も顕著な違いはC α ドメインにあり、折り畳みは他のどの免疫グロブリン様ドメインとも異なる。C β ドメインと並置されたドメインの半分は、他の免疫グロブリン様ドメインに見られるものと同様の β シートを形成するが、ドメインの残りの半分は、緩く詰まった鎖および α ヘリックスの短いセグメントで形成される。分子内ジスルフィド結合は、通常、免疫グロブリン様ドメインでは2本の β 鎖を結合しているが、C α ドメインでは、この α ヘリックスのセグメントに β 鎖を結合している。

【0177】

ドメインが相互作用する方法にも違いがある。両方のT細胞受容体鎖のVドメインとCドメインとの間の界面は、抗体におけるよりも広範囲に及ぶため、ドメイン間のヒンジ結合の可動性が低下されうる。そしてC α ドメインとC β ドメインの間の相互作用は、C α ドメインからの糖基がC β ドメインにいくつかの水素結合を作ること、炭水化物により支援されるという点で特徴的である。最後に、可変結合部位の比較から、相補性決定領域(CDR)ループが抗体分子のループとかなり密接に整列しているが、抗体分子のループと比べていくらかの置換があることが示される。この置換はV α CDR2ループで特に顕著であり、ドメインの一方の面からループの一方の端を他方に固定する β 鎖のシフトの結果として、抗体Vドメインの同等のループに対してほぼ直角に配向される。鎖置換は、構造

が知られている7つのV β ドメインのうちの2つのV β CDR2ループの方向にも変化を引き起こす。今のところ、7つのT細胞受容体の結晶構造が、このレベルの分解能で解明されている。

【0178】

本開示の局面は、操作されたT細胞受容体に関する。「操作された」という用語は、本開示のペプチドおよび抗原に結合するキメラポリペプチドを作製するために、TCR定常領域にグラフトされたTCR可変領域を有するT細胞受容体をいう。ある特定の局面において、TCRは、クローニング、発現の増強、検出のために、または構築体の治療的制御のために用いられるが、しかし内因性TCRには存在しない介在配列、例えばマルチクローニング部位、リンカー、ヒンジ配列、修飾されたヒンジ配列、修飾された膜貫通配列、検出ポリペプチドもしくは分子、またはTCRを含む細胞の選択もしくはスクリーニングを可能にする治療的制御を含む。

10

【0179】

いくつかの局面において、TCRは非TCR配列を含む。したがって、ある特定の局面は、TCR遺伝子に由来しない配列を有するTCRに関する。いくつかの局面において、TCRは、TCR遺伝子に通常見出される配列を含むが、自然界で必ずしも一緒に見出されない少なくとも2つのTCR遺伝子からの配列を含むという点で、キメラである。

【0180】

いくつかの局面において、本開示の操作されたTCRは、以下に示される局面を含む。

【0181】

20

(表1) TCRの局面

30

40

50

記述	配列	SEQ ID NO:
DNA配列: α 鎖 (TRAV17*01 F)	ATGGAAACTCTCCTGGGAGTGTCTTTGGTGATTCTATGGCT TCAACTGGCTAGGGTGAACAGTCAACAGGGAGAAGAGGA TCCTCAGGCCTTGAGCATCCAGGAGGGTGAAAATGCCACC ATGAACTGCAGTTACAAAAGTAGTATAAAACAATTTACAGT GGTATAGACAAAATTCAGGTAGAGGCCTTGTCCACCTAAT TTAATACGTTCAAATGAAAGAGAGAAAACACAGTGGAAGA TTAAGAGTCACGCTTGACACTTCCAAGAAAAGCAGTTCCT TGTTGATCACGGCTTCCCGGGCAGCAGACACTGCTTCTTAC TTCTGTGCTACGGCTCAAACCTCCTACGACAAGGTGATATT TGGGCCAGGGACAAGCTTATCAGTCATTCCAAATATCCAG AACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAAT CCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTACCGATTTTGATTCT CAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATA TCACAGACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTT CAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGAC TTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCAGA AGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCA AGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAA CTTTCAAACCTGTCAAGTATTGGGTTCCGAATCCTCCTCC TGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCT GTGGTCCAGCTAA	1
タンパク質配列 (272aa): α 鎖 (TRAV17*01 F)	METLLGVSLVILWLQLARVNSQQGEEDPQALSIQEGENATM NCSYKTSINNLLQWYRQNSGRGLVHLILIRSNEREKHSGRRLRV TLDTSKKSSSLITASRAADTASYFCATAQTSYDKVIFGPGTS LSVIPNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSK DSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFN NSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRIL LLKVAGFNLLMTLRLWSS	2
可変領域: α 鎖 (TRAV17*01 F)	SQQGEEDPQALSIQEGENATMNCSYKTSINNLLQWYRQNSGR GLVHLILIRSNEREKHSGRRLRVTLDTSKKSSSLITASRAADTA SYFCATAQTSYDKVIFGPGTSLSVIPN	3
リーダーペプチド: α 鎖 (TRAV17*01 F)	METLLGVSLVILWLQLARVN	4
α 鎖 (TRAV17*01 F) CDR1	TSINN	5
α 鎖 (TRAV17*01 F) CDR2	IRSNERE	6
α 鎖 (TRAV17*01 F) CDR3	ATAQTSYDKVI	7

10

20

30

40

50

DNA配列: α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F)	ATGGCATGCCCTGGCTTCCTGTGGGCACTTGTGATCTCCAC CTGTCTTGAATTTAGCATGGCTCAGACAGTCACTCAGTCTC AACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCAGAGACCGTGACCTT GAGCTGCACATATGACACCAGTGAGAGTGATTATTATTTA TTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGATTCTCG TTATTCGCCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACAGA GAATCGTTTCTCTGTGAACCTCCAGAAAGCAGCCAAATCCT TCAGTCTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGATGCCGC GATGTATTTCTGTGCTTATAGGAGTGGAGGAACCTACAAA TACATCTTTGGAACAGGCACCAGGCTGAAGGTTTTAGCAA ATATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGA CTCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATT TTGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAAGTAAGGATTCTGA TGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCT ATGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACA AATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCCTTCAACAACAGCATT ATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTG TGATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACG AACCTAAACTTTCAAAACCTGTCTAGTGATTGGGTTCCGAAT CCTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGC TGCGGCTGTGGTCCAGCTAA	8
タンパク質配列 (272aa): α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F)	MACPGFLWALVISTCLEFSMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTL CTYDTSESDYYLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYKQQNATENRF SVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDAAMYFCAYRSGGTYKYIFGT GTRLKVLANIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNV SQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNSHIPEDTFPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGF RILLKLVAGFNLLMTLRLWSS	9
可変領域: α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F)	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTLSCYDTSESDYYLFWYKQPPS RQMILVIRQEAYKQQNATENRFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQL GDAAMYFCAYRSGGTYKYIFGTGTRLKVLAN	10
リーダーペプチド: α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F)	MACPGFLWALVISTCLEFSM	11
α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F) CDR1	TSESDYY	12
α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F) CDR2	QEAYKQQN	13
α 鎖 (TRAV38-2/DV8*01 F) CDR3	AYRSGGTYKYI	14

10

20

30

40

50

DNA配列: β 鎖 (TRBV9*02 F)	ATGGGCTTCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGCCTTTTGTCTCCT GGGAGCAGGCCAGTGGATTCTGGAGTCACACAAACCCCA AAGCACCTGATCAGCAACTGGACAGCGAGTGACGCTGA GATGCTCCCTAGGTCTGGAGACCTCTCTGTGTACTGGTAC CAACAGAGCCTGGACCAGGGCCTCCAGTTCCTCATTCACT ATTATAATGGAGAAGAGAGAGCAAAAGGAAACATTCTTG AACGATTCTCCGCACAACAGTTCCTGACTTGCACTCTGAA CTAAACCTGAGCTCTCTGGAGCTGGGGGACTCAGCTTTGT ATTTCTGTGCCAGCAGCGTTGAGGGGGCCACCTACAATGA GCAGTTCTTCGGGCCAGGGACACGGCTCACCGTGCTAGAG GACCTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTGCTGTGTTTG AGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCAC ACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTGG AGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTG GGGTGAGCAGCGACCCGAGCCCTCAAGGAGCAGCCCGC CCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGG GTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCG CTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAG TGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCA GCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTC GGTGTCTTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCT ATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCT GGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAG GATTTCTAA	15
タンパク質配列 (272aa): β 鎖 (TRBV9*02 F)	MGFRLLCCVAFCLLGAGPVD SGVTQTPKHLITATGQRVTLRC SPRSGDLSVYWYQQSLDQGLQFLIHYYNGEERAKGNILERFS AQQF PDLHSELNLSSLELGDSALYFCASSVEGPTYNEQFFGPG TRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFF PDHVELSWWWNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSS RLRVSATFWQNP RNHFRCVQVFYGLSENDEWTQDRAKPVTQ IVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAV LVSALVLMAMVKRKDF	16
可変領域: β 鎖 (TRBV9*02 F)	DSGVTQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQG LQFLIHYYNGEERAKGNILERFSAQQF PDLHSELNLSSLELG SALYFCASSVEGPTYNEQFFGPGTRLTVL	17
リーダーペプチド: β 鎖 (TRBV9*02 F)	MGFRLLCCVAFCLLGAGPV	18
β 鎖 (TRBV9*02 F) CDR1	SGDLS	19
β 鎖 (TRBV9*02 F) CDR2	YYNGEE	20
β 鎖 (TRBV9*02 F) CDR3	ASSVEGPTYNEQF	21

10

20

30

40

50

DNA配列: α 鎖 (TRAV3*01 F); NSP13-134 TCR	ATGGCCTCTGCACCCATCTCGATGCTTGCGATGCTCTTCAC ATTGAGTGGGCTGAGAGCTCAGTCAGTGGCTCAGCCGGAA GATCAGGTCAACGTTGCTGAAGGGAATCCTCTGACTGTGA AATGCACCTATTAGTCTCTGGAAACCTTATCTTTTTTGG TATGTTCAATACCCCAACCGAGGCCTCCAGTTCCTTCTGAA ATACATCACAGGGGATAACCTGGTTAAAGGCAGCTATGGC TTTGAAGCTGAATTTAACAAGAGCCAAACCTCCTTCCACCT GAAGAAACCATCTGCCCTTGTGAGCGACTCCGCTTTGTACT TCTGTGCTGTGAGAGACAGAGGCTTTGGGAATGTGCTGCA TTGCGGGTCCGGCACTCAAGTGATTGTTTTACCACATATCC AGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAA ATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATT CTCAAACAAATGTGTCACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTA TATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGAC TTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTG ACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCCA GAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGT CAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTA AACTTTCAAAACCTGTCAAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCT CCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTGCGG CTGTGGTCCAGCTAA	86
タンパク質配列 (274aa): α 鎖 (TRAV3*01 F); NSP13-134 TCR	MASAPISMLAMLFTLSGLRAQSVAQPEDQVNVAEGNPLTVK CTYSVSGNPYLFWYVQYPNRGLQFLLKYITGDNLVKGSYGF EAEFNKSQTSFHLKKPSALVSDSALYFCAVRDRGFGNVLHCG SGTQVIVLPHIQNPDPAYVQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNV SQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACAN AFNNIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVIGF RILLKVAGFNLLMTLRLWSS	87
可変領域: α 鎖 (TRAV3*01 F); NSP13-134 TCR	AQSVAQPEDQVNVAEGNPLTVKCTYSVSGNPYLFWYVQYPN RGLQFLLKYITGDNLVKGSYGF EAEFNKSQTSFHLKKPSALV SDSALYFCAVRDRGFGNVLHCGSGTQVIVLPHI	88
リーダーペプチド: α 鎖 (TRAV3*01 F); NSP13-134 TCR	MASAPISMLAMLFTLSGLR	89
α 鎖 (TRAV3*01 F) CDR1	VSGNPY	90
α 鎖 (TRAV3*01 F) CDR2	YITGDNLV	91
α 鎖 (TRAV3*01 F) CDR3	AVRDRGFGNVLH	92

10

20

30

40

50

DNA配列: β 鎖 (TRBV29-1*01 F); NSP13-134 TCR	ATGCTGAGTCTTCTGCTCCTTCTCCTGGGACTAGGCTCTGT GTTCAAGTGTGTCATCTCTCAAAAGCCAAGCAGGGATATC TGTC AACGTGGAACCTCCCTGACGATCCAGTGTCAAGTCG ATAGCCAAGTCAACATGATGTTCTGGTACCGTCAGCAACC TGGACAGAGCCTGACACTGATCGCAACTGCAAATCAGGGC TCTGAGGCCACATATGAGAGTGGATTTGTCATTGACAAGT TTCCCATCAGCCGCCCAAACCTAACATTCTCAACTCTGACT GTGAGCAACATGAGCCCTGAAGACAGCAGCATATATCTCT GCAGCGCCCGGTTGAAGGACTCCTACGAGCAGTACTTCGG GCCGGGCACCAGGCTCACGGTCACAGAGGACCTGAAAAA CGTGTTCCCAACCCGAGGTCGCTGTGTTTGAGCCATCAGAA GCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCACACTGGTATGCC TGGCCACAGGCTTCTACCCCGACCACGTGGAGCTGAGCTG GTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGGGGTCAGCAC AGACCCGCAGCCCTCAAGGAGCAGCCCGCCCTCAATGAC TCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGGGTCTCGGCCA CCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCGCTGTCAAGTC CAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGTGGACCCAGG ATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAGCGCCGAGGC CTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCGGTGTCCTACC AGCAAGGGGTCTCTGTCTGCCACCATCCTCTATGAGATCCTG CTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTGGTCAGCGCCC TTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGGATTTCTAA	93
タンパク質配列 (306aa): β 鎖 (TRBV29-1*01 F); NSP13-134 TCR	MLSLLLLLLGLGSVFSAVISQKPSRDICQRGTSLTIQCVDSQ VTMMFWYRQQPGQSLTLIATANQGSEATYESGFVIDKFPISRP NLTFSTLTVSNMSPEDSSIYLC SARLKDSYEQYFGPGTRLTVT EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVEL SWWVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSA TFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEA WGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALV LMAMVKRKDF	94
可変領域: β 鎖 (TRBV29-1*01 F); NSP13-134 TCR	SAVISQKPSRDICQRGTSLTIQCVDSQVTMMFWYRQQPGQS LTLIATANQGSEATYESGFVIDKFPISRPNLTFSTLTVSNMSPE DSSIYLC SARLKDSYEQYFGPGTRLTVTE	95
リーダーペプチド: β 鎖 (TRBV29-1*01 F); NSP13-134 TCR	MSLSLLLLLGLGSVF	96
β 鎖 (TRBV29-1*01 F) CDR1	SQVTM	97
β 鎖 (TRBV29-1*01 F) CDR2	ANQGSEA	98
β 鎖 (TRBV29-1*01 F) CDR3	SARLKDSYEQY	99

10

20

30

40

50

DNA配列: α鎖 (TRAV38-1*01 F); NSP13-242 TCR	ATGACACGAGTTAGCTTGCTGTGGGCAGTCGTGGTCTCCA CCTGTCTTGAATCCGGCATGGCCCAGACAGTCACTCAGTCT CAACCAGAGATGTCTGTGCAGGAGGCAGAGACTGTGACCC TGAGTTGCACATATGACACCAGTGAGAATAATTATTATTG TTCTGGTACAAGCAGCCTCCCAGCAGGCAGATGATTCTCG TTATTGCGCAAGAAGCTTATAAGCAACAGAATGCAACGGA GAATCGTTTCTCTGTGAACTTCCAGAAAGCAGCCAAATCCT TCAGTCTCAAGATCTCAGACTCACAGCTGGGGGACACTGC GATGTATTTCTGTGCTTTTCATGAACTCCAACAATGCCAGAC TCATGTTTGGAGATGGAAGCTCAGCTGGTGGTGAAGCCCAA TATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGAC TCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTT TGATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGAT GTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTA TGGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAA ATCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATT TTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGT GATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGA ACCTAAACTTTCAAAACCTGTCAAGTATTGGGTTCCGAATC CTCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCT GCGGCTGTGGTCCAGCTAA	100
タンパク質配列 (275aa): α鎖 (TRAV38-1*01 F); NSP13-242 TCR	MTRVSLWAVVVSTCLESMAQTVTQSQPEMSVQEAETVTL SCTYDTSENNYYLFWYKQPPSRQMILVIRQEAYKQQNATEN RFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQLGDTAMYFCAFMNSNNARLM FGDGTQLVVKPNIQNPDAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQ TNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFA CANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNL S VIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS	101
可変領域: α鎖 (TRAV38-1*01 F); NSP13-242 TCR	AQTVTQSQPEMSVQEAETVTL SCTYDTSENNYYLFWYKQPP SRQMILVIRQEAYKQQNATEN RFSVNFQKAAKSFSCLKISDSQL GDTAMYFCAFMNSNNARLM FGDGTQLVVKPN	102
リーダーペプチド: α鎖 (TRAV38-1*01 F); NSP13-242 TCR	MTRVSLWAVVVSTCLESMAQ	103
α鎖 (TRAV38-1*01 F) CDR1	TSENNYY	104
α鎖 (TRAV38-1*01 F) CDR2	QEAYKQQN	105
α鎖 (TRAV38-1*01 F) CDR3	AFMNSNNARLM	106

10

20

30

40

50

DNA配列: β 鎖 (TRBV10-2*02 F); NSP13-242 TCR	ATGGGCACCAGGCTCTTCTTCTATGTGGCCCTTTGTCTGCT GTGGGCAGGACACAGGGATGCTGGAATCACCCAGAGCCC AAGATACAAGATCACAGAGACAGGAAGGCAGGTGACCTT GATGTGTCAACCAGACTTGGAGCCACAGCTATATGTTCTGGT ATCGACAAGACCTGGGACATGGGCTGAGGCTGATCTATTA CTCAGCAGCTGCTGATATTACAGATAAAGGAGAAGTCCCC GATGGCTACGTTGTCTCCAGATCCAAGACAGAGAATTTCC CCCTCACTCTGGAGTCAGCTACCCGCTCCCAGACATCTGTG TATTTCTGCGCCAGCAGCCCGGGGTCCGTCCCAGGCGGCT ACACCTTCGGTTCGGGGACCAGGTTAACCGTTGTAGAGGA CCTGAACAAGGTGTTCCCACCCGAGGTCTGCTGTGTTTGA CCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCACAC TGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTGGA GCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTGG GGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCCTCAAGGAGCAGCCCCGC CTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAGGG TCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCCGC TGTCAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAGT GGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCAG CGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTCG GTGTCCTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTCTA TGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCTG GTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAGG ATTTCTAA	107
タンパク質配列 (306aa): β 鎖 (TRBV10-2*02 F); NSP13-242 TCR	MGTRLFFYVALCLLWAGHRDAGITQSPRYKITETGRQVTLM CHQTWSHSYMFWYRQDLGHGLRLIYYSAAADITDKGEVPDG YVVSRSKTENFPLTLESATRSQTSVYFCASSPGSVPGGYTFGS GTRLTVVEDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGF FPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLS SRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVT QIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYA VLVSALVLMAMVKRKDF	108
可変領域: β 鎖 (TRBV10-2*02 F); NSP13-242 TCR	DAGITQSPRYKITETGRQVTLMCHQTWSHSYMFWYRQDLGH GLRLIYYSAAADITDKGEVPDGYVVSRSKTENFPLTLESATRS QTSVYFCASSPGSVPGGYTFGSGTRLTVV	109
リーダーペプチド: β 鎖 (TRBV10-2*02 F); NSP13-242 TCR	MGTRLFFYVALCLLWAGHR	110
β 鎖 (TRBV10-2*02 F) CDR1	WSHSY	111
β 鎖 (TRBV10-2*02 F) CDR2	SAAADI	112
β 鎖 (TRBV10-2*02 F) CDR3	ASSPGSVPGGYT	113

10

20

30

40

50

DNA配列: α 鎖 (TRAV12-1*01 F); NSP13-400 TCR	ATGATGATATCCTTGAGAGTTTTACTGGTGATCCTGTGGCT TCAGTTAAGCTGGGTTTGGAGCCAACGGAAGGAGGTGGAG CAGGATCCTGGACCCTTCAATGTTCCAGAGGGAGCCACTG TCGCTTTCAACTGTACTTACAGCAACAGTGCTTCTCAGTCT TTCTTCTGGTACAGACAGGATTGCAGGAAAGAACCTAAGT TGCTGATGTCCGTATACTCCAGTGGTAATGAAGATGGAAG GTTTACAGCACAGCTCAATAGAGCCAGCCAGTATATTTCC CTGCTCATCAGAGACTCCAAGCTCAGTGATTTCAGCCACCT ACCTCTGTGTGGTGAAAGACAGCTGGGGGAAATTGCAGTT TGGAGCAGGGACCCAGGTTGTGGTCACCCCAGATATCCAG AACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACTCTAAAT CCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCT CAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATGTGTATA TCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTT CAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGAC TTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCAGA AGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTGATGTCA AGTGGTTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAACCTAAA CTTTCAAAACCTGTGAGTGATTGGGTTCCGAATCCTCCTCC TGAAAGTGGCCGGGTTAATCTGCTCATGACGCTGCGGCT GTGGTCCAGCTAA	114
タンパク質配列 (275aa): α 鎖 (TRAV12-1*01 F); NSP13-400 TCR	MMISLRVLLVILWLQLSWVWSQRKEVEQDPGPFNVPEGATV AFNCTYSNSASQSFFWYRQDCRKEPKLLMSVYSSGNEDGRFT AQLNRASQYISLLIRDSKLSDSATYLCVVKDSWGKLGAGT QVVVTPDIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQ SKSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAF NNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRI LLLKVAGFNLLMTLRLWSS	115
可変領域: α 鎖 (TRAV12-1*01 F); NSP13-400 TCR	RKEVEQDPGPFNVPEGATVAFNCTYSNSASQSFFWYRQDCR KEPKLLMSVYSSGNEDGRFTAQLNRASQYISLLIRDSKLSDSA TYLCVVKDSWGKLGAGTQVVVTPD	116
リーダーペプチド: α 鎖 (TRAV12-1*01 F); NSP13-400 TCR	MMISLRVLLVILWLQLSWVWSQ	117
α 鎖 (TRAV12-1*01 F) CDR1	NSASQS	118
α 鎖 (TRAV12-1*01 F) CDR2	VYSSGN	119
α 鎖 (TRAV12-1*01 F) CDR3	VVKDSWGKLG	120

10

20

30

40

50

DNA配列: β 鎖 (TRBV12-5*01F); NSP13-400 TCR	ATGGCCACCAGGCTCCTCTGCTGTGTGGTTCTTTGTCTCCT GGGAGAAGAGCTTATAGATGCTAGAGTCACCCAGACACCA AGGCACAAGGTGACAGAGATGGGACAAGAAGTAACAATG AGATGTTCAGCCAATTTTAGGCCACAATACTGTTTTCTGGTA CAGACAGACCATGATGCAAGGACTGGAGTTGCTGGCTTAC TTCCGCAACCGGGCTCCTCTAGATGATTCGGGGATGCCGA AGGATCGATTCTCAGCAGAGATGCCTGATGCAACTTTAGC CACTCTGAAGATCCAGCCCTCAGAACCCAGGGACTCAGCT GTGTATTTTTGTGCTAGTGGTCTTCAGGGGGCTGGAACAC CATATATTTTGGAGAGGGAAGTTGGCTCACTGTTGTAGAG GACCTGAACAAGGTGTTCCCACCCGAGGTCGCTGTGTTTG AGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCCACACCCAAAAGGCCAC ACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCTGACCACGTGG AGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGTG GGTTCAGCACGGACCCGCAGCCCTCAAGGAGCAGCCCGC CCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCTGAGG GTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCGCAACCACTTCCG CTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGCTCTCGGAGAATGACGAG TGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTCA GCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCTC GGTGTCTTACCAGCAAGGGGTCCTGTCTGCCACCATCCTCT ATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGCT GGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAAAG GATTCTAA	121
タンパク質配列 (306aa): β 鎖 (TRBV10- 2*02 F); NSP13- 400 TCR	MATRLCCVVLCLLGEELIDARVTQTPRHKVTEMGQEVMTMR CQPILGHNTVFWYRQTMMQGLELLAYFRNRAPLDDSGMPK DRFSAEMPATLATLKIQPSEPRDSAVYFCASGPSGGWNTIYF GEGSWLTVVEDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLA TGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRY CLSSRLRVSATFWQNPRNHFRQVQFYGLSENDEWTQDRAK PVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATL YAVLVSAVLMLAMVKRKDF	122
可変領域: β 鎖 (TRBV10-2*02 F); NSP13-400 TCR	DARVTQTPRHKVTEMGQEVMTMRCQPILGHNTVFWYRQTMM QGLELLAYFRNRAPLDDSGMPKDRFSAEMPATLATLKIQPS EPRDSAVYFCASGPSGGWNTIYFGECSWLTVV	123
リーダーペプチド: β 鎖 (TRBV10-2*02 F); NSP13-400 TCR	MATRLCCVVLCLLGEELI	124
β 鎖 (TRBV12-5*01F) CDR1	LGHNT	125
β 鎖 (TRBV12-5*01F) CDR2	FRNRAP	126
β 鎖 (TRBV12-5*01F) CDR3	ASGPSGGWNTIY	127

10

20

30

40

50

DNA配列: α 鎖 (TRAV8-4*01 F); NSP13-448 TCR	ATGCTCCTGCTGCTCGTCCCAGTGCTCGAGGTGATTTTAC CCTGGGAGGAACCAGAGCCCAGTCGGTGACCCAGCTTGGC AGCCACGTCTCTGTCTCTGAAGGAGCCCTGGTTCTGCTGAG GTGCAACTACTCATCGTCTGTTCCACCATATCTCTTCTGGT ATGTGCAATACCCCAACCAAGGACTCCAGCTTCTCCTGAA GTACACATCAGCGGCCACCCTGGTTAAAGGCATCAACGGT TTTGAGGCTGAATTTAAGAAGAGTGAAACCTCCTTCCACCT GACGAAACCCTCAGCCCATATGAGCGACGCGGCTGAGTAC TTCTGTGCTGTGAGTAATTCAGGAGGAGGTGCTGACGGAC TCACCTTTGGCAAAGGGACTCATCTAATCATCCAGCCCTAT ATCCAGAACCCTGACCCTGCCGTGTACCAGCTGAGAGACT CTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTT GATTCTCAAACAAATGTGTACAAAGTAAGGATTCTGATG TGTATATCACAGACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTAT GGACTTCAAGAGCAACAGTGCTGTGGCCTGGAGCAACAAA TCTGACTTTGCATGTGCAAACGCCTTCAACAACAGCATTAT TCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCCAGAAAGTTCCTGTG ATGTCAAGCTGGTCGAGAAAAGCTTTGAAACAGATACGAA CCTAAACTTTCAAAACCTGTCAGTGATTGGGTTCGAATCC TCCTCCTGAAAGTGGCCGGGTTTAATCTGCTCATGACGCTG CGGCTGTGGTCCAGCTAA	128
タンパク質配列 (275aa): α 鎖 (TRAV8- 4*01 F); NSP13- 448 TCR	MLLLLVPVLEVIFTLGGTRAQSVTQLGSHVSVSEALVLLRC NYSSSVPPYLFWYVQYPNQGLQLLLKYTSAATLVKGINGFEA EFKKSETSFHLTKPSAHMSDAAEYFCAVSNSGGGADGLTFGK GTHLIIQPYIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVS QSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACAN AFNNIIPEDTFFPSPESCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGF RILLKVAGFNLLMTLRLWSS	129
可変領域: α 鎖 (TRAV8-4*01 F); NSP13-448 TCR	AQSVTQLGSHVSVSEALVLLRCNYSSSVPPYLFWYVQYPN QGLQLLLKYTSAATLVKGINGFEAEFKKSETSFHLTKPSAHM SDAAEYFCAVSNSGGGADGLTFGKGTHLIIQPY	130
リーダーペプチド: α 鎖 (TRAV8-4*01 F); NSP13-448 TCR	MLLLLVPVLEVIFTLGGTR	131
α 鎖 (TRAV8-4*01 F) CDR1	SSVPPY	132
α 鎖 (TRAV8-4*01 F) CDR2	Y TSAATLV	133
α 鎖 (TRAV8-4*01 F) CDR3	AVSNSGGGADGLT	134

10

20

30

40

50

DNA配列: β鎖 (TRBV19*01 F); NSP13-448 TCR	ATGAGCAACCAGGTGCTCTGCTGTGTGGTCCTTTGTTTCCT GGGAGCAAACACCGTGGATGGTGGGAATCACTCAGTCCCCA AAGTACCTGTTTCAGAAAGGAAGGACAGAATGTGACCCTGA GTTGTGAACAGAATTTGAACCACGATGCCATGTACTGGTA CCGACAGGACCCAGGGCAAGGGCTGAGATTGATCTACTAC TCACAGATAGTAAATGACTTTCAGAAAGGAGATATAGCTG AAGGGTACAGCGTCTCTCGGGAGAAGAAGGAATCCTTTCC TCTCACTGTGACATCGGCCCAAAAGAACCCGACAGCTTTC TATCTCTGTGCCAGTAGTATTATGGCAGGGGGTCACGGGG AGCTGTTTTTTTGGAGAAGGCTCTAGGCTGACCGTACTGGA GGACCTGAAAAACGTGTTCCACCCGAGGTCGCTGTGTTT GAGCCATCAGAAGCAGAGATCTCCACACCCAAAAGGCCA CACTGGTGTGCCTGGCCACAGGCTTCTTCCCCGACCACGTG GAGCTGAGCTGGTGGGTGAATGGGAAGGAGGTGCACAGT GGGGTCAGCACAGACCCGCAGCCCCTCAAGGAGCAGCCCCG CCCTCAATGACTCCAGATACTGCCTGAGCAGCCGCCTGAG GGTCTCGGCCACCTTCTGGCAGAACCCCCGCAACCACTTCC GCTGTCAAGTCCAGTTCTACGGGGCTCTCGGAGAATGACGA GTGGACCCAGGATAGGGCCAAACCCGTCACCCAGATCGTC AGCGCCGAGGCCTGGGGTAGAGCAGACTGTGGCTTTACCT CGGTGTCCTACCAGCAAGGGGTCTGTCTGCCACCATCCTC TATGAGATCCTGCTAGGGAAGGCCACCCTGTATGCTGTGC TGGTCAGCGCCCTTGTGTTGATGGCCATGGTCAAGAGAAA GGATTCTAA	135
タンパク質配列 (306aa): β鎖 (TRBV19*01 F); NSP13-448 TCR	MSNQVLCCVVLCLGANTVDGGITQSPKYLFRKEGQNVTL SEQNLNHDAMYWYRQDPGQGLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEG YSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSIMAGGHGELFFG EGSRLTVLEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATG FFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCL SSRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV TQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLY AVLVSAVLMLAMVKRKDF	136
可変領域: β鎖 (TRBV19*01 F); NSP13-448 TCR	DGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSEQNLNHDAMYWYRQDPG QGLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQK NPTAFYLCASSIMAGGHGELFFGEGSRLTVL	137
リーダーペプチド: β鎖 (TRBV19*01 F); NSP13-400 TCR	MSNQVLCCVVLCLGANTV	138
β鎖 (TRBV19*01 F) CDR1	LNHDA	139
β鎖 (TRBV19*01 F) CDR2	SQIVND	140
β鎖 (TRBV19*01 F) CDR3	ASSIMAGGHGELF	141

10

20

30

40

【0182】

X. タンパク質性組成物

本明細書において用いられる場合、「タンパク質」、「ペプチド」または「ポリペプチド」は、少なくとも5つのアミノ酸残基を含む分子をいう。本明細書において用いられる場合、「野生型」という用語は、生物において天然に存在する分子の内因性バージョンをいう。いくつかの局面において、タンパク質またはポリペプチドの野生型バージョンが利用されるが、しかし、本開示の多くの局面において、免疫応答をもたらすために修飾されたタンパク質またはポリペプチドが利用される。上記の用語は互換的に用いられうる。「修飾タンパク質」または「修飾ポリペプチド」または「バリエント」は、その化学構造、

50

特にそのアミノ酸配列が野生型タンパク質またはポリペプチドに対して改変されているタンパク質またはポリペプチドをいう。いくつかの局面において、修飾/バリエーションタンパク質またはポリペプチドは、少なくとも1つの修飾された活性または機能を有する(タンパク質またはポリペプチドが複数の活性または機能を有しうることを認識する)。修飾/バリエーションタンパク質またはポリペプチドは、1つの活性または機能に関して改変されるが、免疫原性などの、他の点において野生型の活性または機能を保有しうることが特に企図される。

【0183】

タンパク質が本明細書において具体的に言及される場合、それは一般に、天然(野生型)もしくは組換え(修飾)タンパク質または、任意で、任意のシグナル配列が除去されたタンパク質への言及である。タンパク質は、それが天然である生物から直接単離され、組換えDNA/外因性発現法により産生され、または固相ペプチド合成(SPPS)もしくは他のインビトロ法により産生されう。特定の局面においては、ポリペプチド(例えば、抗体またはその断片)をコードする核酸配列を組み込んだ単離された核酸セグメントおよび組換えベクターがある。「組換え」という用語は、ポリペプチドまたは特定のポリペプチドの名称と組み合わせて用いられうが、これは一般に、インビトロで操作されたまたはそのような分子の複製産物である、核酸分子から産生されるポリペプチドをいう。

【0184】

ある特定の局面において、タンパク質またはポリペプチド(野生型または修飾型)のサイズは、

5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22,
23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47,
48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72,
73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97,
98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 275,
300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750,
775, 800, 825, 850, 875, 900, 925, 950, 1000, 1200, 1400, 1600, 1800, もしくは 2000

個のアミノ酸残基もしくは核酸残基またはそれ以上、およびその中で導出可能な任意の範囲、あるいは本明細書において記述または参照されている対応するアミノ酸配列の誘導体を含みうが、これらに限定されることはない。ポリペプチドは、トランケーションにより変異され、対応するその野生型の形態よりも短くされることもあり、また、異種タンパク質またはポリペプチド配列を特定の機能(例えば、標的指向化または局在化のための、免疫原性の増強のための、精製目的のためなどの)と融合またはコンジュゲートすることにより改変されうることが企図される。

【0185】

本開示のポリペプチド、タンパク質、またはそのようなポリペプチドもしくはタンパク質をコードするポリヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、もしくは50個(またはその中で導出可能な任意の範囲)またはそれ以上のバリエーションアミノ酸または核酸置換を含みうるか、あるいはSEQ ID NO:1~141の少なくとも

10

20

30

40

50

3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56,
57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81,
82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104,
105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123,
124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142,
143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161,
162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180,
181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199,
200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218,
219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237,
238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 300, 400, 500, 550, 1000

10

20

個もしくはそれ以上の連続するアミノ酸もしくは核酸、またはその中で導出可能な任意の範囲、あるいは多くとも

3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56,
57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81,
82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104,
105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123,
124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142,
143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161,
162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180,
181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199,
200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218,
219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237,
238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 300, 400, 500, 550, 1000

30

40

個もしくはそれ以上の連続するアミノ酸もしくは核酸、またはその中で導出可能な任意の範囲と、少なくとも60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%(またはその中で導出可能な任意の範囲)類似、同一、または相同でありうる。特定の局面において、ペプチドまたはポリペプチドは、ヒト配列であるか、またはヒト配列に基づく。ある特定の局面において、ペプチドまたはポリペプチドは、天然に存在しない、および/またはペプチドもしくはポリペプチド

50

の組み合わせにおけるものである。

【 0 1 8 6 】

いくつかの局面において、タンパク質、ポリペプチドまたは核酸は、SEQ ID NO:1～141のアミノ酸またはヌクレオチドの1から、

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24,
25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49,
50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74,
75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99,
100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118,
119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137,
138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156,
157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175,
176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194,
195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213,
214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232,
233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251,
252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270,
271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289,
290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308,
309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, または 320

10

20

(またはその中で導出可能な任意の範囲)を含みうる。

【 0 1 8 7 】

いくつかの局面において、SEQ ID NO:1～141のうちの1つのペプチドまたはポリペプチドの

30

40

50

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,
15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39,
40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64,
65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89,
90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110,
111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129,
130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148,
149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167,
168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186,
187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205,
206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224,
225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243,
244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262,
263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281,
282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300,
301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319,
320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338,
339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357,
358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376,
377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395,
396, 397, 398, 399, または 400

10

20

30

位のアミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、
グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、
メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロ
シン、もしくはバリンで置換される。

【 0 1 8 8 】

いくつかの局面において、タンパク質、ポリペプチドまたは核酸は、SEQ ID NO:1～
141の

40

50

1, 2, 3, 4, 5,
6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31,
32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56,
57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81,
82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104,
105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123,
124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142,
143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161,
162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180,
181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199,
200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218,
219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237,
238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256,
257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275,
276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294,
295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313,
314, 315, 316, 317, 318, 319, または 320

10

20

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸もしくは核酸を含みうる。

【0189】

いくつかの局面において、ポリペプチド、タンパク質または核酸は、SEQ ID NO:1～141の1つと、少なくとも60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは100%(またはその中で導出可能な任意の範囲)、多くとも60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは100%(またはその中で導出可能な任意の範囲)、またはちょうど60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくは100%(またはその中で導出可能な任意の範囲)類似、同一、または相同である、SEQ ID NO:1～141の少なくとも

30

40

50

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24,
25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49,
50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74,
75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99,
100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118,
119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137,
138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156,
157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175,
176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194,
195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213,
214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232,
233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251,
252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270,
271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289,
290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308,
309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, もしくは 320

10

20

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸を含みうるか、多くとも
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24,

25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49,
50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74,
75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99,
100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118,
119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137,
138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156,
157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175,
176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194,
195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213,
214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232,
233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251,
252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270,
271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289,
290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308,
309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, もしくは 320

30

40

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸を含みうるか、またはちょ

50

うど

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24,
25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49,
50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74,
75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99,
100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118,
119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137,
138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156,
157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175,
176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194,
195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213,
214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232,
233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251,
252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270,
271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289,
290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308,
309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, もしくは 320

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸を含みうる。

【 0 1 9 0 】

いくつかの局面においては、SEQ ID NO:1～141のいずれかの

10

20

30

40

50

1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28,
29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53,
54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78,
79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102,
103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121,
122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140,
141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159,
160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178,
179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197,
198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216,
217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235,
236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254,
255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273,
274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292,
293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311,
312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330,
331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349,
350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368,
369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387,
388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406,
407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425,
426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444,
445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463,
464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482,
483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501,
502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520,
521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539,

10

20

30

40

50

540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558,
559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577,
578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596,
597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615,
616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634,
635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653,
654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672,
673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691,
692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710,
711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729,
730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748,
749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767,
768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786,
787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805,
806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824,
825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843,
844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862,
863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881,
882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900,
901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919,
920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938,
939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, または 950

10

20

30

位で始まり、かつSEQ ID NO:1~141のいずれかの少なくとも

40

50

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,
18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67,
68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92,
93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113,
114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132,
133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151,
152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,
171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189,
190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208,
209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227,
228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246,

10

20

30

40

50

247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265,
266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284,
285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303,
304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322,
323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341,
342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360,
361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379,
380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398,
399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417,
418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436,
437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455,
456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474,
475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493,
494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512,
513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531,
532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550,
551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569,
570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588,
589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607,
608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626,
627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645,
646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664,
665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683,
684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702,
703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721,
722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740,
741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759,
760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778,
779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797,
798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816,
817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835,
836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854,
855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873,
874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892,

10

20

30

40

893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911,
912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930,
931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949,
もしくは950

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸もしくはヌクレオチドを含むか、多くとも

50

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,
18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67,
68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92,
93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113,
114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132,
133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151,
152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,
171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189,
190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208,
209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227,
228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246,

10

20

30

40

50

247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265,
266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284,
285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303,
304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322,
323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341,
342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360,
361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379,
380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398,
399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417,
418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436,
437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455,
456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474,
475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493,
494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512,
513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531,
532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550,
551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569,
570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588,
589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607,
608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626,
627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645,
646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664,
665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683,
684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702,
703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721,
722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740,
741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759,
760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778,
779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797,
798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816,
817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835,
836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854,
855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873,
874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892,

10

20

30

40

893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911,
912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930,
931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949,
もしくは950

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸もしくはヌクレオチドを含むか、またはちょうど

50

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,
18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,
43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67,
68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92,
93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113,
114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132,
133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151,
152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170,
171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189,
190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208,
209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227,
228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246,

10

20

30

40

50

247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265,
266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284,
285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303,
304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322,
323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341,
342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360,
361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379,
380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398,
399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417,
418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436,
437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455,
456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474,
475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493,
494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512,
513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531,
532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550,
551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569,
570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588,
589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607,
608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626,
627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645,
646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664,
665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683,
684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702,
703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721,
722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740,
741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759,
760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778,
779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797,
798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816,
817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835,
836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854,
855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873,
874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892,

10

20

30

40

893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911,
912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930,
931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949,
もしくは950

個(またはその中で導出可能な任意の範囲)の連続するアミノ酸もしくはヌクレオチドを含む、核酸分子またはポリペプチドが存在する。

50

【0191】

さまざまな遺伝子のヌクレオチドならびにタンパク質、ポリペプチド、およびペプチド配列は以前に開示されており、認識されているコンピュータ化されたデータベースにおいて見出されうる。一般的に使用される2つのデータベースは、全米バイオテクノロジー情報センターのGenbankおよびGenPeptデータベース(ワールド・ワイド・ウェブのncbi.nlm.nih.gov/)ならびにユニバーサルプロテインリソース(UniProt; ワールド・ワイド・ウェブのuniprot.org)である。これらの遺伝子のコード領域は、本明細書において開示される技法を用いて、または当業者に公知であるように、増幅および/または発現されうる。

【0192】

本開示の組成物において、1 ml当たり約0.001 mgから約10 mgの総ポリペプチド、ペプチド、および/またはタンパク質が存在するものと企図される。組成物中のタンパク質の濃度は、約0.001、0.010、0.050、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0 mg/mlもしくはそれ以上(またはその中で導出可能な任意の範囲)、少なくとも約0.001、0.010、0.050、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0 mg/mlもしくはそれ以上(またはその中で導出可能な任意の範囲)、または多くとも約0.001、0.010、0.050、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0 mg/mlもしくはそれ以上(またはその中で導出可能な任意の範囲)であることができる。

【0193】

以下は、等価なまたは場合によっては改善された、第二世代のバリエーションポリペプチドまたはペプチドを作製するためにタンパク質のアミノ酸サブユニットを変更することについての考察である。例えば、ある特定のアミノ酸が、例えば、抗体の抗原結合領域または基質分子上の結合部位などの構造との相互作用結合能のかなりの喪失を伴うまたは伴わないように、タンパク質またはポリペプチド配列中の他のアミノ酸の代わりに用いられうる。タンパク質の機能活性を規定するのはタンパク質の相互作用能および性質であることから、タンパク質配列の中におよび対応するそのDNAコード配列の中にある特定のアミノ酸置換を施し、それでも、類似のまたは望ましい特性を有するタンパク質を産生させることができる。このように、タンパク質をコードする遺伝子のDNA配列において、その生物学的有用性または活性をさほど失わないようにさまざまな変更が施されうるものと本発明者らは企図している。

【0194】

「機能的に等価なコドン」という用語は、アルギニンに対する6種類の異なるコドンなどの、同じアミノ酸をコードするコドンをいうように、本明細書において用いられる。生物学的に等価なアミノ酸をコードするコドンの変更をいう「中性置換」または「中性変異」も考慮される。

【0195】

本開示のアミノ酸配列バリエーションは、置換バリエーション、挿入バリエーション、または欠失バリエーションであることができる。本開示のポリペプチドの変異は、野生型と比較して、タンパク質またはポリペプチドの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50個、またはそれ以上(またはその中で導出可能な任意の範囲)の非連続または連続アミノ酸に影響を与えうる。バリエーションは、本明細書において提供または言及される任意の配列と、間にある全ての値および範囲を含めて、少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%同一である、アミノ酸配列を含むことができる。バリエーションは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個

、またはそれ以上の置換アミノ酸を含むことができる。

【0196】

アミノ酸および核酸の配列は、タンパク質の発現が関与している生物学的タンパク質活性の維持を含む上記の基準を満たす限り、それぞれ、さらなるN末端もしくはC末端アミノ酸、または5'もしくは3'配列などのさらなる残基を含むこともあり、それでも本明細書において開示されている配列の1つに記載の通り本質的に同一でありうることも理解されると考えられる。末端配列の付加は核酸配列に特に当てはまり、例えば、コード領域の5'部分または3'部分のいずれか一方に隣接する種々の非コード配列を含むことができる。

【0197】

欠失バリエーションは、典型的には、天然または野生型タンパク質の1つまたは複数の残基を欠損している。個々の残基を欠失させてもよく、またはいくつかの隣接アミノ酸を欠失させてもよい。終止コドン(置換または挿入により)コード核酸配列に導入して、切断型タンパク質を作製することができる。

【0198】

挿入変異体は、典型的には、ポリペプチドにおける非末端点でのアミノ酸残基の付加を伴う。これには1つまたは複数のアミノ酸残基の挿入を含めることができる。末端付加体を作製することも可能であり、これらは、本明細書において記述または参照される1つまたは複数のペプチドまたはポリペプチドの多量体または鎖状体である融合タンパク質を含むことができる。

【0199】

置換バリエーションは、典型的には、タンパク質またはポリペプチド内の1つまたは複数の部位での1つのアミノ酸と別のアミノ酸との交換を含み、他の機能または特性を失ってかまたは失うことなく、ポリペプチドについての1つまたは複数の特性を修飾するようにデザインされてもよい。置換は保存的であってもよく、すなわち、1つのアミノ酸が、類似の化学的特性のアミノ酸に置換されてもよい。「保存的アミノ酸置換」は、1つのアミノ酸クラスの成員と同じクラスの別の成員との交換を伴う。保存的置換は当技術分野において周知であり、これには、例えば、アラニンのセリンへの、アルギニンのリジンへの、アスパラギンのグルタミンまたはヒスチジンへの、アスパラギン酸のグルタミン酸への、システインのセリンへの、グルタミンのアスパラギンへの、グルタミン酸のアスパラギン酸への、グリシンのプロリンへの、ヒスチジンのアスパラギンまたはグルタミンへの、イソロイシンのロイシンまたはバリンへの、ロイシンのバリンまたはイソロイシンへの、リジンのアルギニンへの、メチオニンのロイシンまたはイソロイシンへの、フェニルアラニンのチロシン、ロイシンまたはメチオニンへの、セリンのスレオニンへの、スレオニンのセリンへの、トリプトファンのチロシンへの、チロシンのトリプトファンまたはフェニルアラニンへの、および、バリンのイソロイシンまたはロイシンへの変更が含まれる。保存的アミノ酸置換は、天然に存在しないアミノ酸残基を包含してもよく、それらは、通常、生物学的システムでの合成によってではなく化学的ペプチド合成によって組み入れられる。これらには、ペプチド模倣体または他の逆型もしくは反転型のアミノ酸部分が含まれる。

【0200】

あるいは、置換はポリペプチドの機能または活性が影響を受けるように「非保存的」であってもよい。非保存的変更は、典型的には、非極性アミノ酸または非荷電アミノ酸の代わりに極性アミノ酸または荷電アミノ酸を用いておよびその逆など、1つのアミノ酸残基を化学的に異なる残基に置換することを含む。非保存的置換は、アミノ酸クラス1つの成員と別のクラスからの成員との交換を伴う。

【0201】

当業者は、周知の技法を用いて、本明細書において記載されるようなポリペプチドの適当なバリエーションを決定することができる。当業者は、活性にとって重要であるとは考えられていない領域を標的とすることにより活性を破壊することなく変更されうる分子の適当な領域を同定しうる。当業者はまた、類似のタンパク質またはポリペプチド間で保存され

10

20

30

40

50

ているアミノ酸残基および分子の部分を同定することができるであろう。さらなる局面において、生物学的活性にとってまたは構造にとって重要でありうる領域は、生物学的活性を有意に変化させることなく、またはタンパク質もしくはポリペプチド構造に悪影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換を受けうる。

【0202】

そのような変更を加える際には、アミノ酸のヒドロパシー指数が考慮されうる。タンパク質のヒドロパシープロファイルは、各アミノ酸に数値(「ヒドロパシー指数」)を割り当て、次にペプチド鎖に沿ってこれらの値を繰り返し平均することによって計算される。各アミノ酸には、その疎水性および電荷特性に基づいて値が割り当てられている。それらは、イソロイシン(+4.5); バリン(+4.2); ロイシン(+3.8); フェニルアラニン(+2.8); システイン/シスチン(+2.5); メチオニン(+1.9); アラニン(+1.8); グリシン(-0.4); スレオニン(-0.7); セリン(-0.8); トリプトファン(-0.9); チロシン(-1.3); プロリン(1.6); ヒスチジン(-3.2); グルタミン酸(-3.5); グルタミン(-3.5); アスパラギン酸(-3.5); アスパラギン(-3.5); リシン(-3.9); およびアルギニン(-4.5)である。相互作用的な生物機能をタンパク質に付与する際のヒドロパシーアミノ酸指数の重要性が当技術分野において一般に理解されている(Kyte et al., J. Mol. Biol. 157:105-131 (1982))。アミノ酸の相対的なヒドロパシー特徴は、結果として生じるタンパク質またはポリペプチドの二次構造に寄与し、その結果として、これが、タンパク質またはポリペプチドと、他の分子、例えば、酵素、基質、受容体、DNA、抗体、抗原などとの相互作用を定義すると受け入れられている。ある特定のアミノ酸は、類似のヒドロパシー指数またはスコアを有する他のアミノ酸に置換され、それでも、類似の生物学的活性を保有しうることも知られている。ヒドロパシー指数に基づいて変更を加える際には、ある特定の局面において、ヒドロパシー指数が±2以内であるアミノ酸の置換が含まれる。本発明のいくつかの局面において、±1以内であるものが含まれ、および本発明の他の局面において、±0.5以内のものが含まれる。

【0203】

親水性に基づいて、類似するアミノ酸を効果的に置換できることも当技術分野において理解される。参照により本明細書に組み入れられる米国特許第4,554,101号には、隣接するアミノ酸の親水性によって支配されるタンパク質の最大局所平均親水性(greatest local average hydrophilicity)はタンパク質の生物学的特性と相関関係にあることが述べられている。ある特定の局面において、隣接するアミノ酸の親水性によって支配されるタンパク質の最大局所平均親水性は、その免疫原性および抗原結合と、すなわち、タンパク質の生物学的特性として相関関係にある。これらのアミノ酸残基には以下の親水性値が割り当てられている: アルギニン(+3.0); リジン(+3.0); アスパラギン酸(+3.0±1); グルタミン酸(+3.0±1); セリン(+0.3); アスパラギン(+0.2); グルタミン(+0.2); グリシン(0); スレオニン(-0.4); プロリン(-0.5±1); アラニン(-0.5); ヒスチジン(-0.5); システイン(-1.0); メチオニン(-1.3); バリン(-1.5); ロイシン(-1.8); イソロイシン(-1.8); チロシン(-2.3); フェニルアラニン(-2.5); およびトリプトファン(-3.4)。類似の親水性値に基づいて変更を加える際には、ある特定の局面において、親水性値が±2以内であるアミノ酸の置換が含まれ、他の局面において、±1以内であるものが含まれ、およびさらに他の局面において、±0.5以内のものが含まれる。場合によっては、親水性に基づいて一次アミノ酸配列からエピトープを同定することもできる。これらの領域は「エピトープコア領域」ともいわれる。アミノ酸は、類似の親水性値を有する別のアミノ酸に置換され、それでも、生物学的に等価かつ免疫学的に等価なタンパク質をもたらすものと理解される。

【0204】

さらに、当業者は、活性または構造にとって重要である類似のポリペプチドまたはタンパク質中の残基を同定する構造機能研究を再考することができる。そのような比較の見地から、類似のタンパク質の活性または構造に重要なアミノ酸残基に対応するタンパク質中のアミノ酸残基の重要性を予測することができる。当業者は、そのような予測される重要

なアミノ酸残基に対しての化学的に類似したアミノ酸置換を選択しうる。

【0205】

当業者は、類似のタンパク質またはポリペプチドにおけるその構造との関連で三次元構造およびアミノ酸配列を分析することもできる。そのような情報を考慮して、当業者は、その三次元構造に関して抗体のアミノ酸残基のアライメントを予測しうる。当業者は、タンパク質の表面にあると予測されるアミノ酸残基については、そのような残基が他の分子との重要な相互作用に関与している可能性があるため、変更を加えないという選択をすることもできる。さらに、当業者は、各所望のアミノ酸残基の位置に単一のアミノ酸置換を含む試験バリエーションを作製することが可能である。これらのバリエーションを次に、結合および/または活性についての標準的なアッセイ法を用いてスクリーニングし、かくしてそのような日常的な実験から収集された情報を得ることができ、それにより、当業者は、単独でまたは他の変異との組み合わせでさらなる置換を避けるべきアミノ酸位置を決定することが可能になる。二次構造を決定するために利用できるさまざまなツールは、ワールド・ワイド・ウェブのexpasy.org/proteomics/protein_structureで見出すことができる。

10

【0206】

本発明のいくつかの局面において、(1) タンパク質分解に対する感受性を低減させる、(2) 酸化に対する感受性を低減させる、(3) タンパク質複合体を形成するための結合親和性を改変する、(4) リガンドもしくは抗原結合親和性を改変する、および/または(5) そのようなポリペプチドに対して他の物理化学的または機能的特性を付与もしくは修飾する、アミノ酸置換が行われる。例えば、単一または複数のアミノ酸置換(ある特定の局面において、保存的アミノ酸置換)が、天然に存在する配列において行われうる。分子間接触を形成するドメインの外側にある抗体のその部分において置換を行うことができる。そのような局面において、タンパク質またはポリペプチドの構造的特徴を実質的に変化させない保存的アミノ酸置換(例えば、天然抗体を特徴付ける二次構造を破壊しない1つまたは複数の置換アミノ酸)を用いることができる。

20

【0207】

XI. 核酸

ある特定の局面において、核酸配列は、以下のような種々の例で存在することができる：抗体の片鎖もしくは両鎖、またはその断片、誘導体、ムテインもしくはバリエーションをコードする、組み込まれた配列または組換えポリヌクレオチドの単離されたセグメントおよび組換えベクター、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを同定、分析、変異または増幅するためのハイブリダイゼーションプローブ、PCRプライマーまたは配列決定プライマーとして用いるのに十分なポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドの発現を阻害するためのアンチセンス核酸、ならびに本明細書において記述される前述の相補配列。本明細書において提供されるある特定の抗体に対するエピトープをコードする核酸も提供される。これらのペプチドを含む融合タンパク質をコードする核酸も提供される。核酸は一本鎖または二本鎖であることができ、RNAおよび/またはDNAヌクレオチドならびにそれらの人工バリエーション(例えば、ペプチド核酸)を含むことができる。

30

【0208】

「ポリヌクレオチド」という用語は、組換えであるか、または、全ゲノム核酸から単離されているかのいずれかの核酸分子をいう。「ポリヌクレオチド」という用語の範囲内に含まれるのは、オリゴヌクレオチド(長さが100残基またはそれ以下の核酸)、例えば、プラスミド、コスミド、ファージ、ウイルスなどを含む、組換えベクターである。ポリヌクレオチドは、ある局面において、天然の遺伝子またはタンパク質コード配列から実質的に単離されている、調節配列を含む。ポリヌクレオチドは、一本鎖(コーディングもしくはアンチセンス)または二本鎖であってよく、RNA、DNA(ゲノム、cDNAもしくは合成)、その類似体、またはその組み合わせであってよい。ポリヌクレオチドのなかにさらなるコーディングまたは非コーディング配列が存在してもよいが、存在しなくてもよい。

40

【0209】

50

この点において、「遺伝子」、「ポリヌクレオチド」、または「核酸」という用語は、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸(適切な転写、翻訳後修飾または局在化に必要とされる任意の配列を含む)をいうように用いられる。当業者に理解される通り、この用語はゲノム配列、発現カセット、cDNA配列、ならびにタンパク質、ポリペプチド、ドメイン、ペプチド、融合タンパク質、および変異体を発現するかまたは発現するように適合されうる、遺伝子操作されたもっと小さな核酸セグメントを包含する。ポリペプチドの全部または一部をコードする核酸は、そのようなポリペプチドの全部または一部をコードする連続核酸配列を含むことができる。また、特定のポリペプチドは、わずかに異なる核酸配列を有するがそれでも同じまたは実質的に類似のタンパク質をコードする、変種を含む核酸によってコードされうることも考えられる。

10

【0210】

ある特定の局面には、本明細書において開示される配列と実質的同一性を有するポリヌクレオチドバリエーションがあり；該バリエーションは、本明細書において記述される方法(例えば、標準パラメータによるBLAST解析)を用い本明細書において提供されるポリヌクレオチド配列と比べて、以下の間の全ての値および範囲を含む少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%、またはそれ以上の配列同一性を含む。ある局面において、単離されたポリヌクレオチドは、配列の全長にわたり、本明細書において記述されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%、好ましくは95%、およびそれ以上の同一性を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；または該単離されたポリヌクレオチドに相補的なヌクレオチド配列を含む。

20

【0211】

核酸セグメントは、コード配列それ自体の長さにかかわらず、プロモーター、ポリ阿德ニル化シグナル、付加的な制限酵素部位、マルチクロニング部位、他のコードセグメントなどのような、他の核酸配列と組み合わせてもよく、したがってその全長はかなり変化することができる。核酸は任意の長さであることができる。それらは、例えば、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、75、100、125、175、200、250、300、350、400、450、500、750、1000、1500、3000、5000もしくはそれ以上のヌクレオチド長であることができ、および/または1つもしくは複数の追加の配列、例えば、調節配列を含むことができ、および/またはさらに大きな核酸、例えばベクターの一部であることができる。それゆえ、ほぼすべての長さの核酸断片を使用することができ、その全長は精製の容易さによっておよび意図された組換え核酸プロトコルにおける用途によって制限されることが好ましいものと考えられる。場合によっては、核酸配列は、例えば、ポリペプチドの精製、輸送、分泌、翻訳後修飾を可能にするための、または標的指向化もしくは有効性などの治療的有用性を可能にするための、さらなる異種コード配列を有するポリペプチド配列をコードすることができる。先に論じられる通り、タグまたは他の異種ポリペプチドを、修飾されたポリペプチドをコードする配列に付加することができ、「異種」とは、修飾されたポリペプチドと同じものではないポリペプチドをいう。

30

【0212】

ハイブリダイゼーション

特定のハイブリダイゼーション条件下で他の核酸にハイブリダイズする核酸。核酸をハイブリダイズさせるための方法は、当技術分野において周知である。例えば、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6を参照されたい。本明細書において定義されるように、中等度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件では、5×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)、0.5% SDS、1.0 mM EDTA (pH 8.0)を含有するプレ洗浄溶液、約50%ホルムアミド、6×SSCのハイブリダイゼーション緩衝液、および55℃のハイブリダイゼーション温度(または42℃のハイブリダイゼーション温度を用い、約50%ホルムアミドを含有するものなどの、他の類似のハイブリダイゼーション溶液)、ならびに0.5×SSC、0.1% SDS中60℃の洗浄条件を用いる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件では、45℃にて6×SSC中でハイブリダイズを行い、引き続き68℃にて0.1×SSC、0.2% SD

40

50

S中で1回または複数回の洗浄を行う。さらに、当業者は、ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄条件を操作して、互いに少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であるヌクレオチド配列を含む核酸が、通常、互いにハイブリダイズしたままであるようにハイブリダイゼーションのストリンジェンシーを増大または低下させることができる。

【0213】

ハイブリダイゼーション条件の選択に影響を与えるパラメータおよび適当な条件を考案するためのガイダンスは、例えば、Sambrook、Fritsch、およびManiatis (ともにあらゆる目的のために参照により全体が本明細書に組み入れられる *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., chapters 9 and 11 (1989); *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel et al., eds., John Wiley and Sons, Inc., sections 2.10 and 6.3-6.4 (1995))により記載されており、例えば、DNAの長さおよび/または塩基組成に基づいて当業者により容易に決定されうる。

【0214】

B. 変異

変異によって核酸に変更を導入し、それによって、核酸がコードするポリペプチド(例えば、抗体または抗体誘導体)のアミノ酸配列の変更をもたらすことができる。当技術分野において公知の任意の技法を用いて、変異を導入することができる。1つの局面において、1つまたは複数の特定のアミノ酸残基は、例えば、部位特異的変異誘発プロトコルを用いて変更されうる。別の局面において、1つまたは複数のランダムに選択された残基が、例えば、ランダム変異誘発プロトコルを用いて変更される。どのように作製されたとしても、変異体ポリペプチドを発現させ、所望の特性についてスクリーニングすることができる。

【0215】

変異は、核酸がコードするポリペプチドの生物学的活性を著しく変化させることなく、核酸に導入することができる。例えば、非必須アミノ酸残基の位置でアミノ酸置換をもたらすヌクレオチド置換を行うことができる。あるいは、1つまたは複数の変異を、コードするポリペプチドの生物学的活性を選択的に変化させる核酸に導入することができる。例えば、Romain Studer et al., *Biochem. J.* 449:581-594 (2013)を参照されたい。例えば、変異は生物学的活性を定量的または定性的に変化させることができる。定量的変化の例としては、活性の増大、低減または排除が挙げられる。定性的変化の例としては、抗体の抗原特異性の改変が挙げられる。

【0216】

C. プローブ

別の局面において、核酸分子は、核酸配列の検出用のプライマーまたはハイブリダイゼーションプローブとして用いるのに適している。核酸分子は、全長ポリペプチドをコードする核酸配列の一部分、例えば、プローブもしくはプライマーとして使用できる断片、または所与のポリペプチドの活性部分をコードする断片のみを含むことができる。

【0217】

別の局面において、核酸分子は、特定の抗体配列のためのプローブまたはPCRプライマーとして用いられうる。例えば、診断方法において核酸分子プローブが用いられうるか、またはとりわけ、抗体の可変ドメインの産生で用いるための核酸配列を単離するために使われうるDNAの領域を増幅するために核酸分子PCRプライマーが用いられうる。例えば、Gaily Kivi et al., *BMC Biotechnol.* 16:2 (2016)を参照されたい。好ましい局面において、核酸分子はオリゴヌクレオチドである。より好ましい局面において、オリゴヌクレオチドは、関心対象の抗体またはTCRの重鎖および軽鎖またはアルファ鎖およびベータ鎖の非常に可変な領域に由来する。さらにより好ましい局面において、オリゴヌクレオチドは、1つまたは複数のCDRまたはTCRの全部または一部をコードする。

【0218】

核酸の所望の配列に基づくプローブを用いて、核酸または類似の核酸、例えば、目的のポリペプチドをコードする転写産物を検出することができる。プローブは標識基、例えば、放射性同位元素、蛍光化合物、酵素、または酵素補因子を含むことができる。そのようなプローブを用いて、ポリペプチドを発現する細胞を同定することができる。

【0219】

XII. ポリペプチド発現

いくつかの局面においては、本開示のポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸分子(例えばTCR遺伝子)がある。これらは、当技術分野において公知の方法により、例えば、免疫および単離されたマウスのB細胞から単離され、任意の適当な組換え発現系においてファージディスプレイ発現され、アセンブルして抗体分子を形成することが可能とされることによりまたは組換え法により作製されうる。

10

【0220】

発現

核酸分子は、大量のポリペプチドを発現するために用いられうる。核酸分子が非ヒト、非トランスジェニック動物に由来する場合、核酸分子はTCR遺伝子のヒト化のために用いられうる。

【0221】

B. ベクター

いくつかの局面において、所望の配列のポリペプチドまたはその一部分(例えば、1つもしくは複数のCDRまたは1つもしくは複数の可変領域ドメインを含む断片)をコードする核酸分子を含む発現ベクターが企図される。核酸分子を含む発現ベクターは、重鎖、軽鎖、アルファ鎖、ベータ鎖、またはその抗原結合部分をコードしうる。いくつかの局面において、核酸分子を含む発現ベクターは、融合タンパク質、修飾された抗体、抗体断片、およびそれらのプローブをコードしうる。転写および翻訳を統制する制御配列に加えて、ベクターおよび発現ベクターは、他の機能も果たす核酸配列を含みうる。

20

【0222】

本開示のポリペプチドまたはペプチドを発現させるため、遺伝子領域が転写および翻訳制御配列に機能的に連結されるようにポリペプチドまたはペプチドをコードするDNAを発現ベクターに挿入する。いくつかの局面においては、任意の可変領域配列が容易に挿入および発現されうるように操作された適切な制限部位を有する機能的に完全なヒトCHもしくはCL免疫グロブリンまたはTCR配列をコードするベクター。いくつかの局面においては、任意の可変配列またはCDR1、CDR2および/もしくはCDR3が容易に挿入および発現されうるように操作された適切な制限部位を有する機能的に完全なヒトTCR α またはTCR β 配列をコードするベクター。典型的には、宿主細胞のいずれかで用いられる発現ベクターは、プラスミドまたはウイルスの維持のための、ならびに外因性ヌクレオチド配列のクローニングおよび発現のための配列を含む。まとめて「フランキング配列」といわれるそのような配列は、典型的には、以下の機能的に連結されたヌクレオチド配列の1つまたは複数を含む: プロモーター、1つまたは複数のエンハンサー配列、複製の起点、転写終結配列、ドナーおよびアクセプタースプライス部位を含む完全なイントロン配列、ポリペプチド分泌のためのリーダー配列をコードする配列、リボソーム結合部位、ポリアダニル化配列、発現されるポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、ならびに選択可能なマーカー要素。そのような配列およびそれを使用する方法は、当技術分野において周知である。

30

40

【0223】

C. 発現系

上記の発現ベクターの少なくとも一部または全部を含む多数の発現系が存在する。原核生物および/または真核生物に基づく系を1つの局面で用いるために利用して、核酸配列、またはその同族ポリペプチド、タンパク質およびペプチドを産生することができる。商業的かつ広範に利用可能な系は、細菌、哺乳動物、酵母、および昆虫細胞の系を含むが、

50

これらに限定されることはない。異なる宿主細胞は、タンパク質の翻訳後プロセッシングおよび修飾のための特徴的かつ特異的な機構を有する。発現された外来タンパク質の的確な修飾およびプロセッシングを確実にするために、適切な細胞株または宿主系を選択することができる。当業者は、適切な発現系を用いベクターを発現させて、核酸配列またはその同族ポリペプチド、タンパク質もしくはペプチドを産生させることができる。

【0224】

D. 遺伝子移入の方法

組成物の発現をもたらすための核酸送達に適した方法は、本明細書において記述されるようにまたは当業者に公知であるように、核酸(例えば、ウイルスベクターおよび非ウイルスベクターを含む、DNA)を細胞、組織または生物に導入することができる実質的に任意の方法を含むものと見込まれる。そのような方法は、マイクロインジェクション(参照により本明細書に組み入れられるHarland and Weintraub, 1985; 米国特許第5,789,215号)を含む、注入(それぞれ参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,994,624号、同第5,981,274号、同第5,945,100号、同第5,780,448号、同第5,736,524号、同第5,702,932号、同第5,656,610号、同第5,589,466号および同第5,580,859号)による; エレクトロポレーション(参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,384,253号)による; リン酸カルシウム沈殿(Graham and Van Der Eb, 1973; Chen and Okayama, 1987; Rippe et al., 1990)による; DEAEデキストラン、続けてポリエチレングリコールの使用(Gopal, 1985)による; 直接音波負荷(Fechheimer et al., 1987)による; リポソーム媒介トランスフェクション(Nicolau and Sene, 1982; Fraley et al., 1979; Nicolau et al., 1987; Wong et al., 1980; Kaneda et al., 1989; Kato et al., 1991)による; 微小発射体衝撃(PCT出願番号WO 94/09699および95/06128; 米国特許第5,610,042号、同第5,322,783号、同第5,563,055号、同第5,550,318号、同第5,538,877号および同第5,538,880号、ならびにそれぞれ参照により本明細書に組み入れられる)による; 炭化ケイ素繊維を用いた攪拌(それぞれ参照により本明細書に組み入れられるKaeppler et al., 1990; 米国特許第5,302,523号および同第5,464,765号)による; アグロバクテリウムを介した形質転換(それぞれ参照により本明細書に組み入れられる米国特許第5,591,616号および同第5,563,055号)による; またはプロトプラストのPEG媒介形質転換(それぞれ参照により本明細書に組み入れられるOmirulleh et al., 1993; 米国特許第4,684,611号および同第4,952,500号)による; 乾燥/阻害を介したDNA取込み(Potrykus et al., 1985)によるようなDNAの直接送達を含むが、これらに限定されることはない。他の方法は、レンチウイルスまたはレトロウイルス形質導入による遺伝子移入などの、ウイルス形質導入を含む。

【0225】

宿主細胞

別の局面において、組換え発現ベクターが導入された宿主細胞の使用が企図される。抗体は種々の細胞型で発現させることができる。抗体をコードする発現構築体は、当技術分野において公知の種々の方法によって細胞にトランスフェクトすることができる。ベクターDNAは、従来の形質転換またはトランスフェクション技法を介して原核細胞または真核細胞に導入することができる。いくつかのベクターは、原核細胞と真核細胞の両方で複製および/または発現されることを可能にする制御配列を利用する。ある特定の局面において、抗体発現構築体は、T細胞活性化に関連するプロモーター、例えば、ともにT細胞活性化時に活性化されうる転写因子であるNFAT-1またはNF- κ Bによって制御されるものの制御下に配置することができる。抗体発現の制御により、腫瘍標的指向T細胞などのT細胞は、その周囲を感知し、T細胞自体と周囲の内因性免疫細胞の両方において、サイトカインシグナル伝達のリアルタイム調節を実施することが可能になる。当業者は、宿主細胞をインキュベートしてそれらを維持し、ベクターの複製を可能にする条件を理解するであろう。また、ベクターの大規模な産生、ならびにベクターによってコードされる核酸およびその同族ポリペプチド、タンパク質、またはペプチドの産生を可能にする技法および条件も理解され、知られている。

10

20

30

40

50

【0226】

哺乳動物細胞の安定したトランスフェクションのために、使用される発現ベクターおよびトランスフェクション技法に依り、細胞のごく一部のみが外来DNAをそのゲノムに組み込みうるということが知られている。これらの組み込み体を同定および選択するために、選択可能なマーカー(例えば、抗生物質に対する耐性のための)が一般に、関心対象の遺伝子とともに宿主細胞に導入される。導入核酸を安定にトランスフェクトした細胞は、当技術分野において公知の他の方法の中でもとりわけ、薬物選択によって同定することができる(例えば、選択可能なマーカー遺伝子を組み込んだ細胞は生き残るが、他の細胞は死滅する)。

【0227】

10

2. 単離

抗体またはTCRの重鎖、軽鎖、アルファ鎖、およびベータ鎖の全体またはその可変領域の一方または両方をコードする核酸分子は、抗体を産生する任意の供給源から得られる。抗体をコードするmRNAを単離する方法は、当技術分野において周知である。例えば、Sambrook et al., 前記を参照されたい。ヒト重鎖および軽鎖定常領域遺伝子の配列も当技術分野において公知である。例えば、Kabat et al., 1991, 前記を参照されたい。次に、全長の重鎖および/または軽鎖をコードする核酸分子が、それらを導入した細胞において発現され、抗体が単離されうる。

【0228】

XIII. 細胞の製剤化および培養

20

特定の局面において、本開示の細胞は、特に製剤化されてもよく、および/またはそれらは特定の培地中で培養されてもよい。細胞は、有害な影響なしにレシピエントへの送達に適するような方法で製剤化されてもよい。

【0229】

ある特定の局面における培地は、AIM V、X-VIVO-15、NeuroBasal、EGM2、TeSR、BME、BGJb、CMRL 1066、グラスゴーMEM、改良MEM亜鉛オプション、IMDM、199培地、イーグルMEM、 α MEM、DMEM、Ham、RPMI-1640およびフィッシャー培地のいずれか、ならびにそれらの任意の組み合わせなどの、動物細胞を培養するために用いられる培地を基礎培地として用いて調製されうるが、培地は、それが動物細胞を培養するために用いられうる限り、それらに特に限定されえない。特に、培地はゼノフリーでありうる、または化学的に規定されうる。

30

【0230】

培地は、血清含有培地もしくは無血清培地、またはゼノフリー培地でありうる。異種動物由来構成要素による汚染を阻止する局面から、血清は、幹細胞のものと同一動物に由来しうる。無血清培地は、未加工または未精製の血清を有しない培地をいい、したがって、精製された血液由来構成要素または動物組織由来構成要素(成長因子などの)を有する培地を含みうる。

【0231】

培地は、血清の任意の代替物を含有しても含有しなくてもよい。血清の代替物には、アルブミン(脂質に富んだアルブミン、ウシアルブミン、組換えアルブミンまたはヒト化アルブミンなどのアルブミン代用物、植物デンプン、デキストラン、およびタンパク質加水分解物などの)、トランスフェリン(または他の鉄輸送体)、脂肪酸、インスリン、コラーゲン先駆体、微量元素、2-メルカプトエタノール、3'-チオグリセロール、またはそれらの同等物を適当に含有する材料が含まれうる。血清の代替物は、例えば国際公報第98/30679号(その全体が本明細書に組み入れられる)に開示される方法によって調製されうる。あるいは、より多くの利便性のために、任意の市販の材料が用いられうる。市販の材料には、ノックアウト血清代替品(knockout Serum Replacement) (KSR)、化学的に規定された脂質濃縮型(Chemically-defined Lipid concentrated) (Gibco)およびGlutamax (Gibco)が含まれる。

40

【0232】

50

ある特定の局面において、培地は、ビオチン；酢酸DLアルファトコフェロール；DLアルファ-トコフェロール；ビタミンA（アセテート）などのビタミン；BSA（ウシ血清アルブミン）またはヒトアルブミン、脂肪酸不含のフラクションV；カタラーゼ；ヒト組換えインスリン；ヒトトランスフェリン；スーパーオキシドジスムターゼなどのタンパク質；コルチコステロン；D-ガラクトース；エタノールアミンHCl；グルタチオン(還元型)；L-カルニチンHCl；リノール酸；リノレン酸；プロゲステロン；プトレシン2HCl；亜セレン酸ナトリウム；および/またはT3（トリヨード-L-サイロニン）などの他の構成要素のうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20種、またはそれを上回る種類を含みうる。特定の局面において、これらのうちの1種または複数種が明示的に除外されうる。

10

【0233】

いくつかの局面において、培地はビタミンをさらに含む。いくつかの局面において、培地は、ビオチン、酢酸DLアルファトコフェロール、DLアルファ-トコフェロール、ビタミンA、塩化コリン、パントテン酸カルシウム、パントテン酸、葉酸ニコチンアミド、ピリドキシン、リボフラビン、チアミン、イノシトール、ビタミンB12のうちの1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、もしくは13種(およびその中で導出可能な任意の範囲)を含み、または培地は、それらの組み合わせもしくはそれらの塩を含む。いくつかの局面において、培地は、ビオチン、酢酸DLアルファトコフェロール、DLアルファ-トコフェロール、ビタミンA、塩化コリン、パントテン酸カルシウム、パントテン酸、葉酸ニコチンアミド、ピリドキシン、リボフラビン、チアミン、イノシトール、およびビタミンB12を含むまたはそれらから本質的になる。いくつかの局面において、ビタミンは、ビオチン、酢酸DLアルファトコフェロール、DLアルファ-トコフェロール、ビタミンA、またはそれらの組み合わせもしくは塩を含むまたはそれらから本質的になる。いくつかの局面において、培地はタンパク質をさらに含む。いくつかの局面において、タンパク質には、アルブミンもしくはウシ血清アルブミン、BSAの一画分、カタラーゼ、インスリン、トランスフェリン、スーパーオキシドジスムターゼ、またはそれらの組み合わせが含まれる。いくつかの局面において、培地は、コルチコステロン、D-ガラクトース、エタノールアミン、グルタチオン、L-カルニチン、リノール酸、リノレン酸、プロゲステロン、プトレシン、亜セレン酸ナトリウム、もしくはトリヨード-L-サイロニン、またはそれらの組み合わせのうちの1種または複数種をさらに含む。いくつかの局面において、培地は、B-27（登録商標）サプリメント、ゼノフリーB-27（登録商標）サプリメント、GS21（商標）サプリメント、またはそれらの組み合わせのうちの1種または複数種を含む。いくつかの局面において、培地は、アミノ酸、単糖、無機イオンを含む、またはさらに含む。いくつかの局面において、アミノ酸には、アルギニン、シスチン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、グルタミン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン、もしくはバリン、またはそれらの組み合わせが含まれる。いくつかの局面において、無機イオンには、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、窒素、もしくはリン、またはそれらの組み合わせもしくは塩が含まれる。いくつかの局面において、培地は、モリブデン、バナジウム、鉄、亜鉛、セレン、銅、もしくはマンガン、またはそれらの組み合わせのうちの1種または複数種をさらに含む。ある特定の局面において、培地は、本明細書において論じられる1種もしくは複数種のビタミン、および/または本明細書において論じられる1種もしくは複数種のタンパク質、および/または以下のもの：コルチコステロン、D-ガラクトース、エタノールアミン、グルタチオン、L-カルニチン、リノール酸、リノレン酸、プロゲステロン、プトレシン、亜セレン酸ナトリウム、もしくはトリヨード-L-サイロニン、B-27（登録商標）サプリメント、ゼノフリーB-27（登録商標）サプリメント、GS21（商標）サプリメント、アミノ酸(アルギニン、シスチン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、グルタミン、フェニルアラニン、スレオニン、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン、またはバリンなど)、単糖、無機イオン(ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、窒素、および/またはリンなど)もしくはそれらの塩、および/またはモリブデン、バナジウム、鉄、亜鉛

20

30

40

50

、セレン、銅、もしくはマンガンのうちの1種もしくは複数種を含むまたはそれらから本質的になる。特定の局面において、これらのうちの1種または複数種が明示的に除外される。

【0234】

培地は、1種または複数種の外部から添加された脂肪酸もしくは脂質、アミノ酸(非必須アミノ酸などの)、ビタミン、成長因子、サイトカイン、抗酸化物質、2-メルカプトエタノール、ピルビン酸、緩衝剤、および/または無機塩を含有することもできる。特定の局面において、これらのうちの1種または複数種が明示的に除外される。

【0235】

培地構成要素のうちの1種または複数種が、少なくとも0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、180、200、250 ng/L、ng/ml、μg/ml、mg/mlもしくはその中で導出可能な任意の範囲、多くとも0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、180、200、250 ng/L、ng/ml、μg/ml、mg/mlもしくはその中で導出可能な任意の範囲、または約0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、150、180、200、250 ng/L、ng/ml、μg/ml、mg/mlもしくはその中で導出可能な任意の範囲の濃度で添加される。

【0236】

特定の局面において、本開示の細胞は特に製剤化される。それらは、細胞懸濁液として製剤化されてもされなくてもよい。特定の場合には、それらは単一用量形態で製剤化される。それらは、全身投与または局所投与のために製剤化される。いくつかの場合において、細胞は使用前の貯蔵のために製剤化され、細胞製剤はDMSO(例えば、5% DMSO中)などの、1つまたは複数の凍結保存剤を含みうる。細胞製剤は、ヒトアルブミンを含めて、アルブミンを含んでもよく、特定の製剤は2.5%のヒトアルブミンを含む。細胞は、静脈内投与のために特に製剤化されてもよく;例えば、それらは1時間未満にわたる静脈内投与のために製剤化される。特定の局面において、細胞は、解凍時から1、2、3もしくは4時間またはそれ以上、室温で安定な製剤化された細胞懸濁液中である。

【0237】

特定の局面において、本開示の細胞は外因性TCRを含み、これは定義された抗原特異性のものでありうる。いくつかの局面において、TCRは、意図されたレシピエントに対する同種反応性の欠如または低減に基づいて選択することができる。外因性TCRが非同種反応性である例では、T細胞分化中に、外因性TCRは、対立遺伝子排除と呼ばれる発生プロセスを通じて内因性TCR遺伝子座の再編成および/または発現を抑制し、結果として非同種反応性の外因性TCRのみを発現し、したがって非同種反応性となるT細胞をもたらす。いくつかの局面において、外因性TCRの選択は、同種反応性の欠如に基づいて必ずしも規定されない場合がある。いくつかの局面において、内因性TCR遺伝子は、タンパク質を発現しないようにゲノム編集によって改変されている。CRISPR/Cas9システムを使用する方法などの遺伝子編集の方法は、当技術分野において公知であり、本明細書において記述される。

【0238】

いくつかの局面において、本開示の細胞は、1つまたは複数のキメラ抗原受容体(CAR)をさらに含む。CARが向けられうる腫瘍細胞抗原の例としては、例えば、少なくとも5T4、8H9、αvβ6インテグリン、BCMA、B7-H3、B7-H6、CAIX、CA9、CD19、CD20、CD22、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD70、CD123、CD138、CD171、CEA、CSPG4、EGFR、ErbB2(HER2)、EGFRvIIIを含むEGFRファミリー、EGP2、EGP40、ERBB3、ERBB4、ErbB3/4、EPCAM、EphA2、EphA2、葉酸受容体-a、FAP、FBP、胎児AChR、FRα、GD2、G250/CAIX、GD3、グリピカン-3(GPC3)、Her2、IL-13Rα2、ラムダ(Lambda)、ルイス(Lewis)-Y、

カップパ(Kappa)、KDR、MAGE、MCSP、メソテリン、Muc1、Muc16、NCAM、NK G2Dリガンド、NY-ESO-1、PRAME、PSC1、PSCA、PSMA、ROR1、SP17、サバイビン、TAG72、TEM、がん胎児性抗原、HMW-MAA、AFP、CA-125、ETA、チロシナーゼ、MAGE、ラミニン受容体、HPV E6、E7、BING-4、カルシウム活性化クロライドチャネル2、サイクリン-B1、9D7、EphA3、テロメラーゼ、SAP-1、BAGEファミリー、CAGEファミリー、GAGEファミリー、MAGEファミリー、SAGEファミリー、XAGEファミリー、NY-ESO-1/LAGE-1、PAME、SSX-2、メラニン-A/MART-1、GP100/pm17、TRP-1/-2、P.ポリペプチド、MC1R、前立腺特異抗原、 β -カテニン、BRCA1/2、CML66、フィブロネクチン、MART-2、TGF- β RII、またはVEGF受容体(例えば、VEGFR2)が挙げられる。CARは第1世代、第2世代、第3世代、またはそれ以上の世代のCARであってもよい。CARは、任意の2つの非同一抗原に対して二重特異的であってもよく、または3つ以上の非同一抗原に対して特異的であってもよい。

10

【0239】

XIV. 治療用組成物の投与

本明細書において提供される治療法は、第1の抗ウイルス治療法および第2の抗ウイルス治療法などの、治療剤の組み合わせの投与を含みうる。治療法は、当技術分野において公知の任意の適当な方法で投与されうる。例えば、第1および第2の抗ウイルス処置は、連続的に(異なる時間に)または同時に(同じ時間に)投与されうる。いくつかの局面において、第1および第2の抗ウイルス処置は、別々の組成物中で投与される。いくつかの局面において、第1および第2の抗ウイルス処置は、同じ組成物中である。

20

【0240】

本開示の局面は、治療用組成物を含む組成物および方法に関する。異なる治療法は、1つの組成物中、または2つの組成物、3つの組成物もしくは4つの組成物などの、2つ以上の組成物中で投与されうる。薬剤のさまざまな組み合わせが利用されうる。

【0241】

本開示の治療用組成物は、同じ投与経路によりまたは異なる投与経路により投与されうる。いくつかの局面において、ペプチド、ポリペプチド、操作されたTCR、操作されたT細胞、核酸、抗ウイルス治療、または薬学的組成物は、静脈内に、筋肉内に、皮下に、局所的に、経口的に、経皮的に、腹腔内に、眼窩内に、移植により、吸入により、髄腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与される。いくつかの局面において、抗生物質は、静脈内に、筋肉内に、皮下に、局所的に、経口的に、経皮的に、腹腔内に、眼窩内に、移植により、吸入により、髄腔内に、脳室内に、または鼻腔内に投与される。適切な投与量は、処置される疾患のタイプ、疾患の重症度および経過、個体の臨床状態、個体の病歴および処置に対する応答、ならびに主治医の裁量に基づいて決定されうる。

30

【0242】

処置はさまざまな「単位用量」を含みうる。単位用量は、治療用組成物の所定量を含むと定義される。投与される量、ならびに特定の経路および製剤化は、臨床分野における当業者の決定スキルの範囲内である。単位用量は、単回注射として投与される必要はないが、設定された期間にわたる持続注入を含みうる。いくつかの局面において、単位用量は、単一の投与可能な用量を含む。

40

【0243】

治療用組成物の的確な量も、実践者の判断に依存し、各個人に特有である。用量に影響を与える要因は、患者の身体的および臨床的状态、投与経路、意図した処置目標(症状の緩和 vs 治療)、ならびに対象が受けている可能性のある特定の治療用物質または他の治療法の効力、安定性および毒性を含む。

【0244】

XV. サンプル調製

ある特定の局面において、方法は対象からサンプルを得る段階を伴う。本明細書において提供される得る方法は、細針吸引、コア針生検、真空補助下生検、切開生検、切除生検、パンチ生検、薄片生検または皮膚生検などの生検の方法を含みうる。ある特定の局面に

50

において、サンプルは、前述の生検方法のいずれかによる卵巣または子宮内膜組織からの生検から得られる。サンプルは、血液、血清、血漿、汗、毛包、頬組織、涙、月経、糞便、または唾液を含むがこれらに限定されない任意の他の供給源から得られうる。本方法の特定の局面において、医師、看護師または医療技術者などの、いずれの医療専門家も、試験のために生物学的サンプルを得られうる。さらに、生物学的サンプルは、医療専門家の支援なしに得ることができる。

【0245】

サンプルは、組織、細胞、または細胞由来のもしくは対象の細胞由来の生物学的材料を含みうるが、これらに限定されることはない。生物学的サンプルは、細胞または組織の不均一または均一な集団でありうる。生物学的サンプルは、本明細書において記述される分析方法に適したサンプルを提供できる当技術分野で知られている任意の方法を用いて得られうる。サンプルは、皮膚もしくは子宮頸部の掻き取り、頬の拭き取り、唾液採取、尿採取、糞便採取、月経、涙、または精液の採取を含むが、これらに限定されない、非侵襲的方法によって得られうる。

【0246】

サンプルは、当技術分野において公知の方法によって得られうる。ある特定の局面において、サンプルは生検によって得られる。他の局面において、サンプルはスワビング、内視鏡検査、掻き取り、静脈切開術、または当技術分野において公知の任意の他の方法によって得られる。いくつかの場合において、サンプルは、本方法のキットの構成要素を用いて取得、貯蔵、または輸送されうる。いくつかの場合において、本明細書において記述される方法による診断のために、複数の血漿または血清サンプルなどの複数のサンプルを得てもよい。他の場合において、1つの組織型(例えば卵巣または関連組織)からの1つまたは複数のサンプルおよび別の検体(例えば血清)からの1つまたは複数のサンプルなどの、複数のサンプルが本方法による診断のために得られてもよい。サンプルは異なる時期に得られてもよく、異なる方法により貯蔵および/または分析される。例えば、サンプルは、日常の染色法または任意の他の細胞学的分析法によって得られ、分析されうる。

【0247】

いくつかの局面において、生物学的サンプルは、医師、看護師、または医療技術者、内分泌学者、細胞学者、静脈切開術の専門医、放射線科医もしくは呼吸器科医などの他の医療専門家によって得られうる。医療専門家は、サンプルに対して実施すべき適切な検査またはアッセイを指示しうる。ある特定の局面において、分子プロファイリング事業者が、どのアッセイまたは検査が最も適切に指示されるかについて助言しうる。本方法のさらなる局面において、患者または対象が、全血サンプル、尿サンプル、糞便サンプル、頬サンプル、または唾液サンプルを得るなどの、医療専門家の支援なしに検査のための生物学的サンプルを得てもよい。

【0248】

他の場合において、サンプルは、生検、針吸引、採血、内視鏡検査、または静脈切開術を含むがこれらに限定されない侵襲的手技によって得られる。針吸引の方法はさらに、細針吸引、コア針生検、真空補助下生検、またはラージコア生検を含みうる。いくつかの局面において、十分な量の生物学的材料を確保するために、本明細書の方法によって複数のサンプルが得られうる。

【0249】

生物学的サンプルを得るための一般的な方法も当技術分野において公知である。参照により全体が本明細書に組み入れられるRamzy, Ibrahim Clinical Cytopathology and Aspiration Biopsy 2001などの刊行物には、生検および細胞学的方法の一般的な方法が記述されている。

【0250】

本方法のいくつかの局面において、分子プロファイリング事業者は、対象から直接的に、医療専門家から、第三者から、または分子プロファイリング事業者もしくは第三者が提供するキットから、生物学的サンプルを得てもよい。いくつかの場合において、対象、医

10

20

30

40

50

療専門家、または第三者が生物学的サンプルを取得し、分子プロファイリング事業者に送付した後に、分子プロファイリング事業者によって生物学的サンプルが得られてもよい。いくつかの場合において、分子プロファイリング事業者は、分子プロファイリング事業者への生物学的サンプルの輸送および貯蔵のための適当な容器および賦形剤を提供しうる。

【0251】

本明細書において記述される方法のいくつかの局面において、医療専門家が最初の診断または検体採取に関与する必要はない。個人が代わりに、市販(OTC)キットの使用によりサンプルを得てもよい。OTCキットは、本明細書において記述されるようなサンプルを得るための手段、検査のためにサンプルを貯蔵するための手段、およびキットの適切な使用に関する説明書を含みうる。いくつかの場合において、分子プロファイリングサービスがキットの購入価格に含まれる。他の場合において、分子プロファイリングサービスは別途請求される。分子プロファイリング事業者による使用に適したサンプルは、検査される個体の組織、細胞、核酸、遺伝子、遺伝子断片、発現産物、遺伝子発現産物または遺伝子発現産物断片を含む任意の材料でありうる。サンプルの適合性および/または適切性を決定するための方法が提供される。

【0252】

いくつかの局面において、対象は腫瘍医、外科医、内分泌医などの専門医に紹介されてもよい。専門医は、同様に、検査のために生物学的サンプルを得ても、または生物学的サンプルの提出のために検査センターもしくは検査室に個人を紹介してもよい。いくつかの場合において、医療専門家が生物学的サンプルの提出のために対象を検査センターまたは検査室に紹介してもよい。他の場合において、対象がサンプルを提供してもよい。いくつかの場合において、分子プロファイリング事業者がサンプルを得てもよい。

【0253】

XVI. 検出およびワクチン接種キット

本開示のペプチドまたは抗体はキットに含まれてもよい。キット内のペプチドまたは抗体は、検出可能に標識され、または同じくキットに含まれる支持基材の表面に固定化されてもよい。ペプチドまたは抗体は、例えば、無菌、凍結乾燥またはその両方などの、適当な形態でキット内に提供されてもよい。

【0254】

本発明のキットに含まれる支持基材は、実施される方法に基づいて選択されてもよい。非限定的な例として、支持基材はマルチウェルプレートもしくはマイクロプレート、膜、フィルタ、紙、エマルジョン、ビーズ、マイクロビーズ、マイクロスフェア、ナノビーズ、ナノスフィア、ナノ粒子、エトソーム、リポソーム、ニオソーム、トランスフェロソーム、ディップスティック、カード、セルロイドストリップ、スライドガラス、マイクロスライド、バイオセンサー、側方流動装置、マイクロチップ、コーム、シリカ粒子、磁性粒子、または自己集合単分子層でありうる。

【0255】

実施される方法に適切であるように、キットは、対象への組成物の送達のための、または本発明の組成物をそれ以外の点で取り扱うための1つまたは複数の装置をさらに含んでもよい。非限定的な例として、キットは、注射器、点眼器、弾道粒子塗布器(例えば、米国特許第5,797,898号、同第5,770,219号および同第5,783,208号、ならびに米国特許出願第2005/0065463号に開示されている塗布器)、薬匙、マイクロスライドカバー、試験紙ホルダーまたはカバーなどである装置を含みうる。

【0256】

キットの構成要素を標識するための検出試薬は、本発明の方法を実施するためのキットに任意で含まれていてもよい。特定の局面において、標識または検出試薬は、当技術分野において一般的に使用される試薬を含む群から選択され、非限定的に、放射性元素、酵素、UV領域の光を吸収する分子、ならびにフルオレセイン、ローダミン、オーラミン、テキサスレッド、AMCAブルーおよびルシファーイエローなどのフルオロフォアを含む。他の局面において、1つまたは複数の容器手段ならびに放射性元素、酵素、UV領域の光

を吸収する分子およびフルオロフォアを含む群から選択される検出試薬で既に標識されたBSTタンパク質剤を含むキットが提供される。

【0257】

キットを構成する試薬および/または構成要素が凍結乾燥形態(凍結乾燥物)または乾燥粉末として提供される場合、凍結乾燥物または粉末は適当な溶媒の添加により再構成することができる。特定の局面において、溶媒は、無菌の、薬学的に許容される緩衝液および/または他の希釈剤でありうる。そのような溶媒は、キットの一部として提供されうることも想定される。

【0258】

キットの構成要素が1つおよび/または複数の液体溶液で提供される場合、液体溶液は、非限定的な例として、無菌の水溶液でありうる。組成物は投与組成物に製剤化されてもよい。この場合、容器手段はそれ自体、注射器、ピペット、局所塗布器などであってもよく、そこから製剤を身体の患部に適用する、対象に注射する、および/またはキットの他の構成要素に適用する、もしくはキットの他の構成要素と混合することができる。

【0259】

XVII. 配列

(表1)

ペプチド配列	SEQ ID NO:	SARS-CoV-2 遺伝子	HLA 型
VATSRTLSY	23	膜糖タンパク質	HLA-A0101
FVLAADVYRI	22	膜糖タンパク質	HLA-A0201
LSYFIASFR	24	膜糖タンパク質	HLA-A0301
LSYFIASFR	24	膜糖タンパク質	HLA-A1101
LWLLWPVTL	25	膜糖タンパク質	HLA-A2402
CVADYSVLY	26	スパイクタンパク質	HLA-A0101
SFIEDLLFNKV	27	スパイクタンパク質	HLA-A0201
LSSTASALGK	28	スパイクタンパク質	HLA-A0301
GTHWFVTQR	29	スパイクタンパク質	HLA-A1101
LFVTVYSHL	30	スパイクタンパク質	HLA-C0304
FQPTNGVGY	31	スパイクタンパク質	HLA-C0304
GVLTESNKK	32	スパイクタンパク質	HLA-A1101
VYSSANNCTF	33	スパイクタンパク質	HLA-A2402
IVDTVSAALVY	34	NSP13 ヘリカーゼ	HLA-A0101
TLVPQEHYV	35	NSP13 ヘリカーゼ	HLA-A0201
KLFAAETLK	36	NSP13 ヘリカーゼ	HLA-A0301
KLFAAETLK	36	NSP13 ヘリカーゼ	HLA-A1101
VYIGDPAQL	37	NSP13 ヘリカーゼ	HLA-A2402
VVYRGTTTY	38	NSP13 ヘリカーゼ	HLA-B1501

【実施例】

【0260】

XVIII. 実施例

以下の実施例は、本開示の好ましい局面を実証するために含めている。当業者には、以下の実施例に開示した手法が、本発明者が、本開示の実施において十分に機能を果たすと見出した手法であり、したがって、その実施のための好ましい形態を構成しているとみなされることが認識されよう。しかしながら、当業者は、本開示に鑑みると、開示している具体的な局面において、本開示の趣旨および範囲から逸脱することなく多くの変更が行なわれうるが、それでもなお同様または類似の結果が得られることが認識されるはずであ

る。

【0261】

実施例1: SARS-Cov-2膜糖タンパク質-65 (MGP-65)ペプチド、CTLおよびTCR

SEQ ID NO:22のHLA-A2拘束性SARS-Cov-2エピートープは、COVID-19感染症を有する患者の免疫応答を検出するために、または疾患を予防するための患者のワクチン接種に用いることができる。このペプチドは、COVID-19免疫のよりよい理解につながる研究を可能にし、COVID-19感染症を有する患者の管理に直接影響を与えるであろう。さらに、このペプチド、CTL、および対応するTCRを用いて、HLAに適合した標的に対して第三者(third-party)のSARS-Cov-2特異的T細胞を作製し、したがってCOVID-19疾患を有する患者に既製のT細胞療法を提供することができる。生命を脅かすウイルス性疾患の処置のために既製の同種異系T細胞療法をバンク化する能力は前例がなく、COVID-19特異的T細胞療法に容易に適用することができる。

10

【0262】

MGPを強制発現させたA375細胞株(HLA-A0201+)を、NP-40緩衝液を用いて溶解し、溶解物を抗MHCクラスI抗体(W6/32)とカップリングされたSephacose Fast Flowビーズとインキュベートした。未結合のタンパク質を洗浄した後、酢酸を用いてMHC結合ペプチドを溶出した。溶出したペプチド溶液を濃縮し、タンデム質量スペクトルを用いて分析した。MGP配列の1つのペプチドヒット(MGP-65, FVLAADVRI (SEQ ID NO:22))が見出された(図1)。

20

【0263】

MGP-65 (FVLAADVRI - SEQ ID NO:22)ペプチドを健常ドナーのHLA-A0201成熟樹状細胞(MDC)にパルスし、その後に48ウェルプレートにおいて自家細胞と共培養した。2ラウンドの刺激後、MGP-65四量体および抗CD8染色によるフローサイトメトリー検出のために各ウェルからT細胞の一部を回収した。刺激後に小さなCD8+/四量体+集団が観察された。四量体+/CD8+集団を示すウェル内のT細胞をプールし、四量体+/CD8+集団を選別し、急速拡大増殖プロトコル(REP)で拡大増殖させた。2週間のREP後、高純度CTL (90%超の四量体+集団)が検出された(図2)。

30

【0264】

さまざまな濃度のMGP-65ペプチドをパルスしたT2細胞を細胞溶解実験の標的として用いた。MGP-65特異的CTL細胞株の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は20:1であった(図3A)。A375 (HLA-A0201+)。eGFPまたはSARS-Cov-2 MGPの強制発現を有するMel624 (HLA-A0201+)細胞株を標的として用い、MGP-65特異的CTL細胞株と共培養した。使用したエフェクター対標的(E:T)比は40:1から1.25:1であった。異なる標的に対するMGP-65 CTL細胞株の溶解能をCr51放出アッセイ(CRA)で検出した(図3B~C)。MGP-65 CTL細胞株は、陰性対照よりも陽性標的に対して有意に高い殺傷レベルを示す(図3)。

40

【0265】

A375-MGPおよびMel624-MGPを「放射性」標的細胞として用い、Cr51で標識した。Cr51標識化のないMGP-65ペプチドをパルスしたT2細胞は「非放射性」標的に相当する。無関連ペプチドM26をパルスしたT2細胞を、対照の「非放射性」標的として用いた。使用したE:Tは20:1であった。使用した非放射性標的:放射性標的の比は10:1または20:1であった。MGP-65 CTLに対する非放射性標的の殺傷阻害をCRAで検出した。非放射性標的としてHormad1-56ペプチドをパルスしたT2を用いた場合、放射性標的のみの群と比較して、放射性標的に対するMGP-65 CTLの殺傷が有意に阻害された。M26陰性対照をパルスしたT2は、放射性標的に対するMGP-65 CTLの殺傷を阻害しなかった(図4)。

【0266】

MGP-65特異的CTL細胞株をT2+M26、T2+MGP-65、A375-eGFP、A375-MGP、Mel624-eGFPおよびMel624-MGPと共培養した(E:T=10:1)。終夜共培養の後、TCR経路の下流活性化マーカーCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α をICSアッセイで

50

検出した。MGP-65特異的CTL細胞株のCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α のレベルは、陰性対照の標的と比較して、陽性標的と共培養された場合に有意に増強された（図5）。

【0267】

α 鎖および β 鎖を含むT細胞受容体(TCR)を、5-RACE PCRプロトコルを用いてクローニングした。IMGTのウェブサイトツール(IMGT/V-QUEST)を用いて配列をアノテーションした(表1～3)。

【0268】

(表1)

結果のまとめ:	生産的なTRA再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAV17*01 F	スコア = 1330	同一性 = 100.00% (267/267 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAJ50*01 F	スコア = 273	同一性 = 95.00% (57/60 nt)
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.34.11]	[5.7.11]	CATAQTSYDKVIF

10

20

【0269】

(表2)

結果のまとめ:	生産的なTRA再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAV38-2/DV8*01 F	スコア= 1375	同一性 = 100.00% (276/276 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAJ40*01 F	スコア= 253	同一性 = 94.64% (53/56 nt)
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.34.11]	[7.8.11]	CAYRSGGTYKYIF

30

【0270】

(表3)

結果のまとめ:	生産的なTRB再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBV9*02 F	スコア = 1360	同一性 = 100.00% (273/273 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBJ2-1*01 F	スコア = 241	同一性 = 98.00% (49/50 nt)
IMGT/接合部分析によるD遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBD1*01 F	D領域は読み枠2にある	
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.37.10]	[5.6.13]	CASSVEGPTYNEQF F

40

50

【0271】

TCR α 鎖および β 鎖をクローニングし、レトロウイルスベクターに挿入した。組換えレトロウイルスベクターを用いてPBMCに感染させた。CD8 $^{+}$ /四量体 $^{+}$ 集団が感染後に検出された。四量体誘導による選別および拡大増殖の後、高純度のTCR-T集団が作製された(図6)。同様の方法を用いて、TCR-T細胞集団も、NSP13-134ペプチド(KLFAAETLK - SEQ ID NO:36) (図23)、NSP13-242ペプチド(TLVPEHYV - SEQ ID NO:35) (図26)、NSP13-400ペプチド(VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37) (図29)およびNSP13-448ペプチド(IVDTVSAALVY - SEQ ID NO:34) (図32)に対して作製された。

【0272】

標的細胞を溶解するSARS-CoV-2特異的TCR-Tの能力を、Cr51放出アッセイによって試験した。図7、24、27、30および33に示されるように、SARS-CoV-2 TCR-Tは、陰性対照と比べて有意に高い陽性標的の溶解を示す。NSP13-134特異的TCR-TをSK-MES-1+対照A0301ペプチド、SK-MES-1+NSP13-134、SK-MES-1-GFP、SK-MES-1-NSP13、Hs-578T-GFPおよびHs-578T-NSP13と共培養した(E:T=10:1) (図25)。NSP13-242特異的TCR-TをT2+M26、T2+NSP13-242、A375-GFP、A375-NSP13、RPMI-7951-GFPおよびRPMI-7951-NSP13と共培養した(E:T=10:1) (図28)。NSP13-400特異的CD8 $^{+}$ およびCD4 $^{+}$ TCR-TをM14+対照ペプチド、M14+NSP13-400、Hs-578T-GFP、Hs-578T-NSP13、M14-GFPおよびM14-NSP13と共培養した(E:T=10:1) (図31)。NSP13-448特異的TCR-TをA375+対照A0101ペプチド、A375+NSP13-448、A375-GFP、A375-NSP13、RPMI-7951-GFPおよびRPMI-7951-NSP13と共培養した(E:T=10:1) (図34)。終夜共培養の後、TCR経路の下流活性化マーカーCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α をICSアッセイで検出した。ペプチド特異的TCR-TのCD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α のレベルは、陰性対照の標的と比較して、陽性標的と共培養された場合に有意に増強された(図25、28、31および34)。

【0273】

結論として、本発明者らはSARS-CoV-2特異的CTL、クローン化TCRおよびTCR操作されたT細胞(TCR-T)を作製し、CTLおよびTCR T細胞を機能的に検証した。TCR-Tを用いた細胞療法は、重症のSARS-CoV-2感染患者の処置のための任意的な治療アプローチとして採用することができる。同定されたSARS-CoV-2ペプチドまたはコード配列を提示細胞に負荷し、T細胞と共培養して、抗原特異的CTL細胞株またはクローンを作製することができる。自家または同種CTL細胞株またはクローンは、SARS-CoV-2感染症を有するHLAが一致した患者に対する養子免疫療法に用いることができる。

【0274】

実施例2: COVID19疾患のT細胞に基づく治療法のための免疫原性SARS-CoV-2エピートープおよび同族TCRの質量分析による同定

A. 導入

COVID-19世界的流行の発生の原因となった高伝染性の呼吸器ウイルスである重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2 (SARS-CoV-2)は、世界の公衆衛生に重大で永続的な影響を与え続けており、正確な免疫診断法と効果的な処置戦略を開発する緊急の必要性を生じさせた(Hui et al., 2020; Wu et al., 2020b)。Zhang Yongzhen博士によって初めて明らかにされたSARS-CoV-2ゲノム配列が急速に広まったことで、体液性(抗体)および細胞性(T細胞)応答を引き起こしうる防御ワクチンを開発するための世界各国での大規模な努力につながった(Wu et al., 2020a)。ヒトの免疫系が認識するSARS-CoV-2の免疫原性エピートープを同定することは、合理的なワクチン開発にとって極めて重要であるということになる。

【0275】

インシリコ予測アルゴリズムを用いて、数名の研究者がSARS-CoV-2特異的T細胞応答を探索するためにクラスIおよびクラスII拘束性エピートープの広範なパネルを収集しており、場合によっては、これらをゲノムの保存領域にまたがる重複する「メガプール」と組み合わせている(Campbell et al., 2020; Grifoni et al., 2020a)。これらのペ

ブチドは、感染個体および回復期個体の応答を追跡するために(Kar et al., 2020; Peng et al., 2020)、マルチエピトープワクチンをデザインするために用いられており、COVID19疾患の広がりおよび重症度を測定するために直接的または間接的に用いられている(Braun et al., 2020; Grifoni et al., 2020b; Kar et al., 2020; Le Bert et al., 2020; Nolan et al., 2020; Snyder et al., 2020; Weiskopf et al., 2020)。これらの研究は、COVID19のT細胞免疫生物学に関する洞察を明らかにしたが、インシリコで予測された応答や重複する長いペプチド(OLP)プールを用いたT細胞応答の精度は、そのようなエピトープが免疫原性であるかどうかを考慮しなかったことにより低下している。この意味での免疫原性エピトープは、自己MHCによって提示されることが知られており、抗原を内因性に発現している標的細胞を認識し、ペプチド特異的T細胞媒介性認識に対して標的細胞を感作するのに十分な表面密度を有するMHC複合体との関連で抗原由来のペプチドを提示することができるような、十分な親和性のT細胞を誘発することができるペプチドとして定義される。本質的に、SARS-CoV-2の免疫原性エピトープは、MHCによって提示されるペプチドの直接配列決定と、T細胞免疫原性の経験的検証の両方を必要とする。

10

【0276】

本発明者らの知る限り、本研究は、SARS-CoV-2発現細胞のMHC複合体からのペプチド溶出に続くSARS-CoV-2のT細胞エピトープを同定するためのタンデムMSの最初の使用であり、SARS-CoV-2特異的CTLのインビトロでの作製による免疫原性を経験的に検証する最初の研究である。本発明者らのグループが開発した、末梢血中の非常に低い前駆体頻度の集団からの稀有な腫瘍反応性T細胞の単離を可能にする技術を適用した(Chapuis et al., 2017)。本発明者らは、膜糖タンパク質の高度に保存された領域およびSARS-CoV-2ゲノムの非構造タンパク質領域の5つの免疫原性エピトープの同定に関するデータを提示し、そのようなMGP65特異的およびNSP13特異的CTLがSARS-CoV-2抗原発現標的細胞を認識し殺傷することを実証する；本発明者らはさらに、TCR α 鎖および β 鎖を配列決定し、ポリクローナルリンパ球におけるこのTCRの発現を操作することによって特異性を移行させることができることを実証する。

20

【0277】

B. 結果

1. 「インシリコで」定義されたSARS-CoV-2ペプチドは、SARS-CoV-2抗原発現標的を認識するT細胞を誘発することができない

30

免疫原性についての既知の予測エピトープの最初のスクリーニングとして、本発明者らは、そのような「インシリコ」予測ペプチドが「免疫優性」として記述された研究の文献検索に基づいて、SARS-CoV-2スパイクタンパク質および膜糖タンパク質(MGP)に対するクラスI拘束性ペプチドを選択した。これらのペプチドは以前に、COVID19+患者のPBMCから高レベルのペプチド特異的応答を生み出す能力に基づいて「免疫優性」とであると報告されており、驚くべきことに、一部の健常ドナーでも同様に(明らかに、非病原性SARSウイルスに対して過去に誘発されたT細胞からの交差反応性応答の結果として)「免疫優性」とであると報告されている(Agerer et al., 2021; Ahmed et al., 2020; Gao et al., 2020; Grifoni et al., 2020a; Kar et al., 2020; Safavi et al., 2020; Shomuradova et al., 2020; Sohail et al., 2021; V. Gauttier, 2020; William Chour, 2020)。本発明者らは、これらのスパイクタンパク質ペプチド4個と膜糖タンパク質(MGP)ペプチド3個を合成した。内因性T細胞(ETC)作製ワークフロー(方法のセクションを参照のこと)を用いて、本発明者らは、全4個のスパイクペプチドおよび全3個のMGPペプチドに対する個々のT細胞培養物を作製した(図16)。しかしながら、これらの高度に濃縮された(80%超の四量体+)T細胞培養物を、関連するSARS-CoV-2スパイクタンパク質または膜糖タンパク質を発現するように操作されたHLA適合標的細胞に対して試験したところ、標的細胞殺傷の証拠は観察されなかった(図16)。本発明者らは、これらのインシリコで予測されたペプチドが内因性に提示されないものと、および内因性に提示された免疫原性エピトープを同定するさらに正確な手段が望ましく、SARS-C

40

50

oV-2発現細胞のMHCからペプチドを直接溶出し、配列決定することにより達成されうるものと仮定した。

【0278】

2. SARS-CoV-2のMHCクラス-I拘束性エピトープのプロファイリング

SARS-CoV-2の抗原発見プラットフォームは4つの段階から構成されている：(1) SARS-CoV-2標的のペプチド溶出および質量分析(MS)による同定；(2) ペプチド特異的CTLを誘発するための内因性T細胞(ETC)作製ワークフロー；(3) SARS-CoV2標的に対する抗原特異的CTLの経験的検証；ならびに(4) SARS-CoV-2特異的T細胞受容体(TCR)操作T細胞(TCR-T)の開発(図15)。SARS-CoV-2に由来するMHC結合ペプチドを溶出し配列決定するために、SARS-CoV-2遺伝子を、異なるHLA対立遺伝子発現を有する標的細胞において過剰発現させた。SARS-CoV-2領域の高度に保存された領域：膜グリコールタンパク質(MGP)または非構造タンパク質ヘリカーゼ(NSP13)にまたがるレンチウイルス発現ベクター(Keller et al., 2020; Le Bert et al., 2020)を構築し、A375 (HLA-A0101/0201)、Mel624 (HLA-A0201)、RPMI-7951 (HLA-A0101/0201)、Hs-578T (HLA-A0301/A2402)およびM14 (HLA-A1101/2402)に感染させるために用いた。MGPまたはNSP13安定発現細胞株のピューロマイシン選択および拡大増殖後、90%超の純度が達成された(データは示さず)。MGPまたはNSP13発現細胞株を3億～5億まで拡大増殖させ、収集し、NP40界面活性剤溶解緩衝液で溶解し、全HLAクラスI免疫沈降(抗HLA-A、B、C)および酸溶出に供し、その後にタンデム質量分析(MS)を行ってHLA結合ペプチドを分析した。

10

20

【0279】

本発明者らは、最初に、データ依存分析液体クロマトグラフィータンデム質量分析法(DDA MS/MS)を用いることにより、上記で確立したSARS-CoV-2標的に由来する溶出HLA結合ペプチドを分析した。溶出されたスペクトルは、Proteome Discoverer(バージョン2.3)処理ワークフロー内のMascot検索エンジンノード(バージョン2.6)を用い、Swiss-Protヒトプロテオームデータベース(バージョン2020_05)に続いてウイルスプロテオームデータベース(バージョン2020_05)で検索した。ヒトプロテオームからの偽陽性ヒットを減らすため、Proteome Discoverer処理ワークフロー内の「Spectrum Confidence Filter」ノードで、ヒトプロテオームからアノテーションされたペプチドとスペクトルの一致の確信度が高いスペクトルを全て除外した。残りのスペクトルをウイルスプロテオームに対してさらに検索した(図8A)。合計で、12,770 MS/MSが取得され、9731 Peptide-Spectrum-Match (PSM)がアノテーションされ、Mascot Ions Scoreが25以上の357ペプチドが得られた。357個のペプチドのうち、NSP13に由来するペプチド(NSP13-400, VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37)がMascot Ions Score=27でアノテーションされた(図8B)。このペプチドはM14-NSP13細胞(HLA-A1101/A2402)から溶出された。HLA結合アッセイ(IEDBツール)から、NSP13-400ペプチドはHLA-A2402対立遺伝子に対して高い予測結合親和性を記録し(表2)、NSP13-400ペプチドがHLA-A2402によって提示される可能性が高いことを示唆していた。

30

【0280】

SARS-CoV-2由来の潜在的なHLAクラスI拘束性ペプチドのさらに包括的なプロファイリングを可能にするために、本発明者らはさらに、DDAアプローチではうまく検出されなかったが、SARS-CoV-2に由来する予測された高確率のHLA結合ペプチドに焦点を当てるために、並行反応モニタリング質量分析法(PRM-MS)によって溶出ペプチドを分析した。PRM-MSに先立ち、MGPまたはNSP13から予測される高確率のHLA-A0101、HLA-0201またはHLA-A0301結合ペプチドをそれぞれ10個選択した(表S1)。A375-NSP13から溶出したペプチドについては、Skylineを用いて10個の潜在的なペプチドの前駆体イオン包含リストを作製し、本発明者らは、高い質量精度と分解能を有するナノフローLC-PRM-MSを用いて、これらの10個のペプチドを標的とし、モニタリングした。Pierce(商標) Peptide Retention Time Calibration Mixtureペプチドを用いて、保持時間のドリフトをモニタリングし、予定されたPRM法を調整した。本発明者らはまず

40

50

、合成ペプチドを用いてスペクトルライブラリを作製し、本発明者らは合成ペプチドとPierce(商標) Peptide Retention Time Calibration Mixtureペプチドの両方を用いて正規化された無次元ペプチド固有値iRTを定義し、各標的ペプチドの保持時間を正確に予測した。本発明者らは、IVDTVSAALVY (SEQ ID NO:34) (NSP13-448)を平均プロダクトイオンppm誤差-0.7 ppmで検出し(図8C)、TLVPQEHYV (SEQ ID NO:35) (NSP13-242)を平均プロダクトイオンppm誤差-0.7 ppmで検出した(図8D)。同じ規則を適用した。A375-MGPから、本発明者らはFVLAADVRI (SEQ ID NO:22) (MGP-65)を平均プロダクトイオンppm誤差-0.3 ppmで検出した(図8E)。これらのXIC MS1分析では、十分なクロマトグラフィー分離と狭いm/zウィンドウでの高分解能MS1検出が報告され、これらの標的ペプチドが溶出ペプチドサンプル中に存在することが示唆された。さらに、1つの潜在的ペプチドKLFAAETLK (SEQ ID NO:36) (NSP13-134)を、さらなる免疫原性機能アッセイのためにPRM-MSスクリーニング(図17)から選択した(MS/MSは示さず)。

10

【0281】

DDAまたはPRM-MSで同定されたこれら5つの候補SARS-CoV-2 HLA Class-I拘束性ペプチドが、SARS-CoV、中東呼吸器症候群コロナウイルス(MERS-CoV)、ならびに他の4つのコロナウイルス229E、NL63、OC43およびHKU1を含む他のコロナウイルスと相同であるかどうかを評価するために、多重配列アライメント(MSA)分析を実施した。NSP13-242 (図8G)、NSP13-134 (図8H)およびMGP-65 (図8J)は、SARS-CoVの配列と高度の相同性を示す。NSP13-400 (図8I)は、SARS-CoV、HCoV-OC43およびHCoV-HKU1の配列に対して高度の相同性を示す(赤色の下線)。NSP13-448 (図8F)は、SARS-CoV、HCoV-OC43の配列に対して高度の相同性を示す(赤色の下線)。これらの5つの候補が非コロナウイルス種と相同性があるかどうかを評価するために、BLAST検索を用いることによってペプチドを分析し、全ての潜在的なソースタンパク質を同定した。各標的配列の上位250ヒットは最大88.99%の同一性または100%の同一性を報告したが、関連コロナウイルスとの同一性が最大88.99%または100%の網羅率であったことから、これら5つの候補ペプチドはコロナウイルスのみと相同性を示し、他の種とは相同性を示さなかった(データは示さず)。

20

【0282】

3. 新たに定義されたエピトープは、SARS-CoV-2およびSARS-CoV2変種の高度に保存された領域に見出される

30

Olveraらは最近になり、SARS-CoV-2コンセンサス配列の重複を用いたCOVID19ワクチンの開発について記述した(Olvera et al., 2020)。この論文では、NCBIにおける1700超のウイルスゲノムエントリに対してエントロピーに基づく計算を利用し、最近記述されたフレームシフトや長さの変種ORFを含めて、記述されている全てのSARS-CoV-2読み取り枠(ORF)を網羅していた。Nextstrainプロジェクト(nextstrain.orgにてオンラインで見られる)は、オープンソースプロジェクトであり、疫学的理解を助け、アウトブレイク対応を改善するための強力な分析および可視化ツールとともに、公的に利用可能なデータの継続的に更新されるビューを提供し、SARS-CoV-2ゲノム全体の遺伝的多様性を分析する手段を提供する。これら両方の情報源を用いて、本発明者らは、これら5つのペプチドがSARS-CoV-2ゲノムの高度に保存された領域に位置することを検証した(図8K)。最近、SARS-CoV-2の遺伝的変種が世界的規模で出現しており、例えば、スパイクタンパク質上に位置する変異23403A>G-(D614G)は、SARS-CoV-2をより感染性に行っていると考えられている(Garcia-Beltran et al., 2021; Tzou et al., 2020)。最近報告された変種がこれら5つのSARS-CoV-2 HLAクラス-I拘束性エピトープ候補の中にあるかどうかを調べるために、本発明者らは、英国(B.1.1.7)、デンマーク(B.1.1.298)、米国(B.1.429)、ブラジルおよび日本(P.2およびP.1)、ならびに南アフリカ(B.1.351)で最初に記述された懸念される変種に注目した。NSP-13領域については、P.1変種に存在する2つの変異E341YおよびA368V、B.1.1.7変種に存在する1つの変異K460R、B.1.351変種に存在する1つの変異T588Iがあるが、これらの4つのNSP-

40

50

13 HLAクラス-I拘束性ペプチドと重なるものはない。膜グリコールタンパク質(MGP)領域からの変種株は報告されていない(図8L)。

【0283】

4. 末梢血から作製されたMGP-65ペプチド特異的細胞傷害性T細胞は、SARS-CoV-2-MGP発現標的細胞を認識する

白血球除去後、HLA-A0201健常ドナーPBMCをMGP-65ペプチド(FVLAADVYRI - SEQ ID NO:22)パルス自家DCで刺激した。2ラウンドの刺激後、MGP-65-A2四量体陽性染色集団が検出された(図9A)。1枚の48ウェルプレートからの約33ウェルは、明瞭なMGP-65ペプチド四量体陽性CD8⁺ T細胞集団を示し(図8)、SARS-CoV-2感染歴のない健常ドナーのPBMCにおいてさえ、MGP-65ペプチド特異的T細胞が同族ペプチド刺激によって容易に拡大増殖することを示唆していた。拡大増殖したMGP-65 CTLを、標準的な⁵¹Cr放出アッセイ(CRA)を用いて機能的に試験した。用量設定した量のMGP-65ペプチドをパルスしたT2細胞(HLA-A0201)は、10 pMという低いペプチド濃度でCTL認識および殺傷を誘発し(図9B)、MGP-65 CTLの同族ペプチドに対する認識親和性が非常に高いことを示唆していた。

10

【0284】

MGP-65特異的CTLが内因性に提示された同族ペプチドを認識したことを検証するために、HLA-A0201+標的細胞を、SARS-CoV-2 MGP遺伝子(A375-MGP, Mel624-MGP)を発現するように操作した。MGP-65特異的CTLは、A375-MGPおよびMel624-MGP細胞株を溶解することができたが、A375-GFPおよびMel624-GFP対照細胞株を溶解することができなかった(図9Cおよび9D)。MGP-65特異的CTLの標的認識が内因性に提示された同族ペプチドの関与によるものであったことをさらに確認するために、非放射性標的阻害アッセイを実施した。⁵¹CrパルスMGP発現細胞は⁵¹Crで放射線標識したが、MGP-65またはM26無関連ペプチドをパルスしたT2細胞は未標識のままとし、それぞれ非放射性標的または対照非放射性標的として用いた。非放射性標的対放射性標的の比(C:H)を20:1および10:1の両方で非放射性標的を加えた場合、放射線標識MGP-65ペプチド標的に対するMGP-65特異的CTLの細胞傷害性は有意に阻害された(図9Eおよび9F)。しかしながら、対照非放射性標的を加えた場合には阻害は見られなかったことから、MGP-65 CTLは内因性に提示された同族ペプチドの認識を介してMGP-65標的を溶解することができることが示された。このデータは、MGP-65ペプチドが天然の内因性に提示されるMHCペプチドであることのさらなる証拠となった。

20

30

【0285】

MGP-65特異的CTLの機能をさらに評価するため、細胞内染色(ICS)アッセイを実施してIFN- γ およびTNF- α 産生を検出した。MGP-65特異的CTLを、MGP-65ペプチドをパルスした標的細胞またはMGPで操作した標的細胞と共培養したところ、無関連ペプチドをパルスした対照標的または対照GFPを発現するように操作した対照標的と比較して、産生されたIFN- γ およびTNF- α による特異的な認識が実証された(図9G)。関連するSARS-CoV-2標的に遭遇すると、T細胞活性化マーカーCD137およびCD69の比例した増加も、対照群と比較して特異的かつ有意に上昇した(図9G)。

【0286】

40

5. 末梢血から作製されたNSP13-242ペプチド特異的細胞傷害性T細胞は、SARS-CoV-2-NSP13発現標的細胞を認識する

MGPおよびスパイクタンパク質などの構造タンパク質とは対照的に、SARS-CoV-2の非構造タンパク質はビリオン表面に発現していないため、体液性応答や中和抗体を誘導する可能性が低い。しかしながら、SARS-CoV-2感染細胞の非構造タンパク質は、MHC結合ペプチドとして提示され、長期間持続しうる細胞性免疫応答を誘導することができる。ここで、同じワークフローを用いて、NSP13ヘリカーゼに由来するHLA-A0201拘束性ペプチドNSP13-242 (TLVPQEHYV - SEQ ID NO:35)がMS/MSによって同定された。MGP-65と同様に、NSP13-242特異的T細胞は、ETCワークフローを用いて容易に作製された(図10A)。驚くべきことに、NSP13-242ペプチドでの刺激後、1枚の48ウ

50

エルプレートからの48ウェル全てが、明確なNSP13-242ペプチド四量体陽性CD8+ T細胞集団を示し(図19)、NSP13-242ペプチドが高度に免疫原性である可能性を示唆していた。

【0287】

細胞傷害性アッセイでも、NSP13-242特異的CTLが100 pMもの低さの同族ペプチドを認識できることを実証し(図10B)、これは高親和性TCRの発現を示していた。さらに重要なことに、NSP13-242特異的CTLは、非常に低いE:T比(2.5:1)であっても、NSP13発現標的A375-NSP13およびMel624-NSP13を溶解することができたが、対照標的は溶解しなかった(図10Cおよび10D)ことから、NSP13-242特異的CTLは、NSP13タンパク質の内因性提示ペプチドを認識できることが示された。MGP-65 CTLと同様に、非放射性標的阻害アッセイでも、非放射性標的を加えると、放射性標的A375-NSP13およびMel624-NSP13に対するNSP13-242特異的CTLの溶解能が有意に阻害されることが示され(図10Eおよび10F)、NSP13-242特異的CTLが内因性に提示された同族ペプチドの認識を介して標的を溶解することがさらに確認された。

10

【0288】

ICSアッセイにより、NSP13-242特異的CTLは対照標的と比較して、NSP13-242ペプチドパルス標的またはNSP13発現標的と共培養した場合、高レベルの炎症性サイトカインIFN- γ およびTNF- α を産生し、高レベルの抗原駆動型活性化マーカーCD137およびCD69を発現することが実証された(図10G)。したがって、MGP-65特異的CTLと同様に、NSP13-242特異的CTLもSARS-CoV-2に遭遇すると特異的細胞性免疫応答を開始する。

20

【0289】

6. 末梢血から作製されたNSP13-448ペプチド特異的細胞傷害性T細胞は、SARS-CoV-2-NSP13発現標的細胞を認識する

HLA-A0201対立遺伝子は、白人およびアジア人の約45%において発現している(Kessler et al., 2003)。COVID19の世界的な広がりを考慮すると、SARS-CoV-2の他の高度に蔓延しているHLA-A対立遺伝子の特異的にT細胞標的とすることが望ましいと考えられる。MGP65およびNSP13-242ペプチドについて同じワークフローを用いて、本発明者らはMS/MSによってHLA-A0101拘束性ペプチド、NSP13-448 (IVDTVSALVY-SEQ ID NO:34)由来のNSP13タンパク質を同定した; この対立遺伝子は白人の約26%およびアジア人の約7%を網羅している(Kessler et al., 2003)。NSP13-242と同様に、NSP13-448特異的T細胞は、ETCワークフローを用いて容易に作製された(図11A)。しかしながら、NSP13-448ペプチドによる刺激後、1枚の48ウェルプレートからの1つのウェルだけが明確なNSP13-448ペプチド四量体陽性CD8+ T細胞集団を示した(図20)ことから、NSP13-448ペプチドは高度に免疫原性ではない可能性があることが示唆された。

30

【0290】

細胞傷害性アッセイでも、NSP13-448特異的CTLが100 nMもの低さの同族ペプチドを認識できることを実証し(図11B)、中程度から低度のTCR親和性を示していた。興味深いことに、NSP13-448特異的CTLは、非常に低いE:T比(2.5:1)であっても、NSP13発現標的A375-NSP13およびRPMI-7951-NSP13を溶解することができたが、対照標的は溶解しなかった(図11Cおよび11D)ことから、NSP13-448特異的CTLがNSP13タンパク質の内因性提示ペプチドを認識できることを示していた。非放射性標的阻害アッセイでも、非放射性標的を加えると、放射性標的A375-NSP13およびRPMI-7951-NSP13に対するNSP13-448特異的CTLの溶解能が有意に阻害されることが実証され(図11Eおよび11F)、NSP13-448特異的CTLが内因性に提示された同族ペプチドの認識を介してこれらの標的を溶解することがさらに確認された。

40

【0291】

ICSアッセイにより、NSP13-448特異的CTLは対照標的と比較して、NSP13-448ペプチドパルス標的またはNSP13発現標的と共培養した場合、高レベルの炎症性サイトカ

50

インIFN- γ およびTNF- α を産生し、高レベルの抗原駆動型活性化マーカーCD137およびCD69を発現することが実証された(図12G)。

【0292】

7. 末梢血から作製されたNSP13-134ペプチド特異的細胞傷害性T細胞は、SARS-CoV-2-NSP13発現標的細胞を認識する

HLA-A0101およびHLA-A0201対立遺伝子に加えて、HLA-A0301対立遺伝子は、白人の約22%およびアフリカ人の約13%を網羅している(Kessler et al., 2003)。同じワークフローを用いて、本発明者らはHLA-A0301拘束性ペプチド、NSP13-134 (KLFAAETLK - SEQ ID NO:36)由来NSP13タンパク質を同定した。ETCワークフローを用いたインビトロでの刺激後、48ウェル中11ウェルで明らかなNSP13-134ペプチド四量体陽性CD8⁺ T細胞集団が示され(図21)、NSP13-134ペプチドは、以前にSARS-CoV-2感染のない健常ドナーにおいてT細胞応答を誘導するのに十分な免疫原性があることが示唆された。選別および拡大増殖後、高純度のCD8⁺および四量体+ NSP13-134 CTLが作製された(図12A)。ペプチド用量設定アッセイにより、NSP13-134特異的CTLが100 pMもの低さの同族ペプチドを認識できることが示され(図12B)、相対的に高い親和性のTCRの発現が示唆された。MGP-65およびNSP13-242特異的CTLと同様に、NSP13-134特異的CTLは、低いE:T比(2.5:1)であっても、NSP13発現標的Hs-578T-NSP13を溶解することができたが、対照標的は溶解しなかった(図12C)。MGP-65およびNSP13-242 CTLと同様に、非放射性標的阻害アッセイにより、内因性に提示された同族ペプチドの特異的認識が確認された(図12D)。ICSアッセイでも、NS13発現標的の特異的認識が確認された(図12E)。

10

20

【0293】

8. 健常ドナーの末梢血からのNSP13-400ペプチド特異的細胞傷害性T細胞の拡大増殖および機能アッセイ

HLA-A0101、HLA-A0201およびHLA-A0301に加えて、HLA-A2402対立遺伝子はさらに40%のアジア人および20%の白人を網羅している(Kessler et al., 2003)。同じワークフローを用いて、本発明者らはNSP13のHLA-A2402拘束性ペプチドNSP13-400 (VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37)を同定した。48ウェル中9ウェルを用いたインビトロでの刺激後、明らかなNSP13-400ペプチド四量体陽性CD8⁺ T細胞集団が示された(図22)。選別および拡大増殖後、高純度のCD8⁺および四量体+ NSP13-400 CTLが作製された(図13A)。MGP-65 CTLと同様に、NSP13-400特異的CTLはペプチド用量設定アッセイにおいて、10 pMもの低さの濃度で、同族ペプチドに対する非常に高い認識親和性を示し(図13B)、ペプチド用量設定アッセイにしたがって、1.25:1もの低さのE:T比であっても、NSP13発現標的Hs-578T-NSP13およびM14-NSP13の非常に高い特異的溶解を示した(図13Cおよび13D)。同様に、非放射性標的阻害アッセイでは、放射性標的Hs-578T-NSP13およびM14-NSP13に対するNSP13-400 CTLの特異的レベルが示され、これは非放射性標的の添加により有意に阻害された(図13Eおよび13F)ことから、NSP13-400特異的CTLが内因性に提示された同族ペプチドの認識を介してSARS-CoV-2標的を溶解することがさらに確認された。

30

【0294】

ICSアッセイでも、NS13発現標的の特異的認識が確認された(図13G)。IFN- γ およびTNF- α レベルは、他のSARS-CoV-2 CTL標的アッセイと比較して著しく上昇し、高密度の内因性提示を示唆した。

40

【0295】

要約すると、本発明者らのMHC IP溶出およびMS同定ワークフローを用いて、本発明者らは、白人およびアジア人集団のおよそ80%を網羅するいくつかのHLA対立遺伝子(HLA-A0101、HLA-A0201、HLA-A0301およびHLA-A2402)によって提示されるSARS-CoV-2の構造タンパク質MGPおよび非構造タンパク質NSP13由来の5つのHLAクラス-I拘束性ペプチドを発見した。5つのペプチドは全て免疫原性が高く、健常なCOVID19陰性ドナーの間でT細胞応答を容易に誘発することができた。5つのSARS-CoV-2特異

50

的CTLは全て、内因性に提示された同族ペプチドを認識し、SARS-CoV-2 + 標的を特異的に溶解する。

【0296】

9. MGP-65特異的T細胞受容体操作T細胞(TCR-T)は、SARS-CoV-2 MGP-65発現標的細胞を認識する

これらの発見がCOVID19患者の「既製の」SARS-CoV-2特異的T細胞療法の開発につながる可能性があるという原理の証拠として、本発明者らは、MGP-65特異的T細胞からTCR α 鎖および β 鎖を配列決定しクローニングし、末梢血リンパ球(PBL)に特異性および機能に移入することが可能かどうかを決定した。配列アノテーションにより、TRAV17*01F/TRAJ50*01Fサブタイプに属する α 鎖(TCR- α)およびTRBV9*02F/TRBJ2-1*01F/TRBD1*01Fに属する β 鎖(TCR- β)が明らかにされた(表3)。切断ペプチド・フーリンおよびP2Aと連結されたTCR α 鎖および β 鎖の全長を含むレトロウイルスベクターpMSGV1を構築し、別のHLA-A0201健常ドナーのOKT3活性化同種PBLに感染させるために用いた。感染5日後、約37%のCD8+四量体+ T細胞集団が観察され(図14A)、同種PBLにおける外因性TCR対合が成功したことを示していた。選別および拡大増殖後、高純度のMGP-65特異的TCR-T細胞が作製された(図14A)。

【0297】

MGP-65特異的TCR-Tの機能および特異性を評価するために、細胞傷害性⁵¹Cr遊離アッセイ(CRA)および細胞内染色(ICS)アッセイを実施し、親MGP-65特異的CTL株と比較した。MGP-65 TCR-Tは、10 pMもの低さのペプチド濃度で用量設定したペプチドパルス標的を認識することができ(図14B)、このTCR-Tも同族ペプチドの高い親和性認識を呈することが示された。さらに、MGP-65 TCR-Tは、MGP発現標的A375-MGPおよびM624-MGPを特異的に溶解し(図14Cおよび14D)、親CTLと比較して、MGP-65特異的TCR-Tが、MGP発現標的またはMGP-65ペプチドパルス標的と共培養された場合、さらに高いレベルのIFN- γ およびTNF- α 、ならびに活性化マーカーCD137およびCD69を産生したことを実証しているICSアッセイと関連する(図14E)。

【0298】

C. 考察

現在までに、SARS-CoV2の予測クラスIエピトープ約1,500個がインシリコ予測法によって同定されており、場合によっては、COVID19を有する患者のPBMCを用いてT細胞応答を誘発することによって「検証」されている(Campbell et al., 2020; Grifoni et al., 2020a)。これらのペプチドは、COVID19およびCOVID19ワクチンに対する患者の、時には健常ドナーの、T細胞応答を評価するために広く使用されており、T細胞に基づく治療法を開発するためにますます使用されている。しかしながら、実証されていないことは、これらの1,500個の予測ペプチドのいずれかが、実際にSARS-CoV2+細胞によりプロセッシングされ提示され、T細胞により認識される天然エピトープに当たるかどうかである。広く引用されている報告の中で「免疫優性」と考えられている予測SARS-CoV2エピトープの予備的スクリーニングは、この前提を支持するように思われる：本発明者らは、これら8つの予測ペプチドのうち7つが、SARS-CoV2+標的の認識につながるT細胞応答を誘発できないことを見出し、これらのペプチドに対する応答が人工的なものであるか、せいぜい交差反応性である可能性を示唆した(図15) (Agerer et al., 2021; Ahmed et al., 2020; Gao et al., 2020; Grifoni et al., 2020a; Kar et al., 2020; Safavi et al., 2020; Shomuradova et al., 2020; Sohail et al., 2021; V. Gauttier, 2020; William Chour, 2020)。現在までに、SARS-CoV2エピトープの免疫原性についての経験的な検証はない。

【0299】

本発明者らは、SARS-CoV-2の免疫原性エピトープが、MHCから溶出されたペプチドを直接分析し、次いでそのようなペプチドがSARS-CoV-2抗原発現標的を認識するT細胞を誘発できるかどうかを決定することにより免疫原性を検証することによって経験的に最もよく定義されると仮定している。質量分析(MS)は、天然に発現される抗原エピトー

10

20

30

40

50

ブを正確に同定するための理想的な分析アプローチであり、研究者が、感染細胞による抗原性タンパク質の差次的な発現およびプロセッシングに関連する複雑性に取り組むことを可能にする。SARS-CoV2遺伝子を発現するように操作された細胞からのMHC-抗原ペプチド複合体の免疫親和性捕捉に基づき、このアプローチは、SARS-CoV2免疫ペプチドームの直接的なプロファイリングおよび同定を可能にした。これらの候補エピトープに対するT細胞応答を誘発することにより、本発明者らはSARS-CoV2+細胞の経験的認識とこれらのペプチドの内因性提示を確認した。

【0300】

本研究において、本発明者らは、一般集団の75%超の間で流行しているクラスI対立遺伝子(HLA-A*0101、A*0201、A*0301、HLA-A*2402)によって提示される、構造遺伝子(MGP)および非構造遺伝子(NSP13)によって発現される5つのクラスI拘束性SARS-CoV2エピトープを同定し検証した。これらの対立遺伝子をコードする組換えベクターを用いて、本発明者らはSARS-CoV2膜糖タンパク質(MGP)と非構造タンパク質-13(NSP13)遺伝子の高度に保存された領域の発現を操作し、MHCを回収し、ペプチドを溶出し、データ依存分析液体クロマトグラフィータンデム質量分析法(DDA MS/MS)を適用し12,000超のスペクトルを得て、次にこれらをデコンボリューションし、少数の候補ペプチドエピトープに対してフィルタリングした。5つのペプチドの免疫原性を、SARS-CoV2を発現する標的細胞を認識かつ殺傷することが可能な、1つの例では、操作されたTCRを有する末梢血リンパ球の特異性をSARS-CoV2 MGPに向け直すことが可能なペプチド特異的T細胞を誘発する能力に基づいて検証した。

【0301】

意味のある抗ウイルスT細胞応答を誘発することの重要性は十分に立証されており；SARSおよびMERS応答性T細胞は防御的役割を有することが分かった(Poland et al., 2020)。SARS-CoV-2特異的T細胞応答の出現は、持続的なウイルスクリアランスと関連していることが最近示され、SARS-CoV-2に対する細胞性免疫を促進するワクチン開発の重要性が強調されている(Gallais et al., 2021; Long et al., 2020; Sekine et al., 2020)。

【0302】

最近、SARS-CoV2の変異体エスケープ変種の出現が、主に血清学的応答を誘発する現在のワクチンによる免疫後のウイルス防御の侵害の可能性に対する世界的な懸念につながっている(Abdool Karim and de Oliveira, 2021; Agerer et al., 2021; Darby and Hiscox, 2021; Kuzmina et al., 2021; Plante et al., 2021)。非表面、非構造タンパク質、この場合はウイルスヘリカーゼをコードするnsp13を標的とすることにより、エスケープ変種が発生する可能性は低い；実際に、既知の変種のいずれも、本明細書で同定されたエピトープ配列間に変異を担持していない。さらに、提示された戦略により、ほぼすべてのSARS-CoV2遺伝子にわたるエピトープの同定が可能になる；ウイルスに不可欠な遺伝子標的の選択は、抗原欠損変種のセレクションを軽減するための合理的なT細胞に基づくアプローチとなり、長期的なウイルス免疫防御の可能性が得られる。

【0303】

COVID19の感染および制御、その自然史、ワクチン有効性ならびに治療介入の状況を定義する上で等しく重要なのは、SARS-CoV2特異的免疫応答の正確な測定である。クラスIIおよびクラスI拘束性応答を評価するために現在使用されている予測ペプチドのプールは広範囲に使用されており、全体的な免疫応答の尺度を提供しているように見えるが、SARS-CoV2特異的免疫は、ペプチドの大部分が免疫原性でない可能性がある場合には定義が不十分である；高度に定義されたペプチドのサブセットの使用により、COVID19感染に対するT細胞免疫応答のより正確な表現が提供されうる。本発明者らの現在の5つのペプチドのパネルは広範なものではないが、いくつかの非常に流行している対立遺伝子型によって提示される、SARS-CoV2ゲノムの高度に保存された領域に当たり、クラスIIおよびクラスI拘束性エピトープにも容易に適用されうる。より広範な18エピトープのパネルが調製されており、臨床相関研究のために評価される予定である。

【0304】

最後に、このように(タンデム質量分析とそれに続く経験的なインビトロ検証により)定義されたエピトープの免疫原性のさらなる証拠として、本発明者らはMGP65特異的T細胞のα鎖およびβ鎖をコードするベクターを用いて、機能的なSARS-CoV2特異的TCRを再構成した。この戦略はさらに、養子TCR-Tに基づく治療法のための既製の試薬を提供し、ウイルスゲノムの高度に保存された領域にまたがるMS/MSで定義されたSARS-CoV2エピトープのマトリックスを認識する、かつCOVID19感染患者の細胞に基づく治療法のための高有病率HLA対立遺伝子の広範なパネルとなるTCR-Tベクターのコレクションを想定することができる。

【0305】

D. 表

(表2) 同定されたSARS-CoV-2エピトープの概要

溶出ペプチド	SEQ ID NO	タンパク質 ID	MS法	HLA 対立遺伝子	結合予測 (nM)	コンセンサス 領域
VYIGDPAQL	37	NSP13-400	DDA	A2402	325.8	該当
KLFAAETLK	36	NSP13-134	PRM	A0301	9.9	該当
TLVPQEHYV	35	NSP13-242	PRM	A0201	72.2	該当
IVDTVSAIVY	34	NSP13-448	PRM	A0101	356.9	該当
FVLAAYRI	22	MGP-65	PRM	A0201	38.1	該当

【0306】

(表3) α鎖およびβ鎖の概要

α鎖			
結果のまとめ:	生産的なTRA再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAV17*01 F	スコア = 1330	同一性 = 100.00% (267/267 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAJ50*01 F	スコア = 273	同一性 = 95.00% (57/60 nt)
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.34.11]	[5.7.11]	CATAQTSYDKVIF (SEQ ID NO:82)
β鎖			
結果のまとめ:	生産的なTRB再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBV9*02 F	スコア = 1360	同一性 = 100.00% (273/273 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBJ2-1*01 F	スコア = 241	同一性 = 98.00% (49/50 nt)
IMGT/接合部分析による D遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBD1*01 F		
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.37.10]	[5.6.13]	CASSVEGPTYNEQFF (SEQ ID NO:83)

【0307】

(表S1) PRM-MS分析用のMGPまたはNSP13の高HLA結合ペプチドの予測

10

20

30

40

50

MGP予測HLA-A0201ペプチド		NSP13予測HLA-A0101ペプチド		NSP13予測HLA-A0201ペプチド		NSP13予測HLA-A0301ペプチド	
ペプチド	結合親和性 (nM)	ペプチド	結合親和性 (nM)	ペプチド	結合親和性 (nM)	ペプチド	結合親和性 (nM)
GLMWLSYFI (SEQ ID NO:43)	4.5	VTDTVTLQYL (SEQ ID NO:44)	128.9	KLVLNVNYPY V (SEQ ID NO:45)	12.3	VVYRGTTT YK (SEQ ID NO:46)	8.2
FLYIIKLIFL (SEQ ID NO:47)	5	TVDSQSGSE Y (SEQ ID NO:48)	167.7	KLSYGIATV (SEQ ID NO:49)	20.3	KLFAAETLK (SEQ ID NO:36)	9.9
LIFLWLLWP V (SEQ ID NO:50)	5.6	FAIGLALYY (SEQ ID NO:51)	285.4	KLVNGDYF V (SEQ ID NO:52)	22.1	MSYYCKSH K (SEQ ID NO:53)	24.6
VATSRITLSY (SEQ ID NO:23)	9.8	DSSQSGSEYD Y (SEQ ID NO:54)	301.7	SMATNYDLS V (SEQ ID NO:55)	55.6	QLYLGGMMS YY (SEQ ID NO:56)	37
TLACFVLAA V (SEQ ID NO:57)	12.9	ATEETFKLS Y (SEQ ID NO:58)	348	TLEQYVFCT V (SEQ ID NO:59)	61.5	SVVNARLR AK (SEQ ID NO:60)	48.3
KLLEQWNL V (SEQ ID NO:61)	15.8	IVDTVLSALV Y (SEQ ID NO:34)	356.9	TLVPQEHYV (SEQ ID NO:35)	72.8	SAQCFKMF YK (SEQ ID NO:62)	73
FLWLLWPVT L (SEQ ID NO:63)	20.9	KSAQCFKMF Y (SEQ ID NO:64)	555.3	TLVPQEHYV RI (SEQ ID NO:65)	78	YLGGMMSYY CK (SEQ ID NO:66)	81.9
LLWPVTLAC FV (SEQ ID NO:67)	34.8	HFAIGLALY Y (SEQ ID NO:68)	577.5	YVFCTVNAL (SEQ ID NO:69)	93	RFNVAITRA K (SEQ ID NO:70)	83.8
FVLAAYYRI (SEQ ID NO:22)	38.1	TCDWTNAG DY (SEQ ID NO:71)	588.2	GLALYYPSA (SEQ ID NO:72)	104.1	YVFTGYRVT K (SEQ ID NO:73)	98.6
LMWLSYFIA (SEQ ID NO:74)	43.1	CTERLKLFA (SEQ ID NO:75)	630.1	FKVNSTLEQ YV (SEQ ID NO:76)	108.7	CIRRPFLCC K (SEQ ID NO:77)	102.8

【0308】

E. STAR法

血液ドナーおよび細胞株：HLA-A0101、HLA-A0201、HLA-A0301またはHLA-A2402対立遺伝子を発現する健常ドナー末梢血単核細胞(PBMC)サンプルを、応答性T細胞および自家抗原提示細胞の供給源としてHemaCare (CA, USA)から購入した。TAP欠損T-B細胞ハイブリッド細胞株T2、黒色腫細胞株A375 (HLA-A0101/0201)、RPMI-7951 (HLA-A0101/0201)およびPhoenix-GPはATCC (VA, USA)から購入した。黒色腫細胞株Hs-578T (HLA-A0301/2402)およびM14 (HLA-A1101/2402)をNCIから購入した。黒色腫細胞株Mel624 (HLA-A0201)はSteven Rosenberg博士(NCI)からの寄贈であった。リンパ芽球様細胞株(LCL)は、本発明者らの研究室で樹立されたEBV形質転換リンパ芽球様細胞株である。がん細胞株は、Hepes (25 mM)、L-グルタミン(4 mM)、ペニシリン(50 U/ml)、ストレプトマイシン(50 mg/ml)、ピルビン酸ナトリウム(10 mM)、非必須アミノ酸(1 mM)および10%ウシ胎児血清(FBS) (Sigma, MO, USA)を有するRPMI-1640培地中で維持した。Phoenix-GPは、Hepes (25 mM)、L-グルタミン(4 mM)および10% FBSを有するDMEM培地中で培養した。

【0309】

レンチウイルス形質導入：SARS-CoV-2由来ORF1bの膜糖タンパク質(MGP)および非構造タンパク質13 (NSP13)のcDNAをGenscript (NJ, USA)から購入し、GFPを融合したレンチウイルスベクター-pLVX (TAKARA, CA, USA)にクローニングした。このベクターでは、発現遺伝子はヒトEF1プロモーターによって駆動された。MGP-pLVXまた

はNSP13-pLVXレンチウイルスベクターを、VSVGエンベロープベクターを含むパッケージベクターとともに、パッケージ細胞株293Tにトランスフェクトして、レンチウイルスを作製した。A375、Mel624、RPMI-7951、Hs-578TおよびM14細胞株にMGP-pLVXまたはNSP13-pLVXレンチウイルスベクターを感染させ、安定な細胞株をピューロマイシン選択でスクリーニングした。MGPまたはNSP13遺伝子の発現効率は、フローサイトメトリー(NovoCyte Flow Cytometer Systems, Agilent, CA, USA)を用いてGFPの割合を分析することにより検出した。

【0310】

HLAクラス-I結合ペプチド同定: 免疫沈降(IP)およびタンデム質量分析(MS)法によるHLAクラス-I結合ペプチドの単離および同定は、先行研究(Bradley et al., 2020)から参照される。簡単に述べると、SARS-CoV-2 MGPまたはNSP13遺伝子を発現するように操作された約3億から5億個の細胞を、プロテアーゼ阻害剤カクテル(Roche, CA, USA)を補充した冷NP40溶解緩衝液中でホモジナイズした。溶解物を、その後の遠心分離およびろ過の段階によって除去した。除去された溶解物のHLAクラスI分子を、抗HLA-A、B、Cモノクローナル抗体(W6/32)結合セファロース-4B樹脂(GE Healthcare, IL, USA)とともに室温で2時間インキュベートした。未結合のタンパク質をPBSによって洗浄した。結合したペプチドを有するHLA分子を次に、0.1 N酢酸でアフィニティークラムから溶出させた。剥離したペプチドを、3 kDaカットオフ遠心ウルトラフィルタ(Millipore, MO, USA)を用いてHLA分子から分離し、次いで真空遠心分離を用いて濃縮した。

【0311】

質量分析による取得の前に、ペプチドを水中0.1%のギ酸で再構成した。New Objective PicoFritナノスプレイカラム(360 μm OD $\times$ 75 μm ID)にDr. Maisch 3 μm ReproSil-Pur C18ビーズを30 cmまで充填した。同じC18ビーズを用いて、一端にKasilを取り付けた360 μm $\times$ OD 150 μm ID溶融シリカキャピラリーを使用して25 mmトラップカラムを充填した。Thermo Scientific EASY-nLC 1200を用いてペプチドを分離した。溶媒Aは水中0.1%のギ酸であり、溶媒Bは80%アセトニトリル中0.1%のギ酸であった。注入ごとに、10~15 μL を負荷し、250~300 nL/分で5~40%溶媒Bの25~60分の勾配を用いて溶出した。Thermo Scientific Q-Exactive HFまたはOrbitrap Exploris 480タンデム質量分析計を使い、データ依存取得(DDA)または並行反応モニタリング(PRM)を用いて質量スペクトルを取得した。

【0312】

Q-Exactive HFでのDDA取得: 前駆体スペクトル(400~1600 m/z)を60,000の分解能で収集し、自動利得制御(AGC)標的を3e6、最大注入時間を100 msに設定した。断片スペクトルを15,000の分解能で収集し、AGC標的を1e5、最大注入時間を25 msに設定した。分離幅を1.6 m/zに設定した。正規化衝突エネルギーを27に設定した。断片化のために上位20の最も強い前駆体イオンを選択した。AGC閾値5e3で+2から+4の間の前駆体電荷のみを含むように電荷排除を有効にした。全ての同位体クラスタを排除するために、動的排除を10秒に設定した。

【0313】

PRM取得Orbitrap Exploris 480: 前駆体スペクトル(400~1600 m/z)は、標準AGC標的セットと自動最大注入時間を用いて30,000の分解能で収集した。RFレンズは50%に、サイクル時間は3秒に設定した。断片スペクトルのスキャン範囲は500~1600に設定し、AGC標的を標準および自動注入時間に設定し、15,000の分解能で収集した。分離幅を2 m/zに設定し、スケジュールなし時間モードで行った。正規化衝突エネルギーを30%に設定した。関心対象のプロトン化前駆体ペプチドイオンのm/z値を含む包含リストはSkyline-daily (バージョン20.2.1.135)で作製された。

【0314】

ペプチド選択および検証: 取得したMS/MSスペクトルを分析するために、Proteome Discoverer 2.3内のMascot検索エンジンノード(バージョン2.6)を用いることにより

Swiss-Protタンパク質データベース(バージョン2020_05)に対してスペクトルを検索した。検索は前駆体ペプチド質量許容値15 ppmおよび断片イオン質量許容値15 ppmで、酵素指定なしに2回の切断ミスを許容するモノアイソトピックな親イオンおよび断片イオンの質量を用いて実施した。分類法は、ヒト(Homo sapiens) (20,386 配列)およびウイルス(17,008 配列)に限定された。偽発見率(FDR)はProteome Discoverer (バージョン2.3)内の「Target Decoy PSM Validator」ノードを用いて決定し、1%以下のFDRを有するタンパク質/ペプチドをさらなる分析のために保持した。これらの推定ペプチドへの予測結合は、IEDB T Cell Epitope Prediction Tools (<http://tools.iedb.org/main/tcell/>)によって決定し、フィルタリングした。

【0315】

SARS-CoV-2特異的T細胞の作製: 抗原特異的T細胞刺激の生成は、本発明者らの内因性T細胞(ETC)作製ワークフローによって実施した(Chapuis et al., 2016)。簡単に述べると、接着PBMCをGM-CSF (800 U/mL)およびIL-4 (500 U/mL)で6日間処理して未成熟DC (iDC)を作製し、iDCを次に、TNF- α (10 ng/mL)、IL-1 β (2 ng/mL)、IL-6 (1000 U/mL)、PGE-2 (1000 ng/mL)を含有するサイトカインカクテルでさらに2日間成熟させた。候補SARS-CoV-2ペプチドをPBS/HSA中、MGP-65 (FVLAAYRI - SEQ ID NO:22, HLA-A0201)、NSP13-448 (IVDTVSALVY - SEQ ID NO:34, HLA-A0101)、NSP13-242 (TLVPQEHYV - SEQ ID NO:35, HLA-A0201)、NSP13-134 (KLFAAETLK - SEQ ID NO:36, HLA-A0301)、NSP13-400 (VYIGDPAQL - SEQ ID NO:37, HLA-A2402) (全てGenscript, NJ, USAから購入)についてHLA適合成熟DCにパルスした。ペプチドパルスしたDCを次に、Hepes (25 mM)、L-グルタミン(4 mM)、ペニシリン(50 U/ml)、ストレプトマイシン(50 mg/ml)、ピルビン酸ナトリウム(10 mM)および10%ヒトAB血清を有するRPMI-1640中で自家PBMCと共培養した。培養7日後、T細胞培養物を前のようにペプチドパルスDCで再刺激した。2日目にIL-2 (10 U/mL)およびIL-7 (5 ng/mL)を加えた。

【0316】

選別および拡大増殖: 2回の刺激サイクルの後、各ウェルのアリコートをし、HLA適合したSARS-CoV2ペプチドで折り畳まれたカスタムPE結合MHC四量体、およびAPC-Cy7結合抗CD8抗体(Biolegend, CA, USA)で染色した。細胞を洗浄し、フローサイトメトリ(NovoCyte Flow Cytometer Systems, Agilent, CA, USA)によって分析した。四量体陽性染色ウェルをプールし、フローサイトメトリ選別(ARIA II選別機, BD, CA, USA)を用いてCD8/四量体二重陽性集団を選別し、その後、既述のように(Chapuis et al., 2012)、Hepes (25 mM)、L-グルタミン(4 mM)、ペニシリン(50 U/ml)、ストレプトマイシン(50 mg/ml)、ピルビン酸ナトリウム(10 mM)、10%ウシ胎児血清(FBS)、放射線照射PBMCおよびLCLフィーダー細胞を有するRPMI-1640を含んだ滅菌25 mLフラスコ中で迅速拡大増殖プロトコル(REP)を用いて拡大増殖させた。拡大増殖後、抗原特異的T細胞の純度を抗CD8抗体およびMGP-65、NSP13-448、NSP13-242、NSP13-134、またはNSP13-400四量体染色で再度決定した。

【0317】

SARS-CoV-2特異的T細胞の機能分析: 拡大増殖後の精製SARS-CoV-2特異的T細胞の細胞傷害性は、標準的なクロム(^{51}Cr)放出アッセイ(CRA)を用いて確認された。SARS-CoV-2 CTLの同族ペプチド認識を試験するために、ペプチド用量設定実験を実施した。MGP-65またはNSP13-242 CTLを評価する場合には用量設定濃度のMGP-65またはNSP13-242ペプチドパルスT2細胞(HLA-A2+)を、NSP13-448 CTLの場合にはNSP13-448ペプチドパルスA375細胞(HLA-A1+)を、NSP13-134 CTLの場合にはNSP13-134ペプチドパルスHs-578T細胞(HLA-A3+)を、およびNSP13-400 CTLの場合にはNSP13-400パルスM14細胞(HLA-A24+)を用いた。標的細胞を腫瘍細胞培養培地1 mL中100 μCi ^{51}Cr (Perkin Elmer, CA, USA)で1時間標識した後、洗浄し、1ウェル当たり2,000個の標的細胞にて三つ組でプレーティングした。MGP-65、NSP13-448、NSP13-242、NSP13-134またはNSP13-400特異的T細胞を、エフェクター対標的

(E:T) 20:1の細胞比で4時間添加した。ウェルから上清を回収し、ガンマ線計数管で ^{51}Cr を測定した。特異的標的細胞溶解の割合を、バックグラウンド ^{51}Cr 放出を補正し、NP40で溶解された標的細胞によって測定した場合の最大 ^{51}Cr 放出と比べて計算した(Pollack et al., 2014)。

【0318】

MGPまたはNSP13遺伝子を発現するように操作した腫瘍細胞株を、内因性に提示されたエピトープのSARS-CoV-2特異的T細胞認識を評価するための標的として用いた。MGP-65特異的T細胞活性を評価するためには、A375-MGP、Mel624-MGP (HLA-A0201+, MGP+)、A375-GFP、Mel624-GFP (HLA-A0201+, GFP+)を、NSP13-448特異的T細胞活性の場合には、A375-NSP13、RPMI-7951-NSP13 (HLA-A0101+, MGP+)、A375-GFP、RPMI-7951-GFP (HLA-A0101+, GFP+)を、NSP13-242特異的T細胞活性の場合には、A375-NSP13、Mel624-NSP13 (HLA-A0201+, NSP13+)、A375-GFP、Mel624-GFPを、NSP13-134特異的T細胞活性の場合には、Hs-578T-NSP13 (HLA-A0301+, HLA-A2402+, NSP13+)、Hs-578T-GFP (HLA-A0301+, HLA-A2402+, GFP+)を、ならびにNSP13-400特異的T細胞活性の場合には、M14-NSP13 (HLA-A2402+, NSP13+)、Hs-578T-NSP13、M14-GFP (HLA-A2402+, GFP+)、Hs-578T-GFPを用いた。 ^{51}Cr 標識標的細胞を、さまざまなエフェクター対標的(E:T)細胞比でSARS-CoV-2特異的T細胞と共培養した。インキュベーション時間の後、抗原特異的標的細胞溶解を上記のように決定した。

【0319】

非放射性標的阻害アッセイ：関連する腫瘍標的に対するエピトープおよび抗原特異性を確認するために、非放射性標的阻害アッセイを既述(Park et al., 2017)のように実施した。MGP-65特異的T細胞試験の場合、 ^{51}Cr で標識したA375-MGP細胞およびMel624-MGP細胞を「放射性」標的として用いた。MGP-65ペプチド(10 $\mu\text{g/ml}$)をパルスした非放射線標識T2細胞を非放射性標的として用いた。M26対照ペプチド(ELAGIGILT V - SEQ ID NO:39, HLA-A0201)をパルスした非放射線標識T2細胞を対照非放射性標的として用いた。MGP-65特異的T細胞を放射性標的と共培養する前に、非放射性標的(放射線標識した放射性標的よりも10倍または20倍大きい数の)を添加し、所定の抗原特異的T細胞とともに1時間インキュベートした。 ^{51}Cr 標識放射性標的をE:T比(20:1)で添加し、さらに4時間インキュベートした。インキュベーション時間の後、MGP-65特異的T細胞による標的細胞溶解を上記のように決定した。同様に、NSP13-448特異的T細胞の場合、 ^{51}Cr で標識したA375-NSP13細胞およびRPMI-7951-NSP13細胞を放射性標的として用いた。NSP13-448ペプチドまたはVGLL1 HLA-A0101ペプチド(LSELETPGKY - SEQ ID NO:40) (Bradley et al., 2020)をパルスした非放射線標識A375細胞を、それぞれ非放射性標的および対照非放射性標的として用いた。NSP13-242特異的T細胞の場合、 ^{51}Cr で標識したA375-NSP13細胞およびMel624-NSP13細胞を放射性標的として用いた。NSP13-242ペプチドまたはM26ペプチドをパルスした非放射線標識T2細胞を、それぞれ非放射性標的および対照非放射性標的として用いた。NSP13-134特異的T細胞の場合、 ^{51}Cr で標識したHs-578T-NSP13細胞を放射性標的として用いた。NSP13-134ペプチドまたはA3対照ペプチド(KVFPCALINK - SEQ ID NO:41, HLA-A0301)をパルスした非放射線標識Hs-578T細胞を非放射性標的または対照非放射性標的として用いた。NSP13-400特異的T細胞試験の場合、 ^{51}Cr で標識したHs-578T-NSP13およびM14-NSP13細胞を放射性標的として用いた。NSP13-400ペプチドまたはMAGEA4 HLA-A2402ペプチド(NYKRCFPVI - SEQ ID NO:42)をパルスした非放射線標識M14細胞を非放射性標的または対照非放射性標的として用いた。

【0320】

細胞内染色(ICS)アッセイ：100万個のSARS-CoV-2特異的T細胞(MGP-65、NSP13-448、NSP13-242、NSP13-134、NSP13-400)を、 1×10^5 個の関連標的細胞(10:1のE:T比)と、ブレフェルジンA (BFA) (Biolegend, CA, USA)存在下、終夜共培養し、翌日、APC-Cy7結合抗CD8抗体(Biolegend, CA, USA)で染色した。洗浄後、細胞

をIntracellular Fixation & Permeabilization Buffer Set (eBioscience™, NY, USA)で固定および透過処理し、次にAPC結合抗CD137抗体、FITC結合抗CD69抗体、PE結合抗IFN- γ 抗体、Pacific blue結合抗TNF- α 抗体(全てBiolegend, CA, USAから購入)で染色した。洗浄後、フローサイトメトリーアッセイ(LSRFortessa X-20 Analyzer, BD, CA, USA)を用いて、CD137、CD69、IFN- γ およびTNF- α の発現レベルを決定した。

【0321】

MGP-65特異的T細胞のT細胞受容体(TCR)遺伝子のクローニングおよび配列決定: TCRの α 鎖および β 鎖は既述(Scotto-Lavino et al., 2006)のように、若干の変更を加え、cDNA 5'末端迅速増幅(5' RACE-PCR)プロトコル(TAKARA, CA, USA)を用いて機能的なMGP-65特異的T細胞からクローニングされた。簡単に述べると、RNeasy Kit (QIAGEN, MD, USA)を用いてMGP-65特異的T細胞から全RNAを抽出し、全cDNAの5'末端にユニバーサル配列をもたらすSMARTer RACE 5'/3' Kit (TAKARA, CA, USA)を用いて第一鎖cDNAを作製した。このcDNAを鋳型として用い、5'末端センスユニバーサルプライマーと3'末端アンチセンス特異的プライマーをTCR α 鎖または β 鎖の定常ドメインにアニールさせて、TCR α 鎖および β 鎖を増幅した。 α 鎖の場合、3'末端アンチセンス特異的プライマーTRAC: 5' -GATTACGCCAAGCTTTGTTGCTCTTGAAGTCCATAGACCTCATGTCTAGCAC-3'

(SEQ ID NO:84)

を用いた。 β 鎖の場合、3'末端アンチセンス特異的プライマーTRBC: 5' -GATTACGCCAAGCTTTTCTGATGGCTCAAACACAGCGACCTCG-3' (SEQ ID NO:85)

を用いた。太字のイタリック体配列は、In-Fusion (Sigma (MO, USA))に用いた重複配列である。PCR産物を、PureLink(商標) Quick Gel Extraction Kit (Life Technologies Corporation, NY, USA)を用いて精製し、In-Fusionクローンプロトコル(TAKARA, CA, USA)を用いてpRACEベクターにクローニングした。TCR α 鎖または β 鎖遺伝子を含むベクターを次に、サンガー(Sanger)配列決定法を用いて配列決定した。TCR α 鎖および β 鎖のレパートリーを、IMGT/V-QUEST検索ツール(ワールド・ワイド・ウェブimgt.org/IMGT vquestで見出すことができる)によって分析した。

【0322】

MGP-65 TCRレトロウイルスベクターの構築およびレトロウイルスの作製: MGP-65特異的T細胞に由来するTCR α 鎖および β 鎖の全長cDNAを、フーリン-SGSG-P2A自己切断リンカーペプチドでアセンブルして、両鎖の均等な発現を可能にした(Wargo et al., 2009)。外因性TCR α 鎖と β 鎖との間のペアリングを改善し、内因性ヒト α 鎖と β 鎖とのミスペアリングを低減するために、以前の報告(Kuball et al., 2007)にしたがってTCR α 鎖と β 鎖の両方の定常ドメインにCys変異を導入した。さらに、外因性TCRの発現レベルを増強するために、コドン最適化を実施し、GenScript (NJ, USA)によって最適化されたTCR配列を合成した。TCR断片全体を、遺伝子発現を駆動するためにMSCV末端反復配列(LTR)を利用するレトロウイルスベクターpMSGV1にクローニングした。

【0323】

組換えレトロウイルスを既述されたプロトコル(Wargo et al., 2009)にしたがって作製した。簡単に述べると、MGP-65特異的CTLに由来する全長TCRを含むレトロウイルスベクター10 μ gおよびエンベロープベクターRD114 5 μ gを、Opti-MEM培地(Life Technologies Corporation, NY, USA)中でリポフェクトアミン(Lipofectamine) 3000試薬(Life Technologies Corporation, NY, USA)を用いてパッケージ細胞株Phoenix-GPに同時トランスフェクトした。インキュベーション後、レトロウイルス上清を収集し、遠心分離で清澄化した後に、外来性TCRを発現させるために同種PBM Cの形質導入に用いたか、または-80℃で貯蔵した。

【0324】

MGP-65特異的TCR操作されたT細胞(TCR-T)の作製: TCR-Tの作製は、既述されたスピノキュレーションプロトコルを用いて実施された(Hughes et al., 2005)。HLA-A0201発現健常ドナーPBMC (1×10^6 /ml)を、5%ヒトAB血清を補充したAIM-V培地(Life Technologies Corporation, NY, USA)中で、50 ng/ml OKT3, 300 U/ml IL-2により2~3日間活性化した。レトロウイルス上清4~6 mlをRetroNectinコーティング(20 μ g/ml) (TAKARA, CA, USA)非組織培養処理6ウェルプレートに負荷し、2000 g、32℃で2時間遠心分離を実施した。レトロウイルス上清をウェルから吸引し、5%ヒトAB血清および300 U/ml IL-2を補充したAIM-V培地中の活性化PBMC 2×10^6 個をウェルに添加し、引き続き1000 gで10分間の遠心分離を行った。TCR遺伝子を形質導入したPBMCをさらに3~5日間培養し、抗CD8および四量体染色によりTCR発現を決定した。CD8+, 四量体+細胞を選別し、上記の拡大増殖プロトコルを用いて拡大増殖させ、高純度のMGP-65特異的TCR-Tを作製した。MGP-65特異的TCR-Tの機能分析は、上記のようにCRAおよびICSアッセイによって行った。

10

【0325】

統計分析: データ分析はGraphPad Prismバージョン7.03を用いて実施した。正規分布データはパラメトリック検定(ANOVAまたは対応のないt検定)を用いて分析した。

【0326】

本明細書において開示および主張される方法は全て、本発明を考慮すれば過度の実験なく作製および実施することができる。本発明の組成物および方法を好ましい態様または局面に関して記述してきたが、本発明の概念、趣旨、および範囲から逸脱することなく、本明細書において記述される方法および本明細書において記述される方法の段階または段階の順序に変更を加えることができることは当業者に明らかである。さらに具体的には、本明細書において記述される薬剤の代わりに、化学的および生理学的に関連している、ある特定の薬剤を用いることができ、それと同時に、同一の結果または類似の結果が得られることが明らかである。当業者に明らかな、このような類似の代用および変更は全て、添付の特許請求の範囲により定義される本発明の趣旨、範囲、および概念の範囲内だと考えられる。

20

【0327】

参考文献

以下の参考文献および本明細書全体で参照される刊行物は、例示的な手順の詳細または本明細書に記載されるものを補足する他の詳細を提供する程度まで、参照により本明細書に具体的に組み入れられる。

30

40

50

Abdool Karim, S.S., and de Oliveira, T. (2021). New SARS-CoV-2 Variants - Clinical, Public Health, and Vaccine Implications. *N Engl J Med*. 10.1056/NEJMc2100362.

Agerer, B., Koblishke, M., Gudipati, V., Montano-Gutierrez, L.F., Smyth, M., Popa, A., Genger, J.W., Endler, L., Florian, D.M., Muhlgrabner, V., et al. (2021). SARS-CoV-2 mutations in MHC-I-restricted epitopes evade CD8(+) T cell responses. *Sci Immunol* 6. 10.1126/sciimmunol.abg6461.

Ahmed, S.F., Quadeer, A.A., and McKay, M.R. (2020). Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses* 12. 10.3390/v12030254.

10

Bradley, S.D., Talukder, A.H., Lai, I., Davis, R., Alvarez, H., Tiriach, H., Zhang, M., Chiu, Y., Melendez, B., Jackson, K.R., et al. (2020). Vestigial-like 1 is a shared targetable cancer-placenta antigen expressed by pancreatic and basal-like breast cancers. *Nat Commun* 11, 5332. 10.1038/s41467-020-19141-w.

Braun, J., Loyal, L., Frentsch, M., Wendisch, D., Georg, P., Kurth, F., Hippenstiel, S., Dingeldey, M., Kruse, B., Fauchere, F., et al. (2020). SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. *Nature* 587, 270-274.

20

Campbell, K.M., Steiner, G., Wells, D.K., Ribas, A., and Kalbasi, A. (2020). Prediction of SARS-CoV-2 epitopes across 9360 HLA class I alleles. *bioRxiv*. 10.1101/2020.03.30.016931.

Chapuis, A.G., Desmarais, C., Emerson, R., Schmitt, T.M., Shibuya, K., Lai, I., Wagener, F., Chou, J., Roberts, I.M., Coffey, D.G., et al. (2017). Tracking the Fate and Origin of Clinically Relevant Adoptively Transferred CD8(+) T Cells In Vivo. *Sci Immunol* 2. 10.1126/sciimmunol.aal2568.

30

Chapuis, A.G., Roberts, I.M., Thompson, J.A., Margolin, K.A., Bhatia, S., Lee, S.M., Sloan, H.L., Lai, I.P., Farrar, E.A., Wagener, F., et al. (2016). T-Cell Therapy Using Interleukin-21-Primed Cytotoxic T-Cell Lymphocytes Combined With Cytotoxic T-Cell Lymphocyte Antigen-4 Blockade Results in Long-Term Cell Persistence and Durable Tumor Regression. *J Clin Oncol* 34, 3787-3795.

Chapuis, A.G., Thompson, J.A., Margolin, K.A., Rodmyre, R., Lai, I.P., Dowdy, K., Farrar, E.A., Bhatia, S., Sabath, D.E., Cao, J., et al. (2012). Transferred melanoma-specific CD8+ T

40

cells persist, mediate tumor regression, and acquire central memory phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 4592-4597.

Darby, A.C., and Hiscox, J.A. (2021). Covid-19: variants and vaccination. *BMJ* 372, n771.

Gallais, F., Velay, A., Nazon, C., Wendling, M.J., Partisani, M., Sibilia, J., Candon, S., and Fafi-Kremer, S. (2021). Intrafamilial Exposure to SARS-CoV-2 Associated with Cellular Immune Response without Seroconversion, France. *Emerg Infect Dis* 27. 10.3201/eid2701.203611.

Gao, A., Chen, Z., Segal, F.P., Carrington, M., Streeck, H., Chakraborty, A.K., and Julg, B. (2020). Predicting the Immunogenicity of T cell epitopes: From HIV to SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 10.1101/2020.05.14.095885.

10

Garcia-Beltran, W.F., Lam, E.C., St Denis, K., Nitido, A.D., Garcia, Z.H., Hauser, B.M., Feldman, J., Pavlovic, M.N., Gregory, D.J., Poznansky, M.C., et al. (2021). Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell*. 10.1016/j.cell.2021.03.013.

Grifoni, A., Sidney, J., Zhang, Y., Scheuermann, R.H., Peters, B., and Sette, A. (2020a). A Sequence Homology and Bioinformatic Approach Can Predict Candidate Targets for Immune Responses to SARS-CoV-2. *Cell Host Microbe* 27, 671-680 e672.

20

Grifoni, A., Weiskopf, D., Ramirez, S.I., Mateus, J., Dan, J.M., Moderbacher, C.R., Rawlings, S.A., Sutherland, A., Premkumar, L., Jadi, R.S., et al. (2020b). Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell* 181, 1489-1501 e1415.

Hughes, M.S., Yu, Y.Y., Dudley, M.E., Zheng, Z., Robbins, P.F., Li, Y., Wunderlich, J., Hawley, R.G., Moayeri, M., Rosenberg, S.A., and Morgan, R.A. (2005). Transfer of a TCR gene derived from a patient with a marked antitumor response conveys highly active T-cell effector functions. *Hum Gene Ther* 16, 457-472.

30

Hui, D.S., E, I.A., Madani, T.A., Ntoumi, F., Kock, R., Dar, O., Ippolito, G., McHugh, T.D., Memish, Z.A., Drosten, C., et al. (2020). The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health - The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis* 91, 264-266.

Kar, T., Narsaria, U., Basak, S., Deb, D., Castiglione, F., Mueller, D.M., and Srivastava, A.P. (2020). A candidate multi-epitope vaccine against SARS-CoV-2. *Sci Rep* 10, 10895. 10.1038/s41598-020-67749-1.

Keller, M.D., Harris, K.M., Jensen-Wachspress, M.A., Kankate, V.V., Lang, H., Lazarski, C.A., Durkee-Shock, J., Lee, P.H., Chaudhry, K., Webber, K., et al. (2020). SARS-CoV-2-

40

specific T cells are rapidly expanded for therapeutic use and target conserved regions of the membrane protein. *Blood* 136, 2905-2917.

Kessler, J.H., Mommaas, B., Mutis, T., Huijbers, I., Vissers, D., Benckhuijsen, W.E., Schreuder, G.M., Offringa, R., Goulmy, E., Melief, C.J., et al. (2003). Competition-based cellular peptide binding assays for 13 prevalent HLA class I alleles using fluorescein-labeled synthetic peptides. *Hum Immunol* 64, 245-255.

Kuball, J., Dossett, M.L., Wolfl, M., Ho, W.Y., Voss, R.H., Fowler, C., and Greenberg, P.D. (2007). Facilitating matched pairing and expression of TCR chains introduced into human T cells. *Blood* 109, 2331-2338.

10

Kuzmina, A., Khalaila, Y., Voloshin, O., Keren-Naus, A., Boehm-Cohen, L., Raviv, Y., Shemer-Avni, Y., Rosenberg, E., and Taube, R. (2021). SARS-CoV-2 spike variants exhibit differential infectivity and neutralization resistance to convalescent or post-vaccination sera. *Cell Host Microbe*. 10.1016/j.chom.2021.03.008.

Le Bert, N., Tan, A.T., Kunasegaran, K., Tham, C.Y.L., Hafezi, M., Chia, A., Chng, M.H.Y., Lin, M., Tan, N., Linster, M., et al. (2020). SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature* 584, 457-462.

20

Long, Q.X., Tang, X.J., Shi, Q.L., Li, Q., Deng, H.J., Yuan, J., Hu, J.L., Xu, W., Zhang, Y., Lv, F.J., et al. (2020). Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med* 26, 1200-1204.

Nolan, S., Vignali, M., Klinger, M., Dines, J.N., Kaplan, I.M., Svejnoha, E., Craft, T., Boland, K., Pesesky, M., Gittelman, R.M., et al. (2020). A large-scale database of T-cell receptor beta (TCRbeta) sequences and binding associations from natural and synthetic exposure to SARS-CoV-2. *Res Sq*. 10.21203/rs.3.rs-51964/v1.

Olvera, A., Noguera-Julian, M., Kilpelainen, A., Romero-Martin, L., Prado, J.G., and Brander, C. (2020). SARS-CoV-2 Consensus-Sequence and Matching Overlapping Peptides Design for COVID19 Immune Studies and Vaccine Development. *Vaccines (Basel)* 8. 10.3390/vaccines8030444.

30

Park, J., Talukder, A.H., Lim, S.A., Kim, K., Pan, K., Melendez, B., Bradley, S.D., Jackson, K.R., Khalili, J.S., Wang, J., et al. (2017). SLC45A2: A Melanoma Antigen with High Tumor Selectivity and Reduced Potential for Autoimmune Toxicity. *Cancer immunology research* 5, 618-629.

Peng, Y., Mentzer, A.J., Liu, G., Yao, X., Yin, Z., Dong, D., Dejnirattisai, W., Rostron, T., Supasa, P., Liu, C., et al. (2020). Broad and strong memory CD4(+) and CD8(+) T cells induced

40

by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol* 21, 1336-1345.

Plante, J.A., Mitchell, B.M., Plante, K.S., Debbink, K., Weaver, S.C., and Menachery, V.D. (2021). The variant gambit: COVID-19's next move. *Cell Host Microbe*. 10.1016/j.chom.2021.02.020.

Poland, G.A., Ovsyannikova, I.G., and Kennedy, R.B. (2020). SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *Lancet* 396, 1595-1606.

Pollack, S.M., Jones, R.L., Farrar, E.A., Lai, I.P., Lee, S.M., Cao, J., Pillarisetty, V.G., Hoch, B.L., Gullett, A., Bleakley, M., et al. (2014). Tetramer guided, cell sorter assisted production of clinical grade autologous NY-ESO-1 specific CD8(+) T cells. *J Immunother Cancer* 2, 36. 10.1186/s40425-014-0036-y.

Safavi, A., Kefayat, A., Mahdevar, E., Abiri, A., and Ghahremani, F. (2020). Exploring the out of sight antigens of SARS-CoV-2 to design a candidate multi-epitope vaccine by utilizing immunoinformatics approaches. *Vaccine* 38, 7612-7628.

Scotto-Lavino, E., Du, G., and Frohman, M.A. (2006). 5' end cDNA amplification using classic RACE. *Nat Protoc* 1, 2555-2562.

Sekine, T., Perez-Potti, A., Rivera-Ballesteros, O., Stralin, K., Gorin, J.B., Olsson, A., Llewellyn-Lacey, S., Kamal, H., Bogdanovic, G., Muschiol, S., et al. (2020). Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell* 183, 158-168 e114.

Shomuradova, A.S., Vagida, M.S., Sheetikov, S.A., Zornikova, K.V., Kiryukhin, D., Titov, A., Peshkova, I.O., Khmelevskaya, A., Dianov, D.V., Malasheva, M., et al. (2020). SARS-CoV-2 Epitopes Are Recognized by a Public and Diverse Repertoire of Human T Cell Receptors. *Immunity* 53, 1245-1257 e1245.

Snyder, T.M., Gittelman, R.M., Klinger, M., May, D.H., Osborne, E.J., Taniguchi, R., Zahid, H.J., Kaplan, I.M., Dines, J.N., Noakes, M.N., et al. (2020). Magnitude and Dynamics of the T-Cell Response to SARS-CoV-2 Infection at Both Individual and Population Levels. *medRxiv*. 10.1101/2020.07.31.20165647.

Sohail, M.S., Ahmed, S.F., Quadeer, A.A., and McKay, M.R. (2021). In silico T cell epitope identification for SARS-CoV-2: Progress and perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* 171, 29-47.

Tzou, P.L., Tao, K., Nouhin, J., Rhee, S.Y., Hu, B.D., Pai, S., Parkin, N., and Shafer, R.W. (2020). Coronavirus Antiviral Research Database (CoV-RDB): An Online Database Designed to Facilitate Comparisons between Candidate Anti-Coronavirus Compounds. *Viruses* 12. 10.3390/v12091006.

10

20

30

40

50

V. Gauttier, A.M., I. Girault, C. Mary, L. Belarif, A. Desselle, E. Wilhelm, T. Bourquard, S. Pengam, G. Teppaz, V. Thepenier, K. Bateau, E. De Barbeyrac, D. Kiepferlé, B. Vasseur, FX. Le Flem, D. Debieuvre, D. Costantini, N. Poirier (2020). Tissue-resident memory CD8 T-cell responses elicited by a single injection of a multi-target COVID-19 vaccine. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.08.14.240093>.

Wargo, J.A., Robbins, P.F., Li, Y., Zhao, Y., El-Gamil, M., Caragacianu, D., Zheng, Z., Hong, J.A., Downey, S., Schrumpp, D.S., et al. (2009). Recognition of NY-ESO-1+ tumor cells by engineered lymphocytes is enhanced by improved vector design and epigenetic modulation of tumor antigen expression. *Cancer Immunol Immunother* 58, 383-394.

Weiskopf, D., Schmitz, K.S., Raadsen, M.P., Grifoni, A., Okba, N.M.A., Endeman, H., van den Akker, J.P.C., Molenkamp, R., Koopmans, M.P.G., van Gorp, E.C.M., et al. (2020). Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. *Sci Immunol* 5. [10.1126/sciimmunol.abd2071](https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abd2071).

William Chour, A.M.X., Alphonsus H.C. Ng, Jongchan Choi, Jingyi Xie, Dan Yuan, Diana C. DeLucia, Rick A. Edmark, Lesley C. Jones, Thomas M. Schmitt, Mary E. Chaffee, Venkata R. Duvvuri, Kim M. Murray, Songming Peng, Julie Wallick, Heather A. Algren, William R. Berrington, D. Shane O'Mahony, John K. Lee, Philip D. Greenberg, Jason D. Goldman, James R. Heath (2020). Shared Antigen-specific CD8+ T cell Responses Against the SARS-COV-2 Spike Protein in HLA-A*02:01 COVID-19 Participants. *medRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.05.04.20085779>.

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.M., Wang, W., Song, Z.G., Hu, Y., Tao, Z.W., Tian, J.H., Pei, Y.Y., et al. (2020a). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 579, 265-269.

Wu, J.T., Leung, K., and Leung, G.M. (2020b). Nowcasting and forecasting the potential domestic and international spread of the 2019-nCoV outbreak originating in Wuhan, China: a modelling study. *Lancet* 395, 689-697.

10

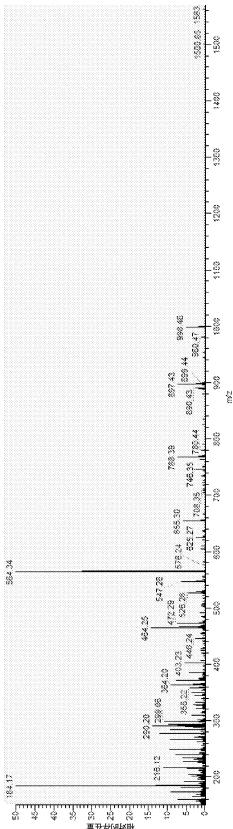
20

30

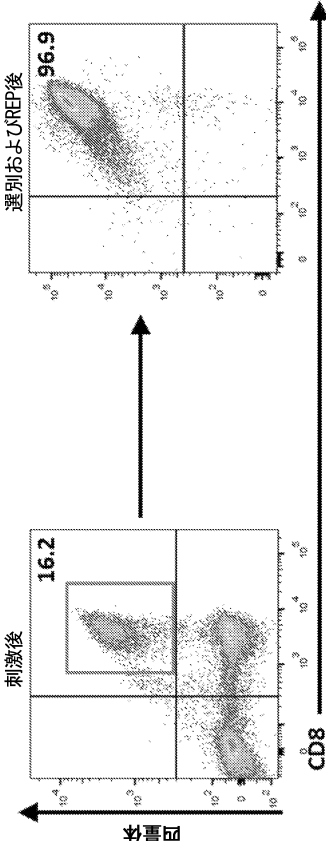
40

50

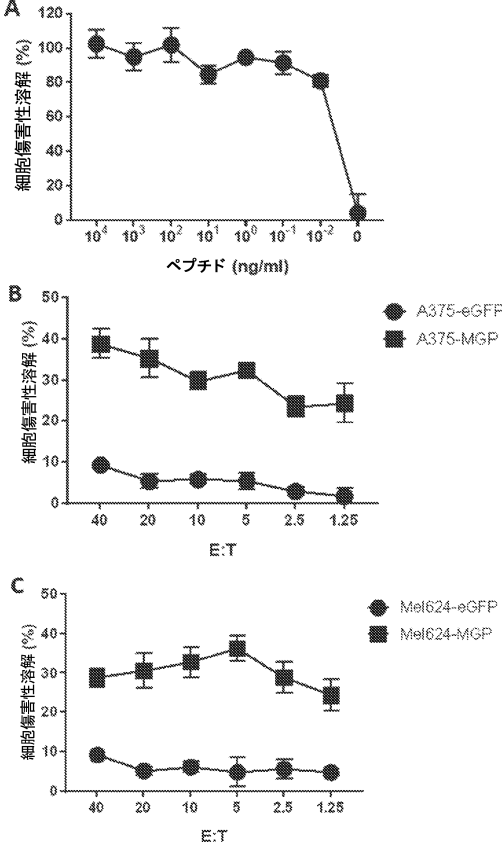
【図面】
【図 1】



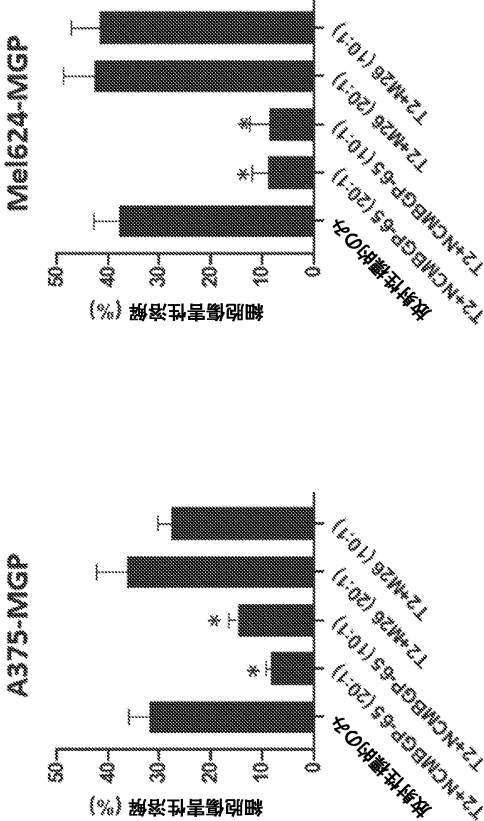
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

20

30

40

50

10

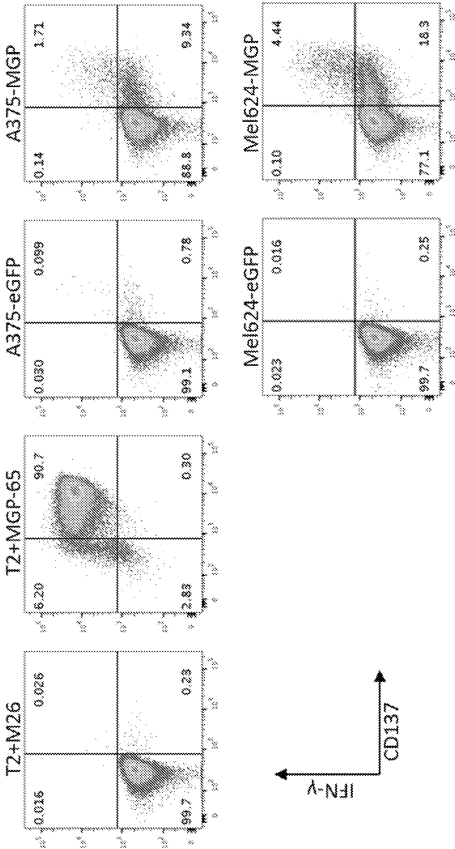
20

30

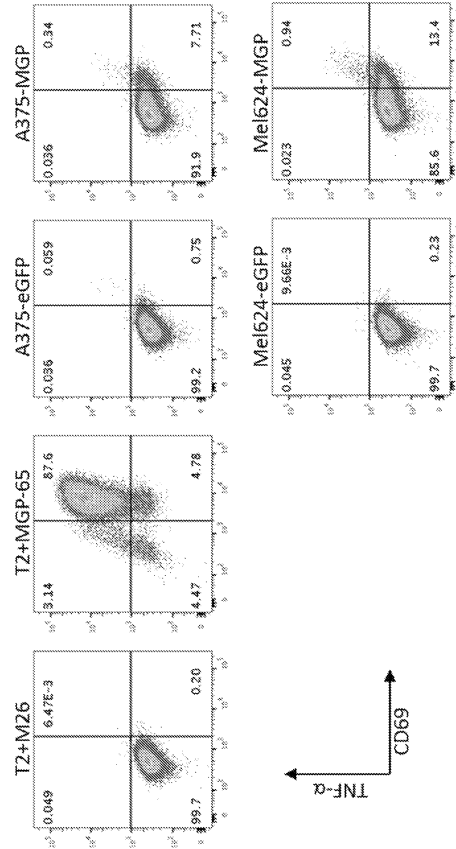
40

50

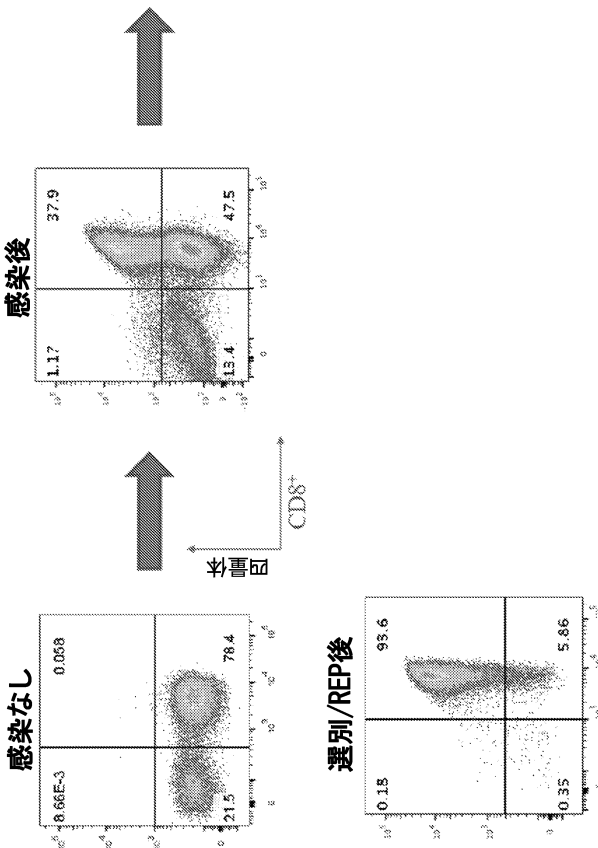
【図 5 - 1】



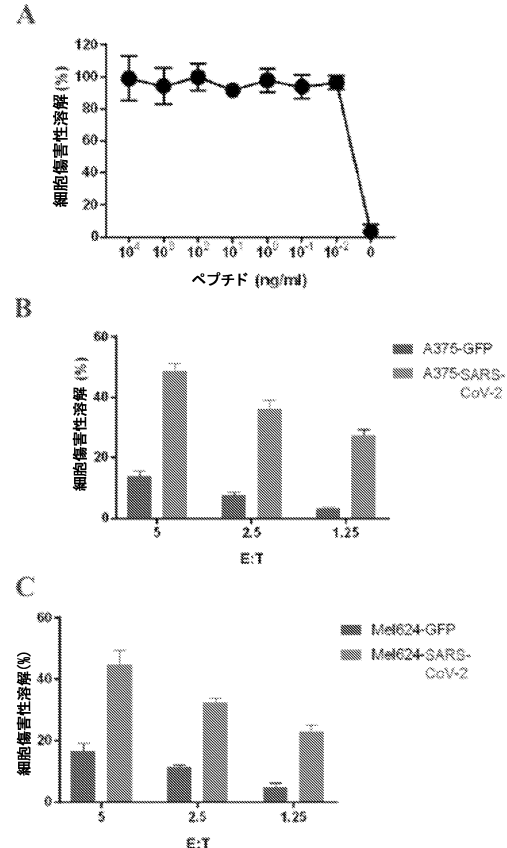
【図 5 - 2】



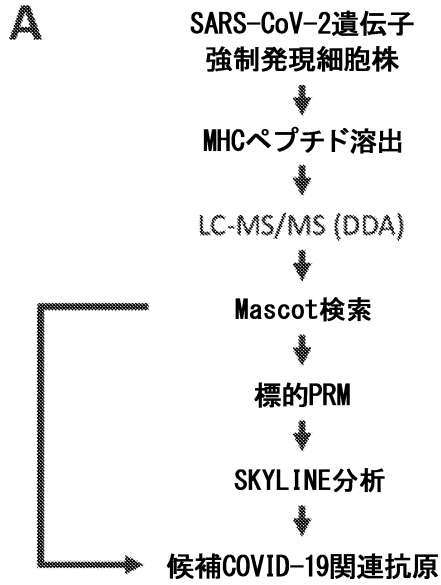
【図 6】



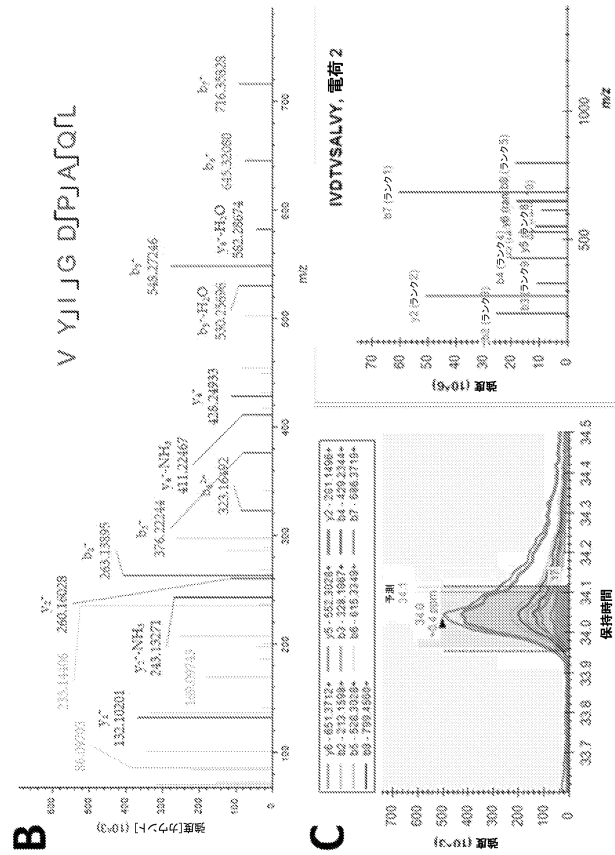
【図 7】



【図 8 - 1】



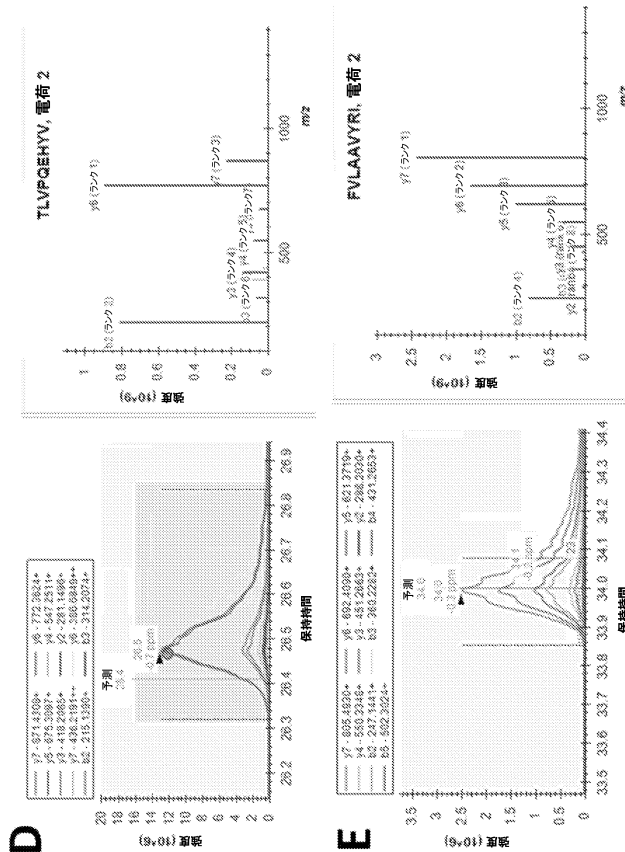
【図 8 - 2】



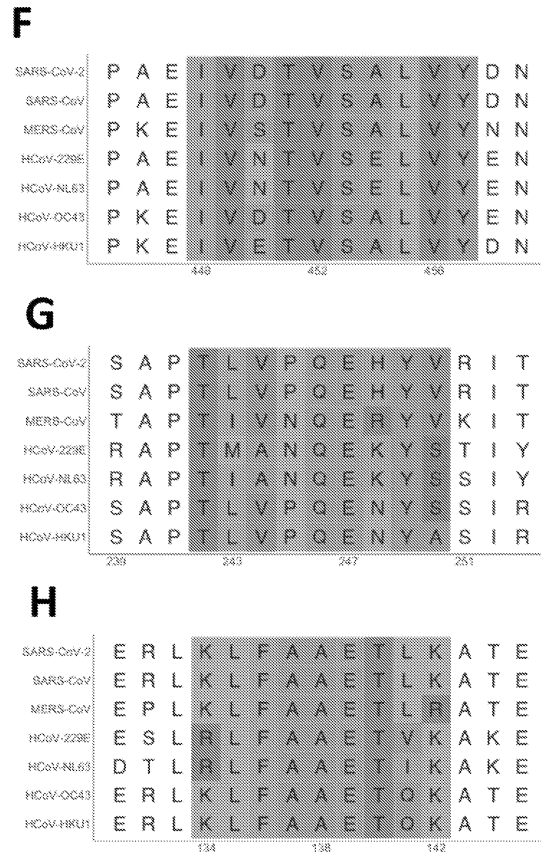
10

20

【図 8 - 3】



【図 8 - 4】

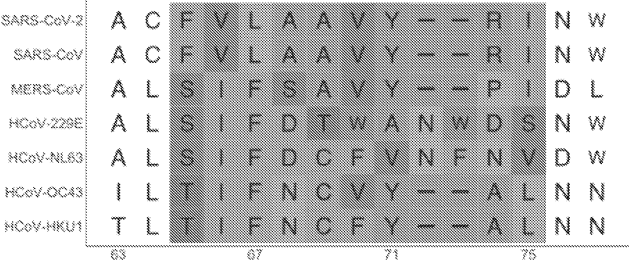
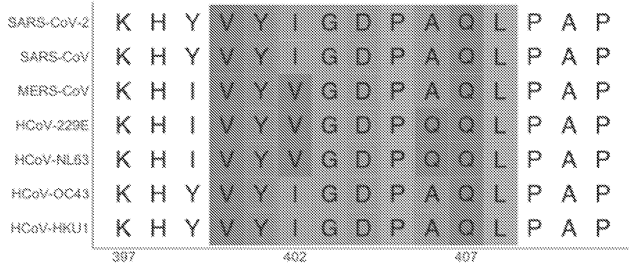


30

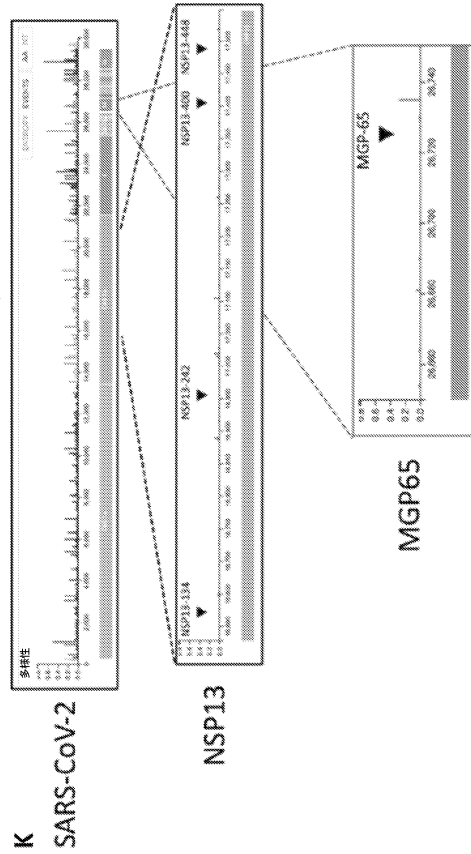
40

50

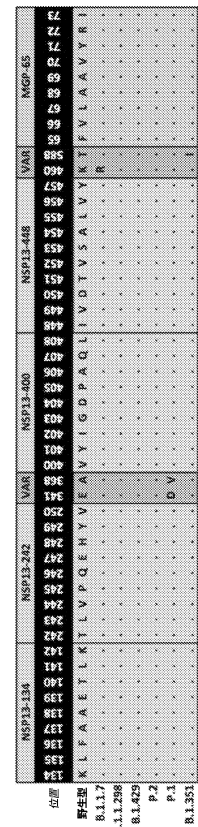
【図 8 - 5】



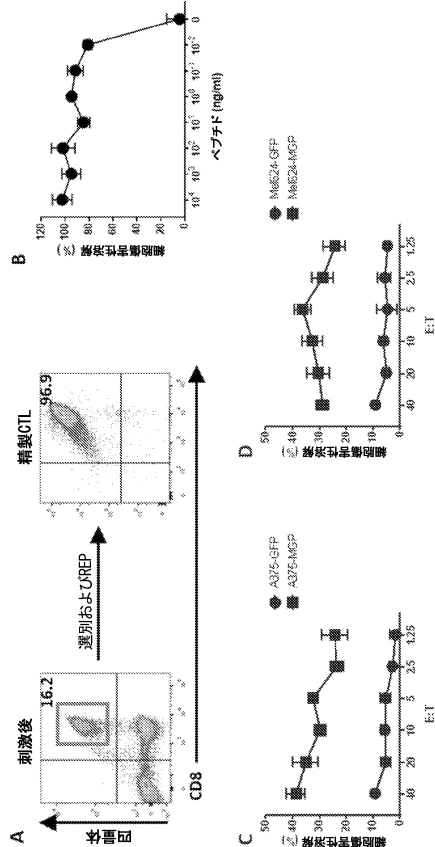
【図 8 - 6】



【図 8 - 7】



【図 9 - 1】



10

20

30

40

50

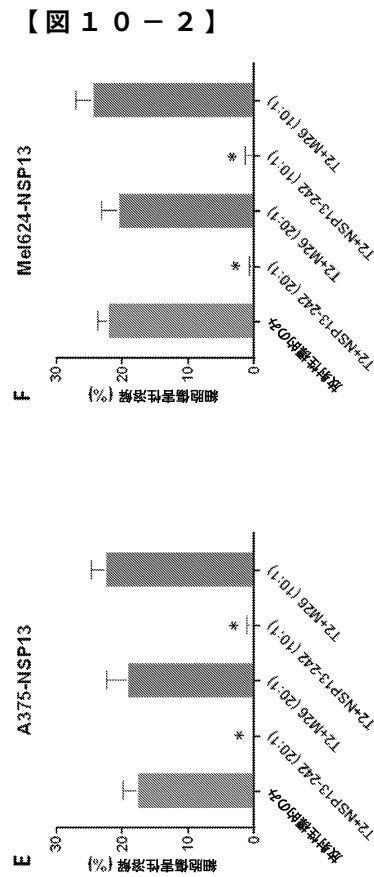
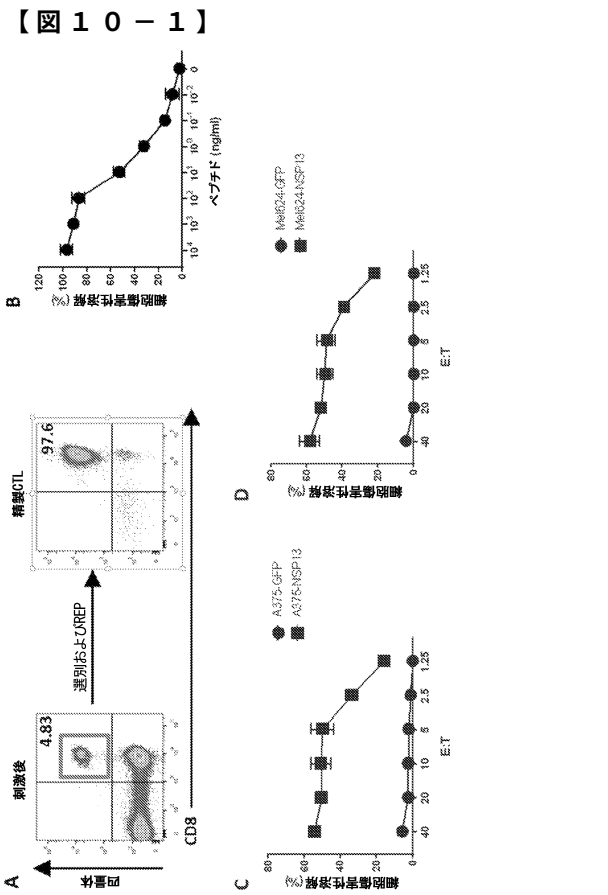
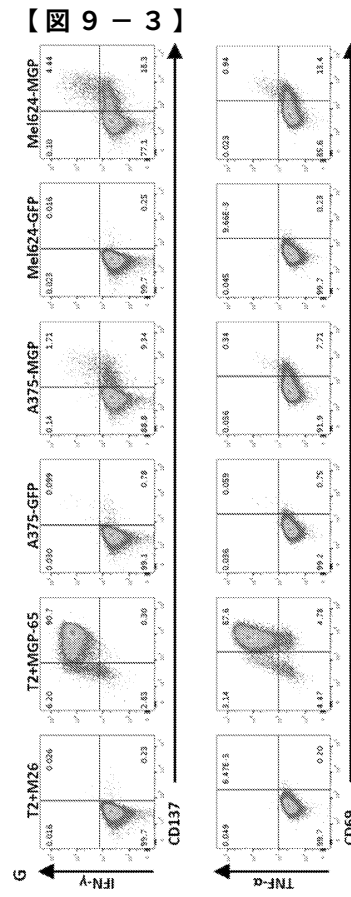
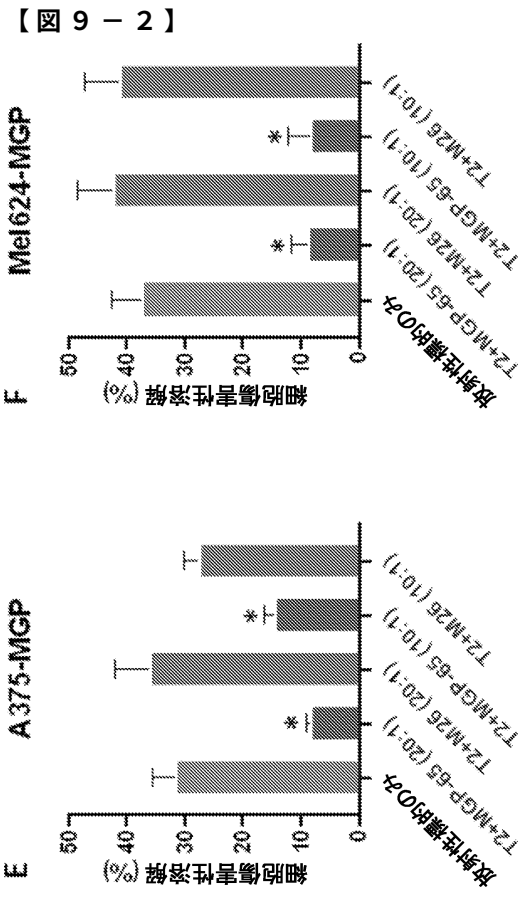
10

20

30

40

50



10

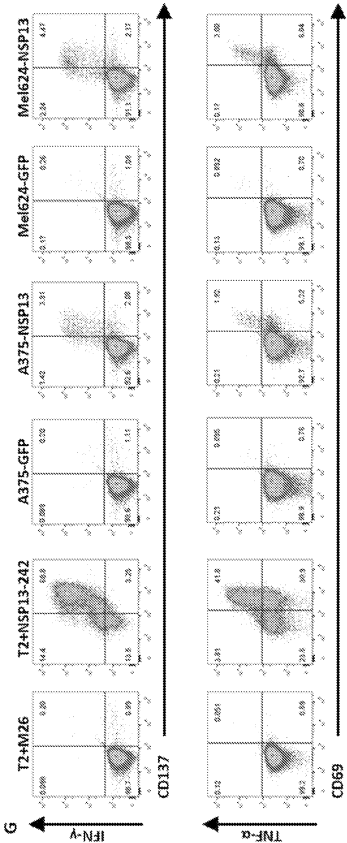
20

30

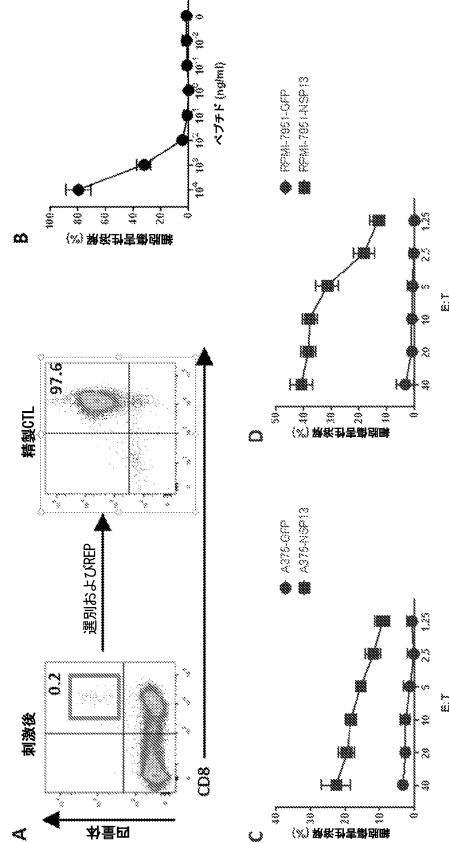
40

50

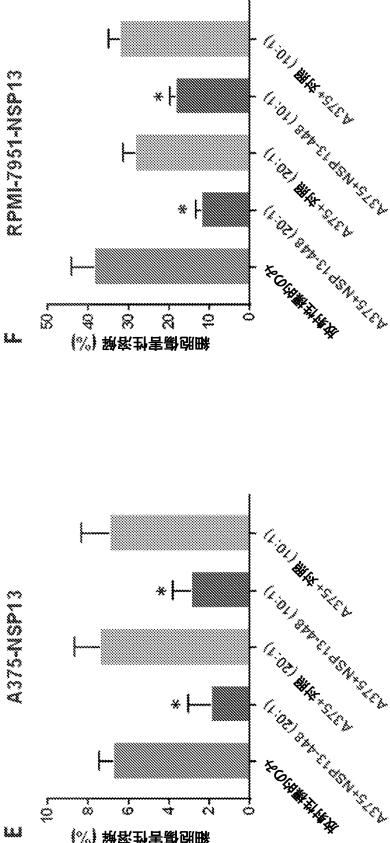
【図 10 - 3】



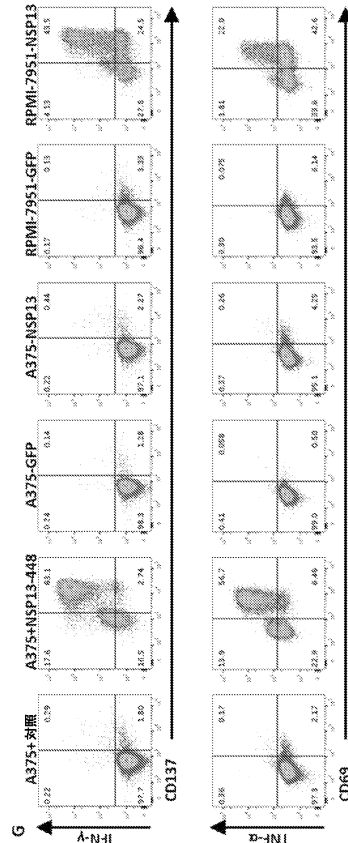
【図 11 - 1】



【図 11 - 2】



【図 11 - 3】



10

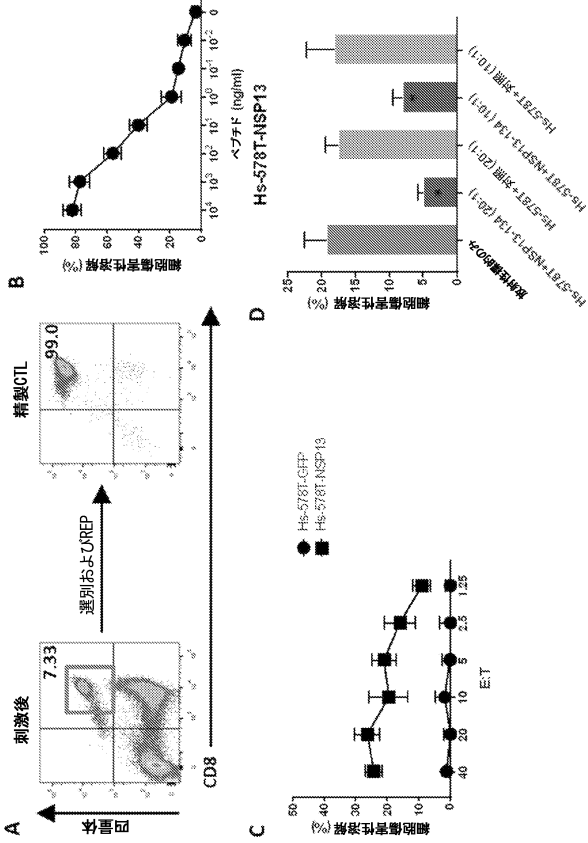
20

30

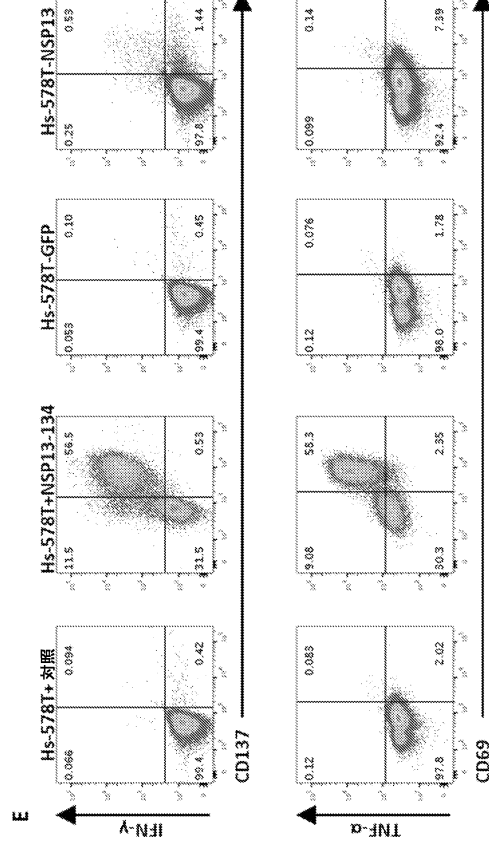
40

50

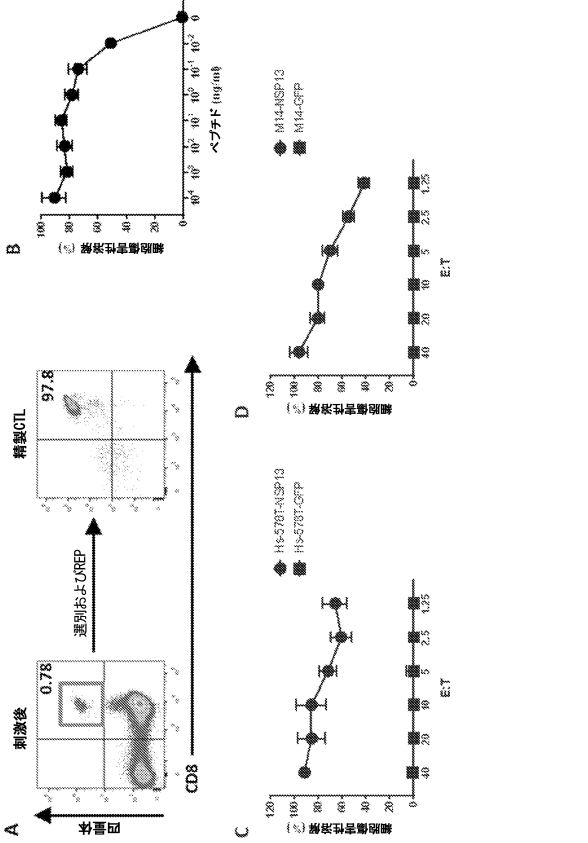
【図 1 2 - 1】



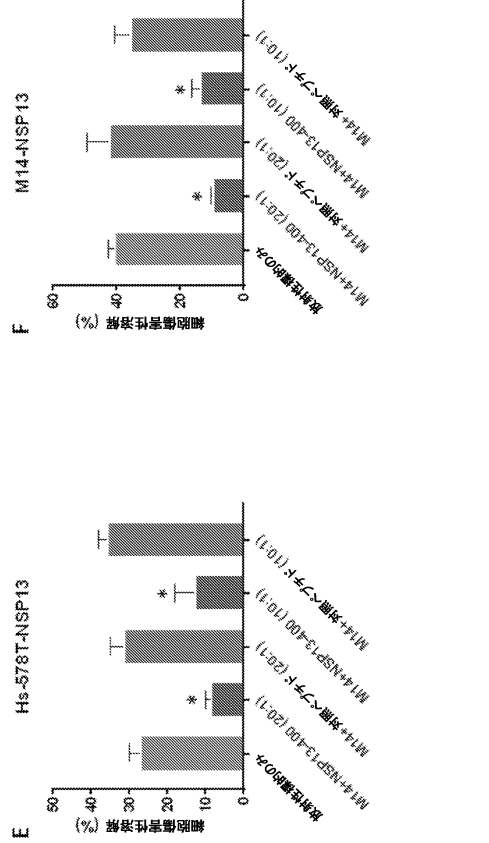
【図 1 2 - 2】



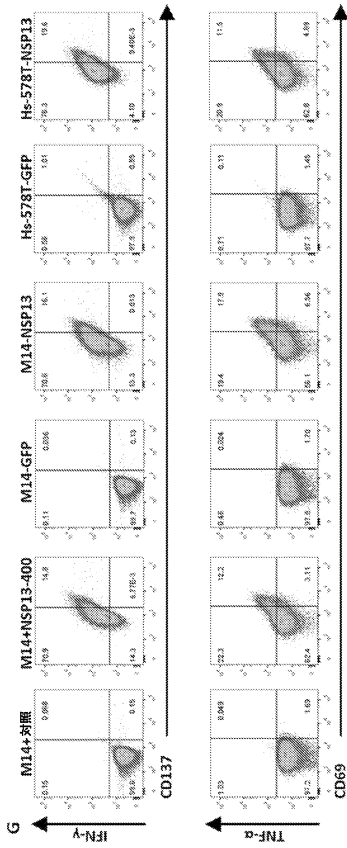
【図 1 3 - 1】



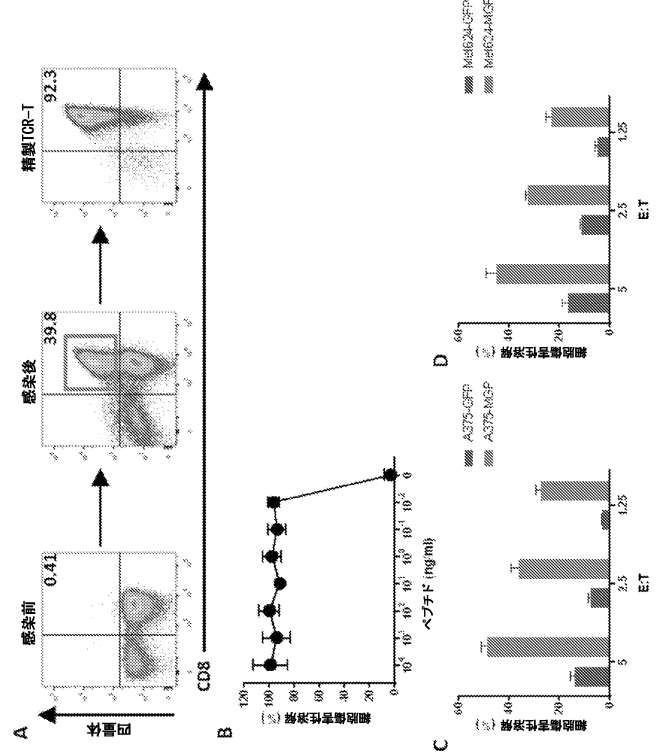
【図 1 3 - 2】



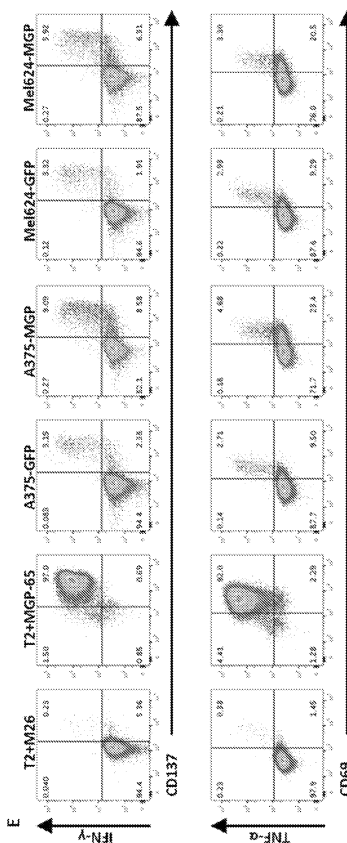
【図 13-3】



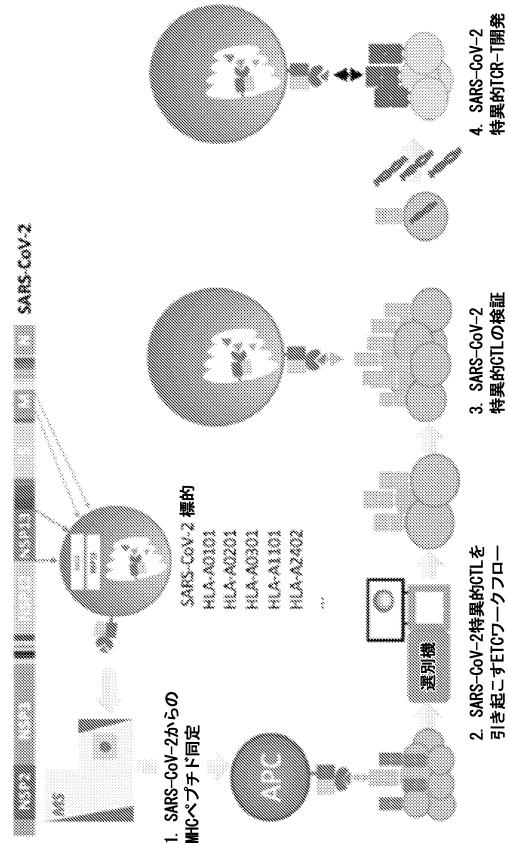
【図 14-1】



【図 14-2】



【図 15】



10

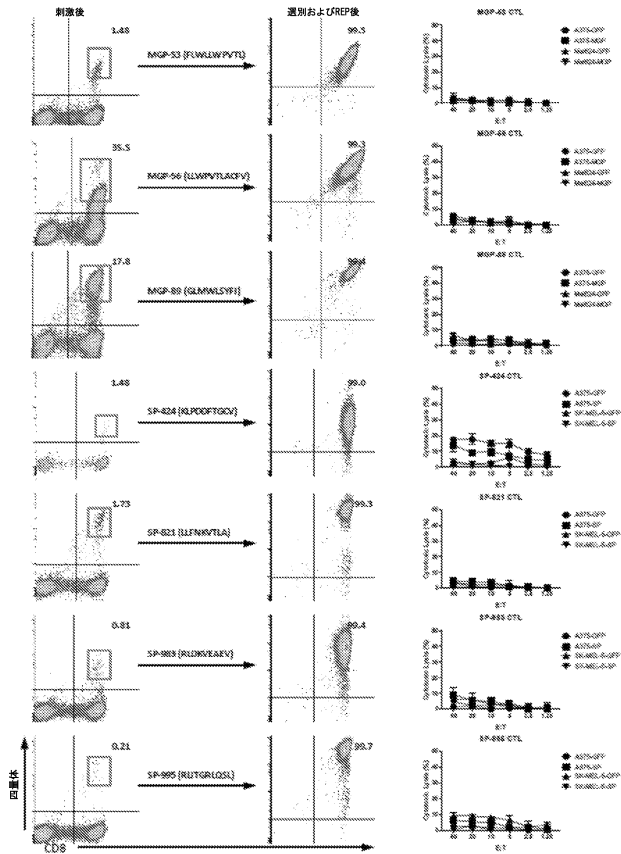
20

30

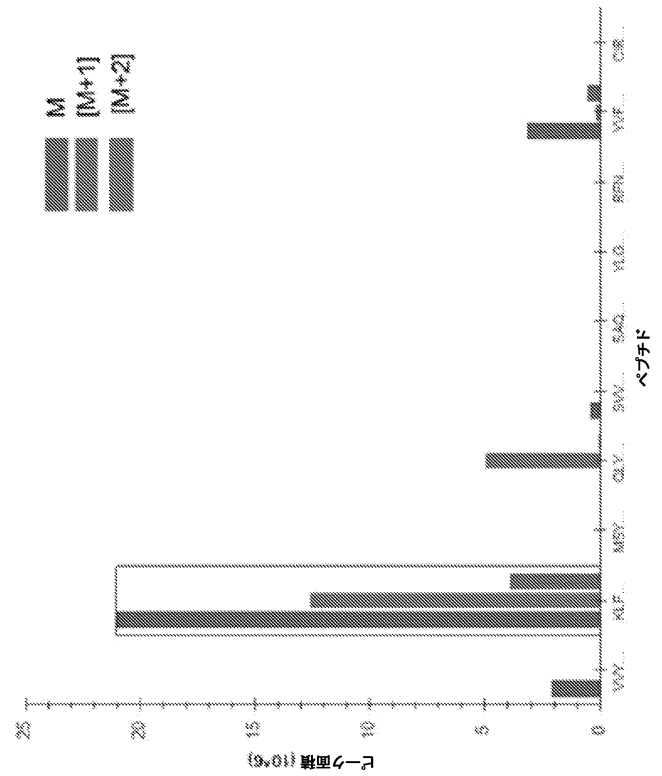
40

50

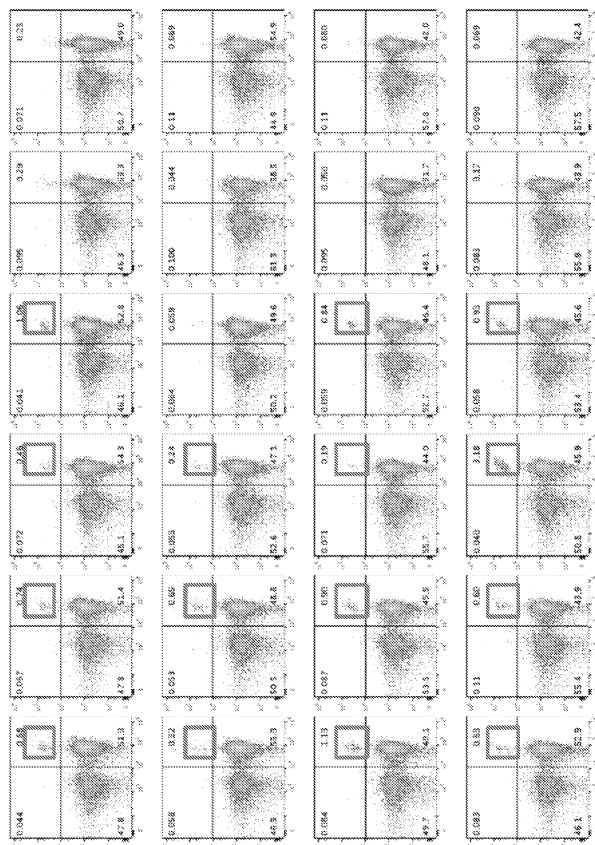
【図 16】



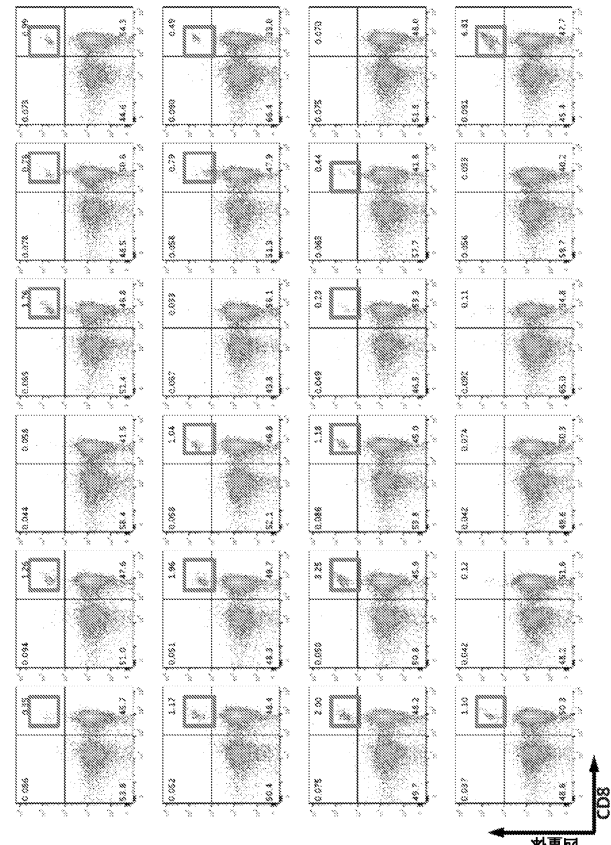
【図 17】



【図 18 - 1】



【図 18 - 2】



10

20

30

40

50

10

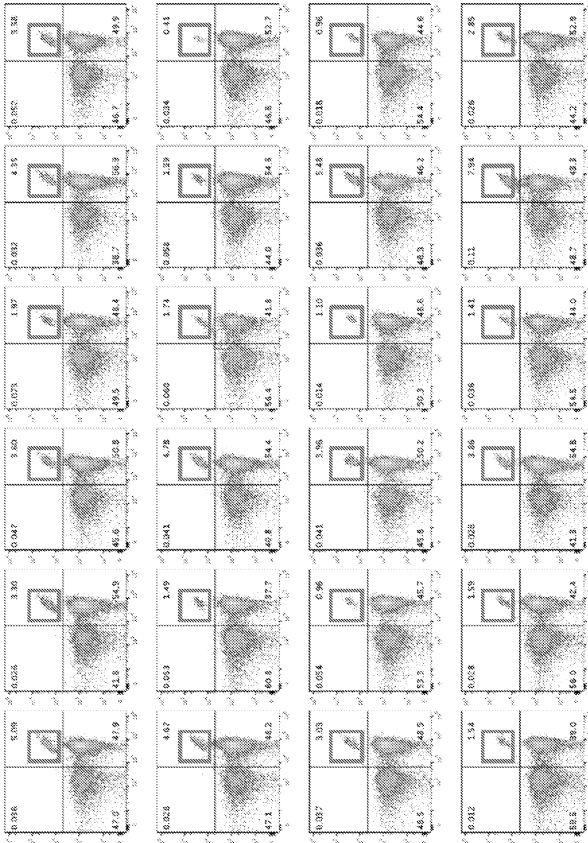
20

30

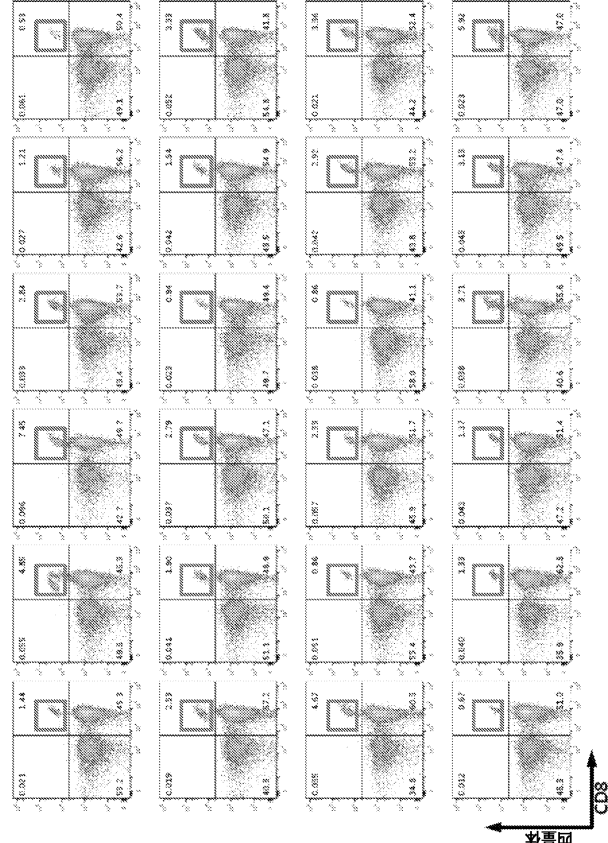
40

50

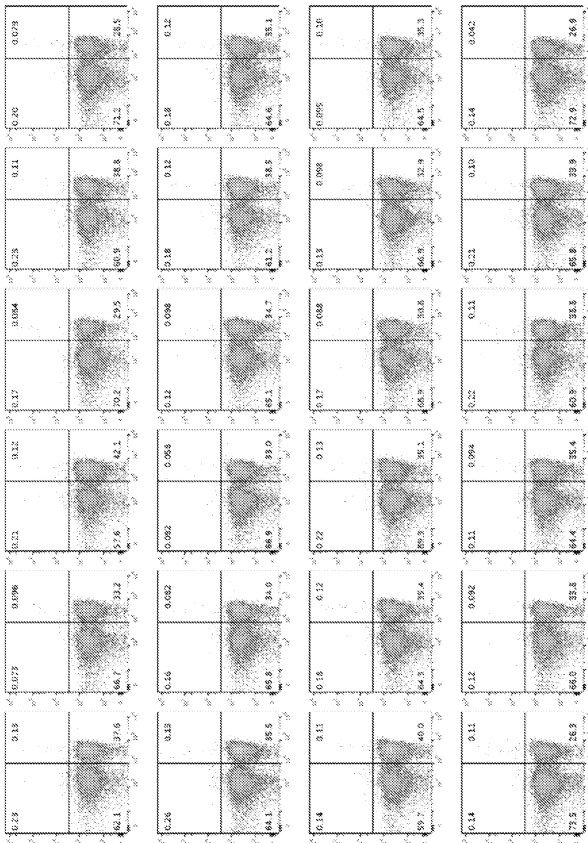
【図 19 - 1】



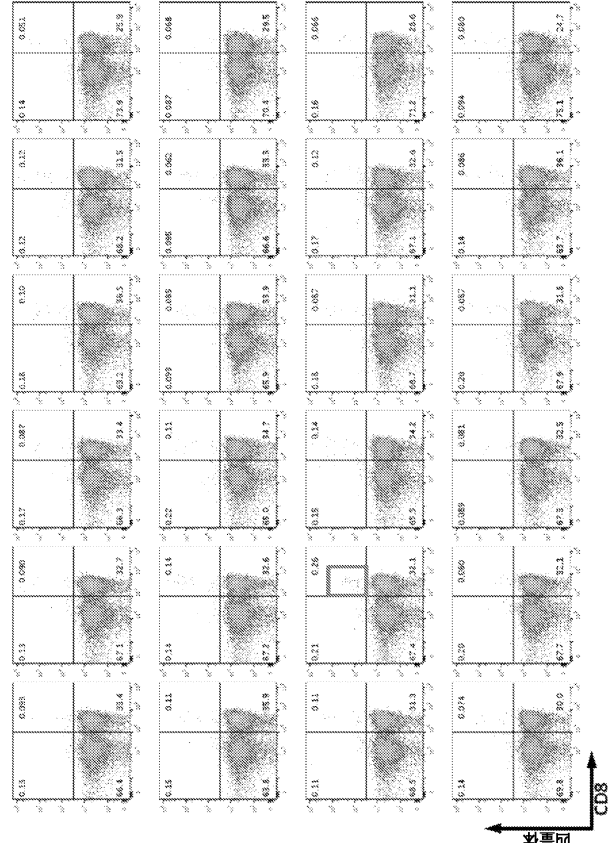
【図 19 - 2】



【図 20 - 1】



【図 20 - 2】



10

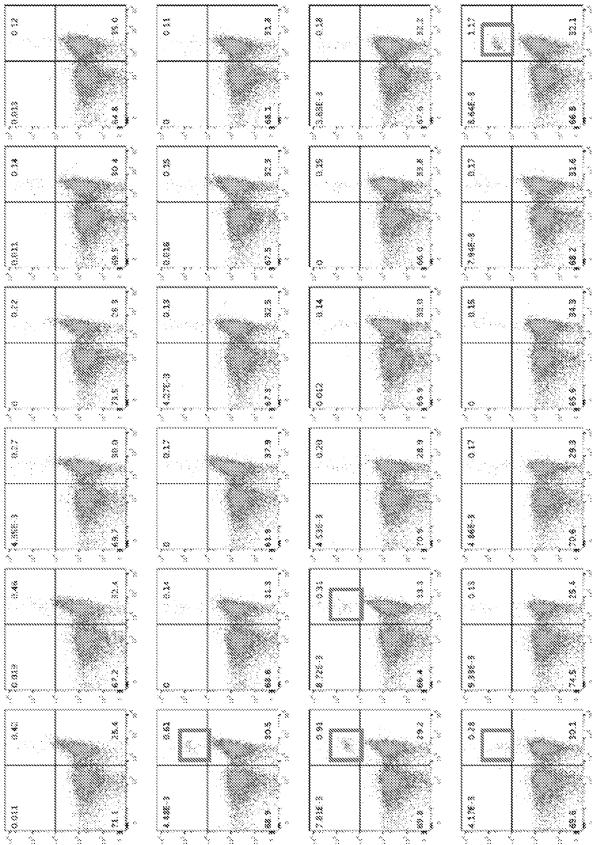
20

30

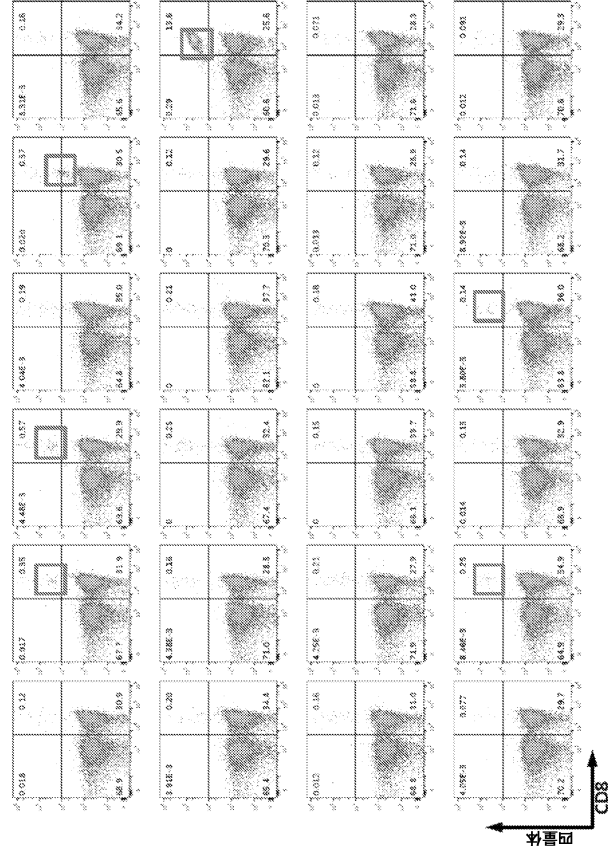
40

50

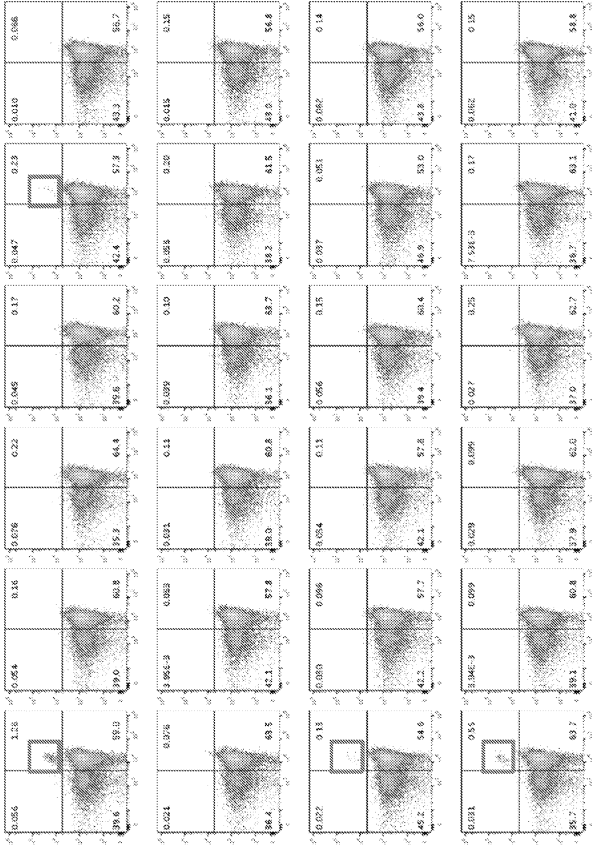
【図 2 1 - 1】



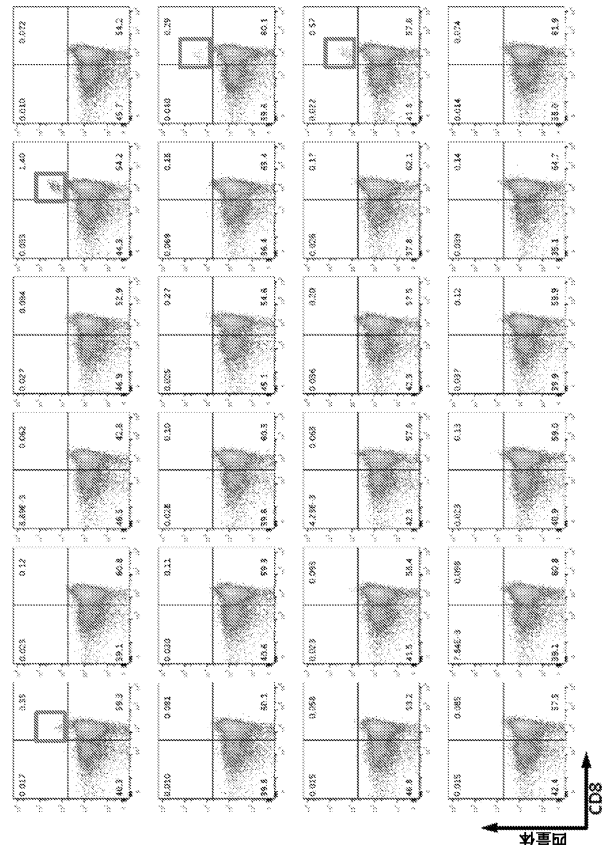
【図 2 1 - 2】



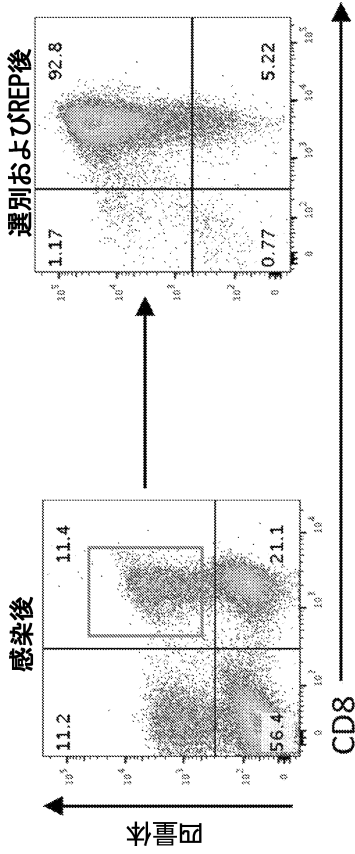
【図 2 2 - 1】



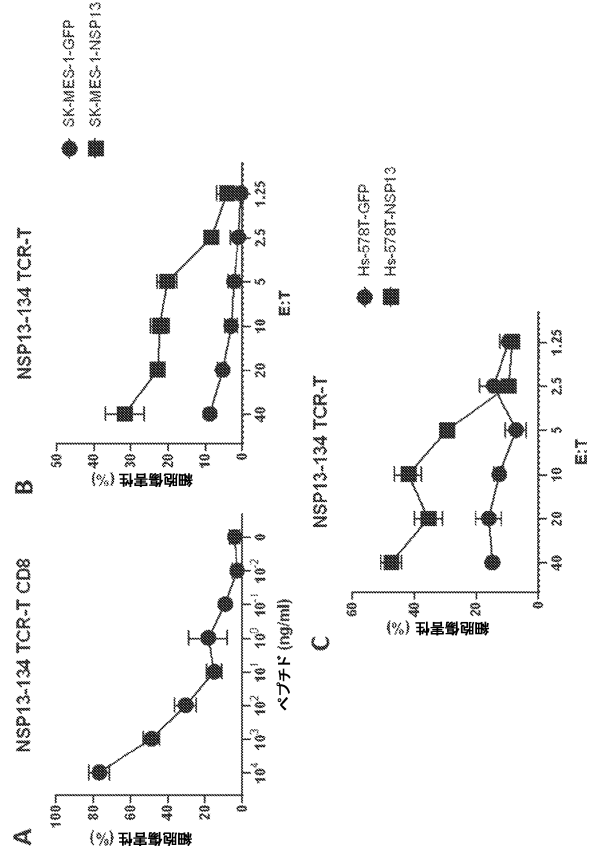
【図 2 2 - 2】



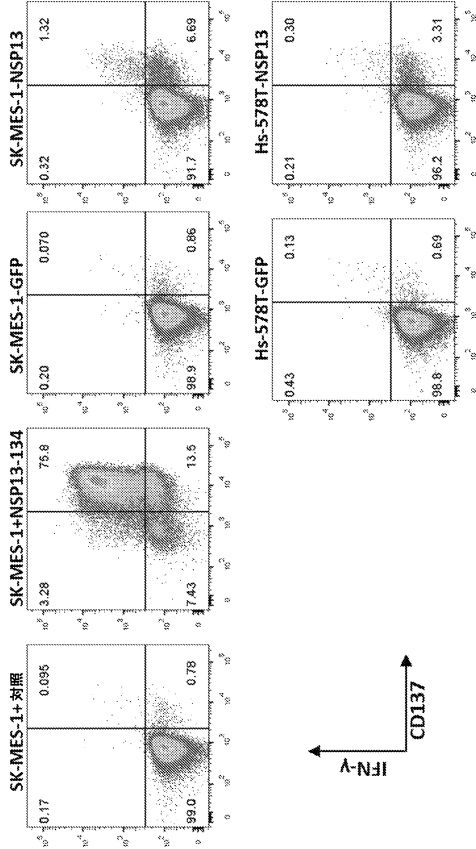
【図 2 3】



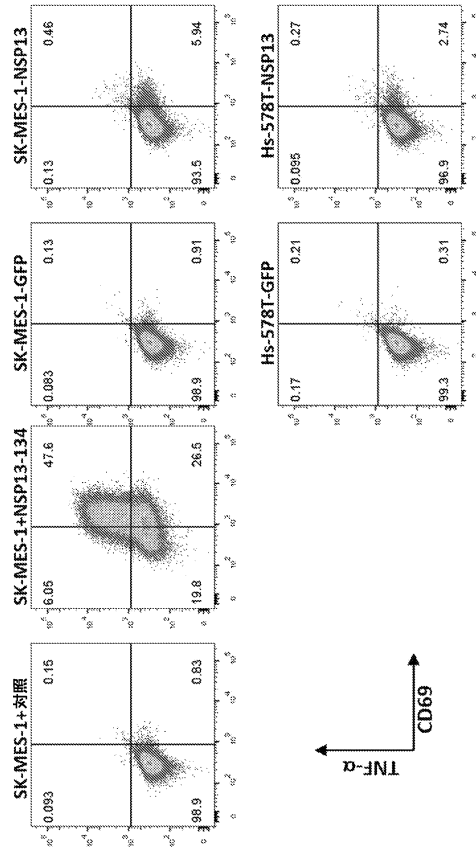
【図 2 4】



【図 2 5 - 1】



【図 2 5 - 2】



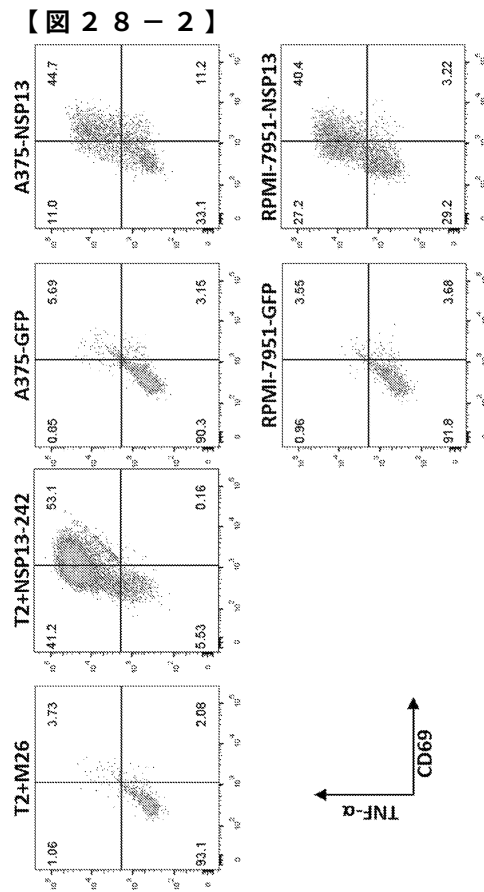
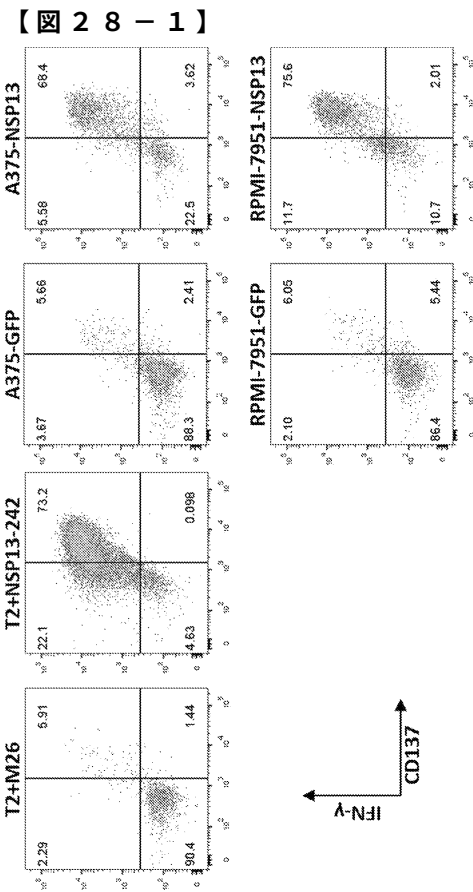
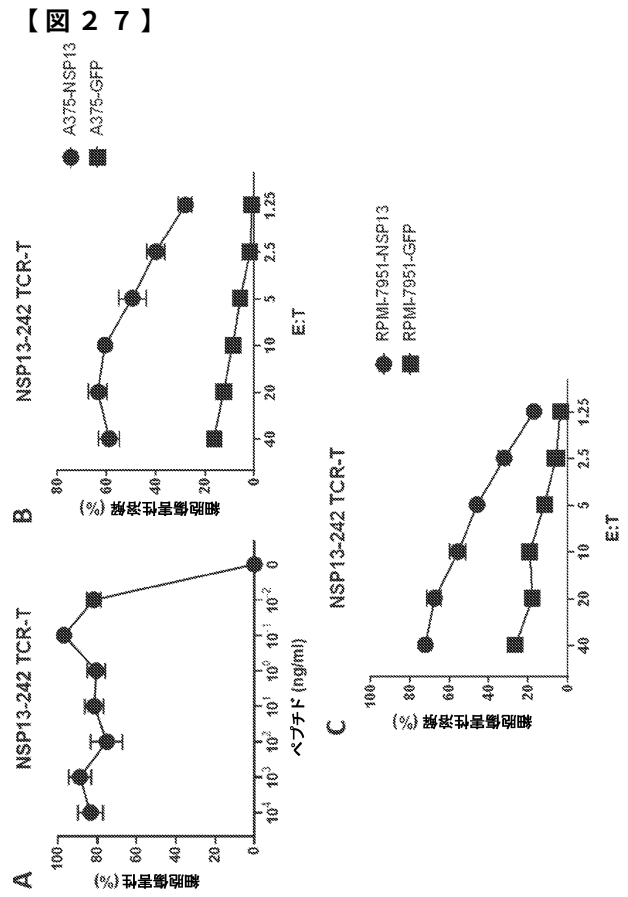
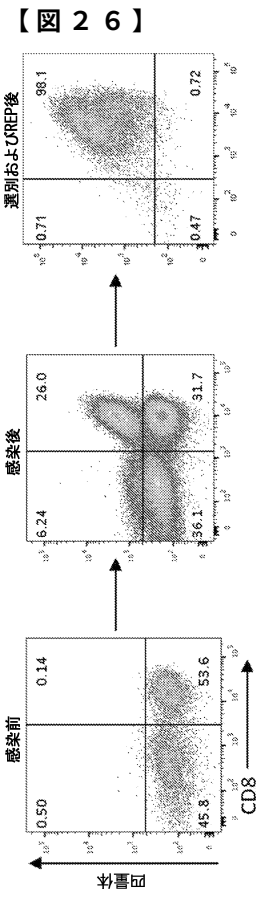
10

20

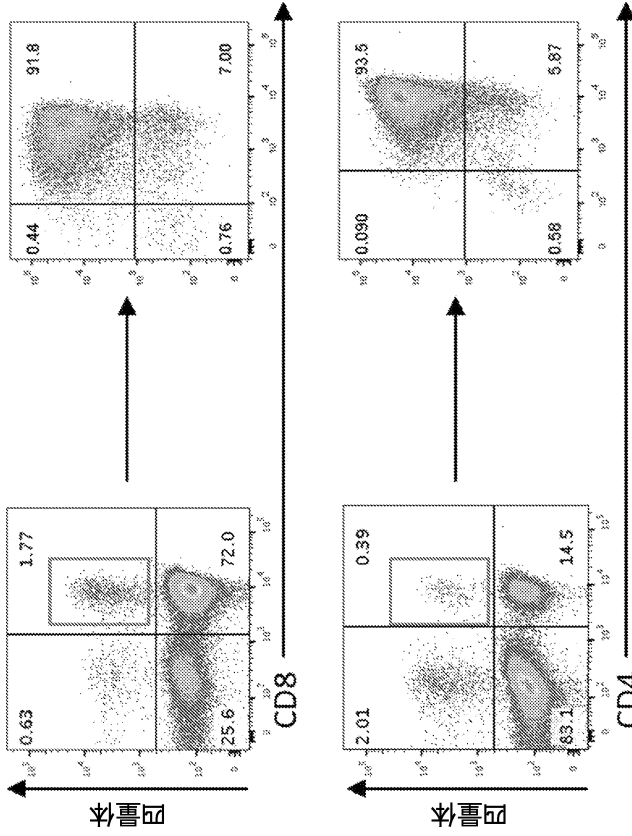
30

40

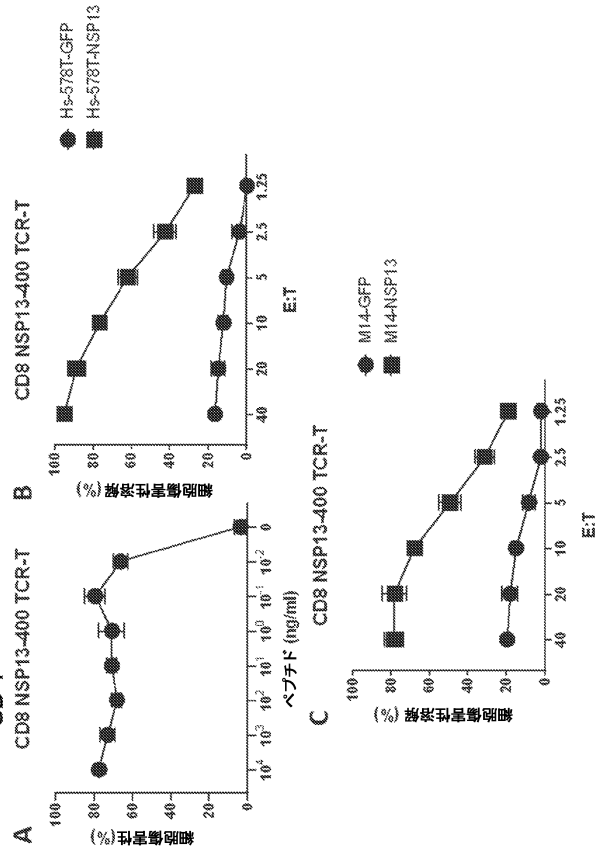
50



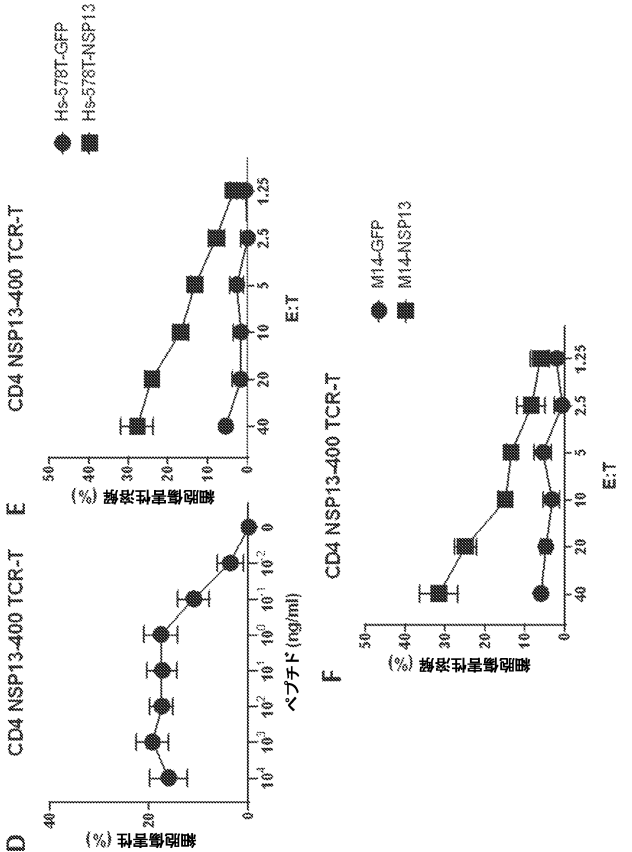
【図 29】



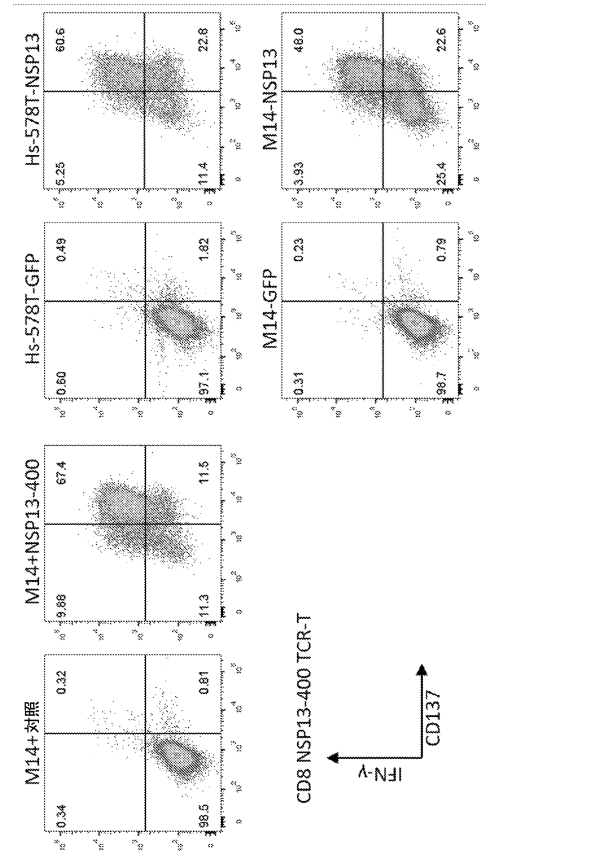
【図 30-1】



【図 30-2】



【図 31-1】



10

20

30

40

50

10

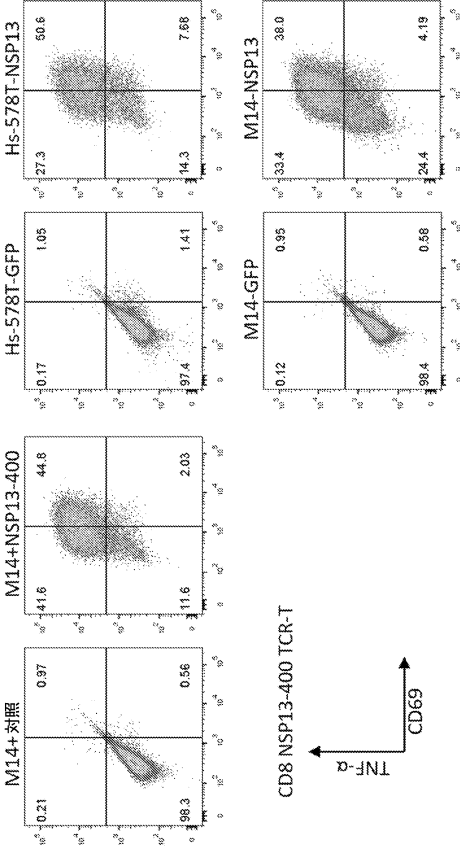
20

30

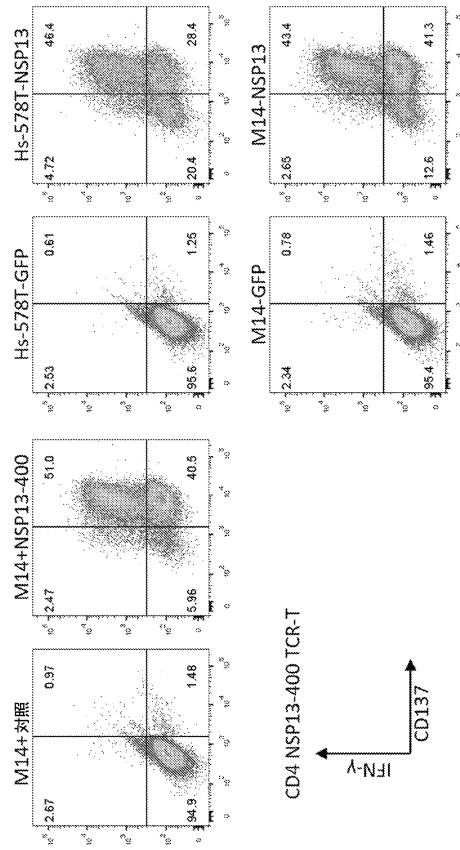
40

50

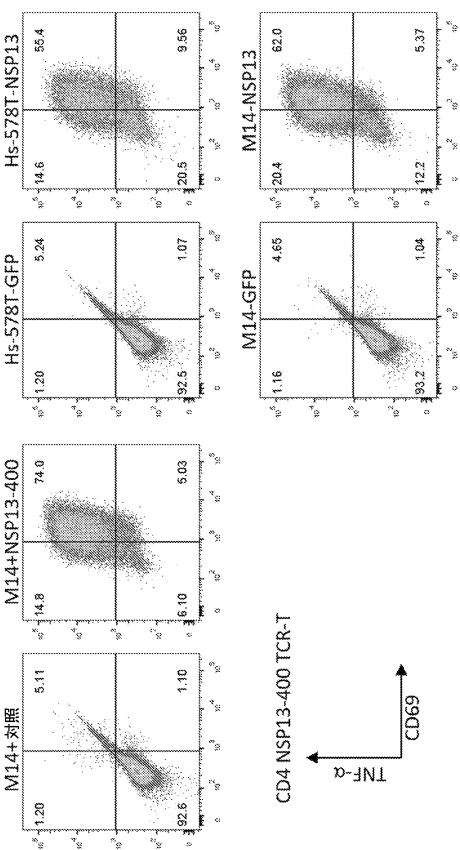
【図 3 1 - 2】



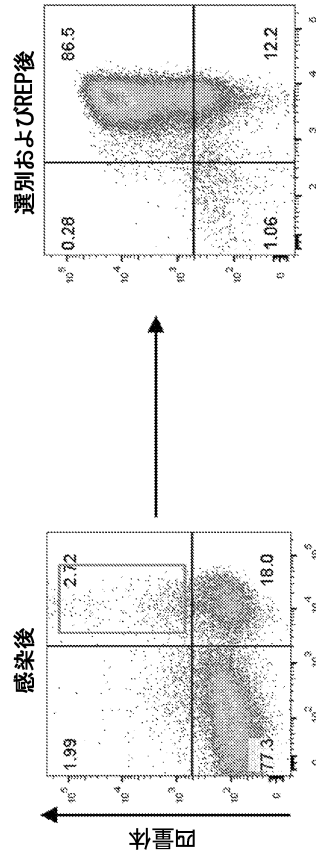
【図 3 1 - 3】



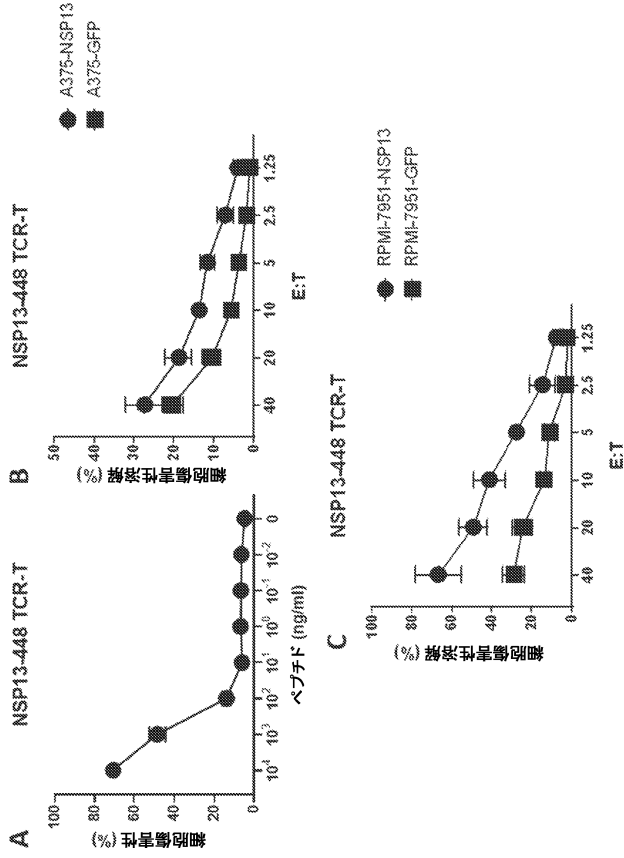
【図 3 1 - 4】



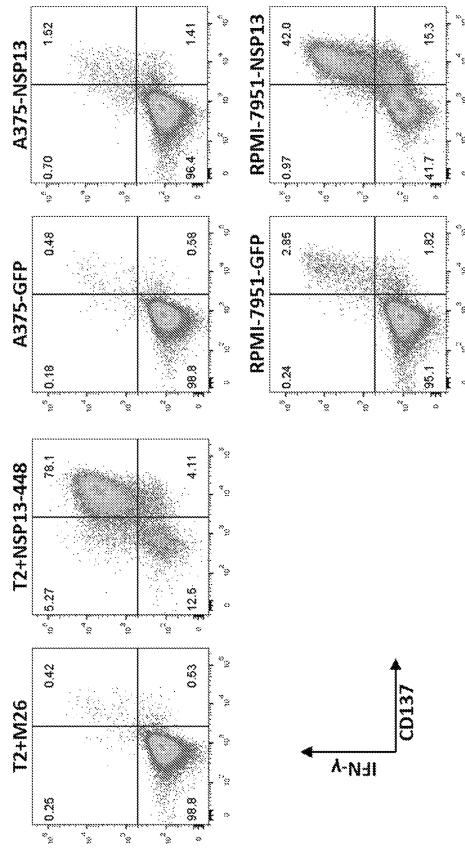
【図 3 2】



【図 3 3】



【図 3 4 - 1】



10

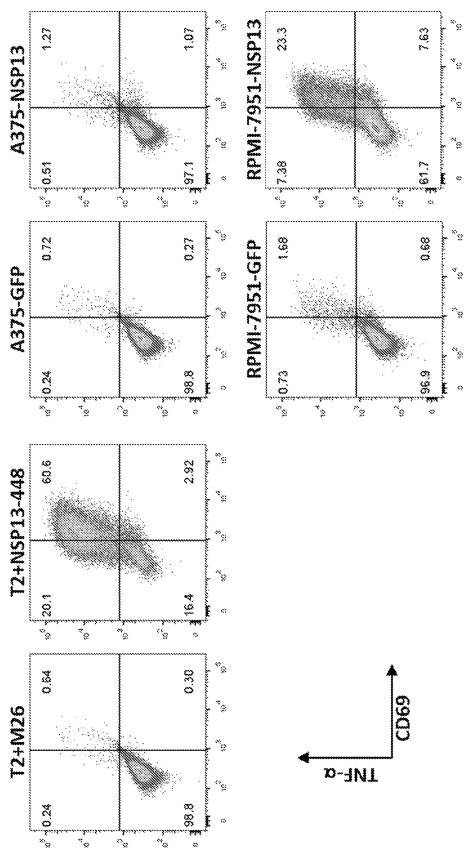
20

30

40

50

【図 3 4 - 2】



【手続補正書】

【提出日】令和6年2月20日(2024.2.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0074

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0074】

TCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとが機能的に連結されうる。「機能的に連結された」という用語は、ペプチド結合(例えば、2つの要素がポリペプチドであり、同じポリペプチド上にある)などの共有結合、またはファンデルワールス力(例えば、互いにある程度の特異的結合親和性を有する2つのポリペプチド)などの非共有結合をいうことができる。TCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとが、ペプチド結合によって機能的に連結されうる。TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドは同じポリペプチド上にあつてよく、TCR-bがTCR-aのアミノ近位にある。TCR-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドは同じポリペプチド上にあつてよく、TCR-aがTCR-bのアミノ近位にある。したがって、TCRは一本鎖TCRでありうる。一本鎖TCRはTCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとの間のリンカーを含みうるか、またはさらに含みうる。リンカーは、本明細書において記述のまたは当技術分野において公知のリンカーでありうる。リンカーはまた、グリシンおよびセリン残基を含みうるか、またはグリシンおよびセリン残基からなりうる。いくつかの局面において、リンカーは、グリシンおよびセリン残基のみから構成される(グリシン-セリンリンカー)。リンカーは可動性リンカーでありうる。例示的な可動性リンカーとしては、グリシン重合体(G)_n、グリシン-セリン重合体(例えば、(GS)_n、(GSGGS)_n (SEQ ID NO:142)、(G₄S)_n (SEQ ID NO:177)、および(GGGGS)_n (SEQ ID NO:143)を含み、ここでnは少なくとも1の整数である)が挙げられる。いくつかの局面において、nは少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10(またはその中で導出可能な任意の範囲)、多くとも1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10(またはその中で導出可能な任意の範囲)、あるいはちょうど1、2、3、4、5、6、7、8、9もしくは10(またはその中で導出可能な任意の範囲)である。グリシン-アラニン重合体、アラニン-セリン重合体、および当技術分野において公知の他の可動性リンカーが、本開示のポリペプチドにおけるリンカーとして用いられうる。例示的なリンカーは、GSGSG (SEQ ID NO:144)、GGSGG (SEQ ID NO:145)、GSGSG (SEQ ID NO:146)、GSGGG (SEQ ID NO:147)、GGGSG (SEQ ID NO:148)、GSSSG (SEQ ID NO:149)などを含みうるか、またはそれらからなりうる。第1の領域が第2の領域のカルボキシ末端に結合している場合、第1の領域は第2の領域のカルボキシ近位にある。第1の領域と第2の領域との間にさらに介在するアミノ酸残基が存在しうる。したがって、介在するアミノ酸残基を有しないと具体的に指定されない限り、これらの領域は直接隣接している必要はない。「アミノ近位」という用語は、同様に、第1の領域が第2の領域のアミノ末端に結合している場合、第1の領域が第2の領域のアミノ近位にあると定義される。同様に、特に明記しない限り、第1の領域と第2の領域との間にさらに介在するアミノ酸残基が存在しうる。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0115

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0115】

[本発明1001]

SEQ ID NO:7のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:7に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

10

20

30

40

50

[本発明1002]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1001のポリペプチド。

[本発明1003]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:5および6のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:5およびSEQ ID NO:6に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2

を含む、本発明1002のポリペプチド。

[本発明1004]

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:3、またはSEQ ID NO:3に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1001~1003のいずれかのポリペプチド。

[本発明1005]

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、本発明1001~1004のいずれかのポリペプチド。

[本発明1006]

TCR-a可変および定常領域を含む、本発明1005のポリペプチド。

[本発明1007]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1001~1006のいずれかのポリペプチド。

[本発明1008]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:4のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:4に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1007のポリペプチド。

[本発明1009]

SEQ ID NO:14のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:14に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド

[本発明1010]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1009のポリペプチド。

[本発明1011]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:12およびSEQ ID NO:13のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:12およびSEQ ID NO:13に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2

を含む、本発明1010のポリペプチド。

[本発明1012]

可変領域が、SEQ ID NO:10のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:10に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1009~1011のいずれかのポリペプチド。

[本発明1013]

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、本発明1009~1012のいずれかのポリペプチド。

[本発明1014]

TCR-a可変および定常領域を含む、本発明1013のポリペプチド。

[本発明1015]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1009~1014のいずれかのポリペプチド。

[本発明1016]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:11のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:11に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1015のポリペプチド。

[本発明1017]

SEQ ID NO:21のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:21に対して少なくとも80%の配列

10

20

30

40

50

同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド

[本発明1018]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1017のポリペプチド。

[本発明1019]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:19および20のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:19およびSEQ ID NO:20に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1018のポリペプチド。

[本発明1020]

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:17、またはSEQ ID NO:17に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1017~1019のいずれかのポリペプチド。

[本発明1021]

T細胞受容体ベータ(TCR-b)可変領域を含む、本発明1017~1020のいずれかのポリペプチド。

[本発明1022]

TCR-b可変および定常領域を含む、本発明1021のポリペプチド。

[本発明1023]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1017~1022のいずれかのポリペプチド。

[本発明1024]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:18のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:18に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1023のポリペプチド。

[本発明1025]

SEQ ID NO:92のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:92に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド

[本発明1026]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1025のポリペプチド。

[本発明1027]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:90および91のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:90および91に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1026のポリペプチド。

[本発明1028]

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:88、またはSEQ ID NO:88に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1025~1027のいずれかのポリペプチド。

[本発明1029]

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、本発明1025~1028のいずれかのポリペプチド。

[本発明1030]

TCR-a可変および定常領域を含む、本発明1029のポリペプチド。

[本発明1031]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1025~1030のいずれかのポリペプチド。

[本発明1032]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:89のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:89に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1031のポリペプチド。

10

20

30

40

50

[本発明1033]

SEQ ID NO:99のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:99に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

[本発明1034]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1033のポリペプチド。

[本発明1035]

可変領域が、それぞれSEQ ID NO:97およびSEQ ID NO:98のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:97およびSEQ ID NO:98に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1034のポリペプチド。

[本発明1036]

可変領域が、SEQ ID NO:95のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:95に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1033～1035のいずれかのポリペプチド。

[本発明1037]

T細胞受容体アルファ(TCR-b)可変領域を含む、本発明1033～1036のいずれかのポリペプチド。

[本発明1038]

TCR-b可変および定常領域を含む、本発明1037のポリペプチド。

[本発明1039]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1033～1038のいずれかのポリペプチド。

[本発明1040]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:96のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:96に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1039のポリペプチド。

[本発明1041]

SEQ ID NO:106のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:106に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

[本発明1042]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1041のポリペプチド。

[本発明1043]

可変領域が、それぞれSEQ ID NO:104および105のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:104および105に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1042のポリペプチド。

[本発明1044]

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:102、またはSEQ ID NO:102に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1041～1043のいずれかのポリペプチド。

[本発明1045]

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、本発明1041～1044のいずれかのポリペプチド。

[本発明1046]

TCR-a可変および定常領域を含む、本発明1045のポリペプチド。

[本発明1047]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1041～1046のいずれかのポリペプチド。

[本発明1048]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:103のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:103に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1047のポリペプチド。

[本発明1049]

SEQ ID NO:113のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:113に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

[本発明1050]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1049のポリペプチド。

[本発明1051]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:111およびSEQ ID NO:112のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:111およびSEQ ID NO:112に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1050のポリペプチド。

[本発明1052]

可変領域が、SEQ ID NO:109のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:109に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1049～1051のいずれかのポリペプチド。

[本発明1053]

T細胞受容体アルファ(TCR-b)可変領域を含む、本発明1049～1052のいずれかのポリペプチド。

[本発明1054]

TCR-b可変および定常領域を含む、本発明1053のポリペプチド。

[本発明1055]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1049～1054のいずれかのポリペプチド。

[本発明1056]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:110のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:110に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1055のポリペプチド。

[本発明1057]

SEQ ID NO:120のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:120に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

[本発明1058]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1057のポリペプチド。

[本発明1059]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:118および119のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:118および119に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1058のポリペプチド。

[本発明1060]

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:116、またはSEQ ID NO:116に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1057～1059のいずれかのポリペプチド。

[本発明1061]

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、本発明1057～1060のいずれかのポリペプチド。

[本発明1062]

10

20

30

40

50

TCR- α 可変および定常領域を含む、本発明1061のポリペプチド。

[本発明1063]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1057～1062のいずれかのポリペプチド。

[本発明1064]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:117のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:117に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1063のポリペプチド
。

[本発明1065]

SEQ ID NO:127のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:127に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

10

[本発明1066]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1065のポリペプチド。

[本発明1067]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:125およびSEQ ID NO:126のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:125およびSEQ ID NO:126に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2
を含む、本発明1066のポリペプチド。

[本発明1068]

20

可変領域が、SEQ ID NO:123のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:123に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1065～1067のいずれかのポリペプチド。

[本発明1069]

T細胞受容体アルファ(TCR- β)可変領域を含む、本発明1065～1068のいずれかのポリペプチド。

[本発明1070]

TCR- β 可変および定常領域を含む、本発明1069のポリペプチド。

[本発明1071]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1065～1070のいずれかのポリペプチド。

30

[本発明1072]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:124のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:124に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1071のポリペプチド
。

[本発明1073]

SEQ ID NO:134のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:134に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

[本発明1074]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1073のポリペプチド。

40

[本発明1075]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:132および133のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:132および133に対して少なくとも80%の配列同一性であるアミノ酸配列を有する、CDR1および/またはCDR2
を含む、本発明1074のポリペプチド。

[本発明1076]

可変領域が、アミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:130、またはSEQ ID NO:130に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1073～1075のいずれかのポリペプチド。

50

[本発明1077]

T細胞受容体アルファ(TCR-a)可変領域を含む、本発明1073～1076のいずれかのポリペプチド。

[本発明1078]

TCR-a可変および定常領域を含む、本発明1077のポリペプチド。

[本発明1079]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1073～1078のいずれかのポリペプチド。

[本発明1080]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:131のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:131に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1079のポリペプチド

。

[本発明1081]

SEQ ID NO:141のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:141に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むCDR3を含む抗原結合可変領域を含む、ポリペプチド。

[本発明1082]

可変領域がCDR1、CDR2、および/またはCDR3を含む、本発明1081のポリペプチド。

[本発明1083]

可変領域が、

それぞれSEQ ID NO:139およびSEQ ID NO:140のアミノ酸配列を有する、またはそれぞれSEQ ID NO:139およびSEQ ID NO:140に対して少なくとも80%の配列同一性を有する、CDR1および/またはCDR2を含む、本発明1082のポリペプチド。

[本発明1084]

可変領域が、SEQ ID NO:137のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:137に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1081～1083のいずれかのポリペプチド。

[本発明1085]

T細胞受容体アルファ(TCR-b)可変領域を含む、本発明1081～1084のいずれかのポリペプチド。

[本発明1086]

TCR-b可変および定常領域を含む、本発明1085のポリペプチド。

[本発明1087]

シグナルペプチドをさらに含む、本発明1081～1086のいずれかのポリペプチド。

[本発明1088]

シグナルペプチドが、SEQ ID NO:138のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:138に対して少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1087のポリペプチド

。

[本発明1089]

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:7のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:7に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR3、または

(ii) SEQ ID NO:14のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:14に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR3を含み、

かつTCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:21のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:21に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR3

10

20

30

40

50

を含む、
操作されたTCR。

[本発明1090]

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、本発明1089のTCR。

[本発明1091]

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:5のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:5に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1、または

(ii) SEQ ID NO:12のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:12に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1

を含み、

かつ/あるいはTCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:19のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:19に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1

を含む、

本発明1090のTCR。

[本発明1092]

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:6のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:6に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2、または

(ii) SEQ ID NO:13のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:13に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2

を含み、

かつ/あるいはTCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:20のアミノ酸配列を有する、またはSEQ ID NO:20に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2

を含む、

本発明1090または1091のTCR。

[本発明1093]

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、

(i) それぞれSEQ ID NO: 5、6、および7のアミノ酸配列、または

(ii) それぞれSEQ ID NO: 12、13、および14のアミノ酸配列

を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:19、20、および21のアミノ酸配列を含む、本発明1090～1092のいずれかのTCR

。

[本発明1094]

TCR-aポリペプチドが、

(i) SEQ ID NO:3のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:3に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列、または

(ii) SEQ ID NO:10のアミノ酸配列もしくはSEQ ID NO:10に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列

を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:17のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:17に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1090～1093のいずれかのTCR。

[本発明1095]

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:92のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:92に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、

10

20

30

40

50

かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:99のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:99に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

[本発明1096]

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、本発明1095のTCR。

[本発明1097]

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:90のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:90に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1

を含み、かつ/または

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:97のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:97に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1

を含む、

本発明1096のTCR。

[本発明1098]

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:91のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:91に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2

を含み、かつ/または

TCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:98のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:98に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2

を含む、

本発明1096または1097のTCR。

[本発明1099]

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:90、91、および92のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:97、98、および99のアミノ酸配列を含む、本発明1096～1098のいずれかのTCR。

[本発明1100]

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:88のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:88に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:95のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:95に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1096～1099のいずれかのTCR。

[本発明1101]

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:106のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:106に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:113のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:113に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

[本発明1102]

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、本発明1101のTCR。

[本発明1103]

TCR-aポリペプチドが、

10

20

30

40

50

SEQ ID NO:104のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:104に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含み、かつ/または

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:111のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:111に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含む、

本発明1102のTCR。

[本発明1104]

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:105のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:105に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2を含み、かつ/または

TCR-bポリペプチドが、

SEQ ID NO:112のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:112に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2を含む、

本発明1102または1103のTCR。

[本発明1105]

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:104、105、および106のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:111、112、および113のアミノ酸配列を含む、本発明1102～1104のいずれかのTCR。

[本発明1106]

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:102のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:102に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:109のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:109に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1102～1105のいずれかのTCR。

[本発明1107]

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:120のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:120に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:127のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:127に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

[本発明1108]

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、本発明1107のTCR。

[本発明1109]

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:118のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:118に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含み、かつ/または

TCR-aポリペプチドが、

SEQ ID NO:125のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:125に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1を含む、

本発明1108のTCR。

[本発明1110]

10

20

30

40

50

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:119のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:119に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含み、かつ/または
TCR-bポリペプチドが、
SEQ ID NO:126のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:126に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含む、
本発明1108または1109のTCR。

[本発明1111]

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:118、119、および120のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:125、126、および127のアミノ酸配列を含む、本発明1108~1110のいずれかのTCR。

[本発明1112]

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:116のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:116に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:123のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:123に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1108~1111のいずれかのTCR。

[本発明1113]

T細胞受容体(TCR)-aポリペプチドおよびTCR-bポリペプチドを含む、操作されたTCRであって、TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:134のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:134に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:141のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:141に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有するCDR3を含む、操作されたTCR。

[本発明1114]

CDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-bポリペプチド、ならびにCDR1、CDR2、およびCDR3を含む可変領域を含むTCR-aポリペプチドを含む、本発明1113のTCR。

[本発明1115]

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:132のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:132に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1
を含み、かつ/または

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:139のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:139に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR1
を含む、本発明1114のTCR。

[本発明1116]

TCR-aポリペプチドが、
SEQ ID NO:133のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:133に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含み、かつ/または

TCR-bポリペプチドが、
SEQ ID NO:140のアミノ酸配列を有する、もしくはSEQ ID NO:140に対して少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する、CDR2
を含む、

本発明1114または1115のTCR。

[本発明1117]

10

20

30

40

50

TCR-aポリペプチドのCDR1、CDR2、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:132、133、および134のアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドのCDR1、CDR3、およびCDR3が、それぞれSEQ ID NO:139、140、および141のアミノ酸配列を含む、本発明1114～1116のいずれかのTCR。

[本発明1118]

TCR-aポリペプチドが、SEQ ID NO:130のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:130に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつTCR-bポリペプチドが、SEQ ID NO:137のアミノ酸配列またはSEQ ID NO:137に対して少なくとも70%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、本発明1114～1117のいずれかのTCR。

[本発明1119]

修飾を含むか、またはキメラである、本発明1089～1118のいずれかのTCR。

[本発明1120]

TCR-bポリペプチドとTCR-aポリペプチドとが機能的に連結されている、本発明1089～1119のいずれかのTCR。

[本発明1121]

TCR-bポリペプチドとTCR-aポリペプチドとが、ペプチド結合によって機能的に連結されている、本発明1120のTCR。

[本発明1122]

一本鎖TCRである、本発明1121のTCR。

[本発明1123]

TCR-bポリペプチドおよびTCR-aポリペプチドが同じポリペプチド上にあり、かつTCR-bがTCR-aのアミノ近位にある、本発明1121のTCR。

[本発明1124]

TCR-bポリペプチドおよびTCR-aポリペプチドが同じポリペプチド上にあり、かつTCR-aがTCR-bのアミノ近位にある、本発明1121のTCR。

[本発明1125]

TCR-aポリペプチドとTCR-bポリペプチドとの間にリンカーを含む、本発明1122～1124のいずれかのTCR。

[本発明1126]

リンカーがグリシンおよびセリン残基を含む、本発明1125のTCR。

[本発明1127]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも60%の配列同一性を含む、ペプチド。

[本発明1128]

SEQ ID NO:22を含む、本発明1127のペプチド。

[本発明1129]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つについての少なくとも6個の連続するアミノ酸を含む、本発明1127のペプチド。

[本発明1130]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも7個の連続するアミノ酸を含む、本発明1127のペプチド。

[本発明1131]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも8個の連続するアミノ酸を含む、本発明1127のペプチド。

[本発明1132]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも9個の連続するアミノ酸を含む、本発明1127のペプチド。

[本発明1133]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドについての少なくとも10個の連続するアミノ酸を含む、本発明1127のペプチド。

10

20

30

40

50

[本発明1134]

13個のアミノ酸の長さであるか、またはそれより短い、本発明1127～1133のいずれかのペプチド。

[本発明1135]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも63%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1136]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも66%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1137]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも70%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1138]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも72%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1139]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも77%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1140]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも80%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1141]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも81%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1142]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも88%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1143]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する少なくとも90%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1144]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに対する100%の配列同一性を含む、本発明1127～1134のいずれかのペプチド。

[本発明1145]

9個のアミノ酸からなる、本発明1134～1144のいずれかのペプチド。

[本発明1146]

10個のアミノ酸からなる、本発明1134～1144のいずれかのペプチド。

[本発明1147]

11個のアミノ酸からなる、本発明1134～1144のいずれかのペプチド。

[本発明1148]

12個のアミノ酸からなる、本発明1134～1144のいずれかのペプチド。

[本発明1149]

13個のアミノ酸からなる、本発明1134～1144のいずれかのペプチド。

[本発明1150]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドからなる、本発明1127～1149のいずれかのペプチド。

[本発明1151]

免疫原性である、本発明1127～1150のいずれかのペプチド。

[本発明1152]

修飾されている、本発明1127～1151のいずれかのペプチド。

10

20

30

40

50

[本発明1153]

前記修飾が、ある分子とのコンジュゲーションを含む、本発明1152のペプチド。

[本発明1154]

前記分子が、抗体、脂質、アジュバント、または検出部分を含む、本発明1152または1153のペプチド。

[本発明1155]

SEQ ID NO:22~38のうちの1つを含むか、もしくはそれからなる、またはSEQ ID NO:22~38のうちの1つに対する少なくとも60%の配列同一性を含むペプチドを含むか、もしくはそれからなる、本発明1127~1154のいずれかのペプチド。

[本発明1156]

SEQ ID NO:22~81のうちの1つのペプチドに対して1、2、または3個の置換を有する、本発明1127~1155のいずれかのペプチド。

[本発明1157]

本発明1127~1156のいずれかのペプチドを含む、ポリペプチド。

[本発明1158]

少なくとも1つのMHCポリペプチドと、本発明1001~1157のいずれかのペプチドまたはポリペプチドとを含む、組成物。

[本発明1159]

前記MHCポリペプチドが、および/または前記ペプチドが、検出タグにコンジュゲートされている、本発明1158の組成物。

[本発明1160]

前記MHCポリペプチドと前記ペプチドとが機能的に連結されている、本発明1158または1159の組成物。

[本発明1161]

前記MHCポリペプチドと前記ペプチドとがペプチド結合によって機能的に連結されている、本発明1160の組成物。

[本発明1162]

前記MHCポリペプチドと前記ペプチドとがファンデルワールス力によって機能的に連結されている、本発明1161の組成物。

[本発明1163]

少なくとも2つのMHCポリペプチドが、1つのペプチドに連結されている、本発明1158~1162のいずれかの組成物。

[本発明1164]

MHCポリペプチド対ペプチドの平均比が4:1である、本発明1158~1163のいずれかの組成物。

[本発明1165]

本発明1127~のいずれかのペプチドまたは本発明1157のポリペプチドと、MHCポリペプチドとを含む、分子複合体。

[本発明1166]

本発明1127~1157のいずれかのペプチドもしくはポリペプチドまたは本発明1165の分子複合体に特異的に結合する、ペプチド特異的結合分子。

[本発明1167]

抗体、TCR模倣抗体、scFv、ラクダ科動物由来、アプタマー、またはDARPINである、本発明1166の結合分子。

[本発明1168]

(a) 免疫エフェクター細胞の出発集団を得る段階、および

(b) 免疫エフェクター細胞の出発集団を、本発明1127~1157のいずれかのペプチドもしくはポリペプチドまたは本発明1165の分子複合体と接触させる段階であって、それによりペプチド特異的免疫エフェクター細胞を作製する、段階を含む、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞を産生する方法。

10

20

30

40

50

[本発明1169]

コロナウイルスが、コウモリから単離されたコロナウイルスである、本発明1168の方法。

[本発明1170]

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、本発明1168または1169の方法。

[本発明1171]

接触させる段階が、免疫エフェクター細胞の出発集団を、抗原提示細胞(APC)、人工抗原提示細胞(aAPC)、または人工抗原提示表面(aAPS)と共培養すること、としてさらに定義され、ここでAPC、aAPC、またはaAPSが、その表面に前記ペプチドを提示する、本発明1168~1170のいずれかの方法。

10

[本発明1172]

APCが樹状細胞である、本発明1171の方法。

[本発明1173]

免疫エフェクター細胞が、T細胞、末梢血リンパ球、NK細胞、インバリアントNK細胞、NKT細胞である、本発明1168~1172のいずれかの方法。

[本発明1174]

免疫エフェクター細胞が、間葉系幹細胞(MSC)または人工多能性幹(iPS)細胞から分化されている、本発明1168~1173のいずれかの方法。

20

[本発明1175]

T細胞が、 $CD8^+$ T細胞、 $CD4^+$ T細胞、または $\gamma\delta$ T細胞である、本発明1173の方法。

[本発明1176]

T細胞が細胞傷害性Tリンパ球(CTL)である、本発明1173の方法。

[本発明1177]

得る段階が、末梢血単核細胞(PBMC)から免疫エフェクター細胞の出発集団を単離することを含む、本発明1168~1176のいずれかの方法。

[本発明1178]

免疫エフェクター細胞の出発集団が対象から得られる、本発明1168~1177のいずれかの方法。

[本発明1179]

対象がヒトである、本発明1178の方法。

30

[本発明1180]

対象が、コロナウイルス感染症を有する、本発明1179の方法。

[本発明1181]

コロナウイルス感染症がCOVID-19またはSARSを含む、本発明1180の方法。

[本発明1182]

対象が、コロナウイルス感染症の1つまたは複数の症状を有する、本発明1168~1181のいずれかの方法。

[本発明1183]

対象が、コロナウイルス感染症のいかなる症状も有しない、本発明1168~1181のいずれかの方法。

40

[本発明1184]

対象が、コロナウイルス感染症と診断されている、本発明1168~1181のいずれかの方法。

[本発明1185]

対象が、コロナウイルス感染症と診断されていない、本発明1178~1183のいずれかの方法。

[本発明1186]

対象が、コロナウイルス感染症について以前に処置されている、本発明1178~1185のいずれかの方法。

50

[本発明1187]

共培養の前に、前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸を樹状細胞に導入する段階をさらに含む、本発明1178～1186のいずれかの方法。

[本発明1188]

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、エレクトロポレーションにより導入される、本発明1187の方法。

[本発明1189]

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、樹状細胞培養培地に前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸を添加することにより導入される、本発明1187の方法。

[本発明1190]

免疫エフェクター細胞が、前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が導入された樹状細胞の第2の集団と共培養される、本発明1187～1189のいずれかの方法。

[本発明1191]

共培養の後に、免疫エフェクター細胞から、CD8またはCD4陽性かつコロナウイルスペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団が精製される、本発明1187～1190のいずれかの方法。

[本発明1192]

コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団が、限界希釈または連続希釈、続いて急速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって作製される、本発明1191の方法。

[本発明1193]

ペプチド特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団からのT細胞受容体(TCR)のクローニングをさらに含む、本発明1192の方法。

[本発明1194]

TCRのクローニングが、TCR α 鎖および β 鎖のクローニングである、本発明1193の方法。

[本発明1195]

TCRが、5'-cDNA末端迅速増幅(RACE)法を用いてクローニングされる、本発明1193または本発明1194の方法。

[本発明1196]

クローニングされたTCRが、発現ベクターにサブクローニングされる、本発明1195の方法。

[本発明1197]

発現ベクターがレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、本発明1196の方法。

[本発明1198]

発現ベクターを宿主細胞に形質導入して、TCRを発現する操作された細胞を作製する段階をさらに含む、本発明1196または1197の方法。

[本発明1199]

宿主細胞が免疫細胞である、本発明1198の方法。

[本発明1200]

免疫細胞がT細胞であり、かつ操作された細胞が、操作されたT細胞である、本発明1168～1199のいずれかの方法。

[本発明1201]

T細胞が、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、または $\gamma\delta$ T細胞であり、かつ操作された細胞が、操作されたT細胞である、本発明1200の方法。

[本発明1202]

免疫エフェクター細胞の出発集団が、SARS-CoV-2感染症を有する対象から得られ、かつ宿主細胞が対象に対して同種または自家である、本発明1168～1201のいずれかの

10

20

30

40

50

方法。

[本発明1203]

CD8またはCD4陽性かつペプチドMHC四量体陽性の操作されたT細胞の集団が、形質導入された宿主細胞から精製される、本発明1198～1202のいずれかの方法。

[本発明1204]

ペプチド特異的な操作されたT細胞のクローン集団が、限界希釈または連続希釈、続いて迅速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって作製される、本発明1168～1203のいずれかの方法。

[本発明1205]

(a) 免疫エフェクター細胞の出発集団を得る段階、
(b) 免疫エフェクター細胞の出発集団を、本発明1216～1157のいずれかのコロナウイルスペプチドまたはポリペプチドと接触させる段階であって、それによりコロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞を作製する、段階、
(c) 該コロナウイルスペプチドに特異的な免疫エフェクター細胞を精製する段階、
(d) 精製された免疫エフェクター細胞からTCR配列を単離する段階
を含む、コロナウイルスT細胞受容体(TCR)をクローニングする方法。

[本発明1206]

コロナウイルスが、コウモリから単離されたコロナウイルスである、本発明1205の方法。

[本発明1207]

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、本発明1205または1206の方法。

[本発明1208]

接触させる段階が、免疫エフェクター細胞の出発集団を、抗原提示細胞(APC)と共培養すること、としてさらに定義され、ここでAPCが、その表面に前記コロナウイルスペプチドを提示する、本発明1206～1207のいずれかの方法。

[本発明1209]

APCが樹状細胞である、本発明1208の方法。

[本発明1210]

免疫エフェクター細胞が、T細胞、末梢血リンパ球、NK細胞、インバリアントNK細胞、NKT細胞である、本発明1205～1209のいずれかの方法。

[本発明1211]

免疫エフェクター細胞が、間葉系幹細胞(MSC)または人工多能性幹(iPS)細胞から分化されている、本発明1205～1210のいずれかの方法。

[本発明1212]

T細胞が、CD8⁺ T細胞、CD4⁺ T細胞、または $\gamma\delta$ T細胞である、本発明1210または1211の方法。

[本発明1213]

T細胞が細胞傷害性Tリンパ球(CTL)である、本発明1210～1212のいずれかの方法。

[本発明1214]

得る段階が、末梢血単核細胞(PBMC)から免疫エフェクター細胞の出発集団を単離することを含む、本発明1205～1213のいずれかの方法。

[本発明1215]

免疫エフェクター細胞の出発集団が対象から得られる、本発明1205～1214のいずれかの方法。

[本発明1216]

対象がヒトである、本発明1215の方法。

[本発明1217]

対象が、コロナウイルス感染症を有する、本発明1215または1216の方法。

[本発明1218]

10

20

30

40

50

対象が、COVID-19またはSARSを有する、本発明1217の方法。

[本発明1219]

共培養の前に、前記コロナウイルスペプチドまたは前記コロナウイルスペプチドをコードする核酸を樹状細胞に導入する段階をさらに含む、本発明1205～1218のいずれかの方法。

[本発明1220]

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、エレクトロポレーションにより導入される、本発明1219の方法。

[本発明1221]

前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸が、樹状細胞の培地に前記ペプチドまたは前記ペプチドをコードする核酸を添加することにより導入される、本発明1219の方法。

[本発明1222]

免疫エフェクター細胞が、前記コロナウイルスペプチドまたは前記コロナウイルスペプチドをコードする核酸が導入された樹状細胞の第2の集団と共培養される、本発明1219の方法。

[本発明1223]

精製する段階が、共培養の後に、免疫エフェクター細胞から、CD8陽性かつコロナウイルスペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団を精製すること、として定義される、本発明1219の方法。

[本発明1224]

CD8陽性かつコロナウイルスペプチドMHC四量体陽性T細胞の集団が、蛍光活性化細胞選別(FACS)によって精製される、本発明1223の方法。

[本発明1225]

精製する段階が、選別された細胞の限界希釈または連続希釈、続いて迅速拡大増殖プロトコルによる個々のクローンの拡大増殖によって、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団を作製することをさらに含む、本発明1224の方法。

[本発明1226]

単離する段階が、コロナウイルス特異的免疫エフェクター細胞のクローン集団からのT細胞受容体(TCR)のクローニングとして定義される、本発明1225の方法。

[本発明1227]

TCR α 遺伝子および/もしくは β 遺伝子を配列決定する段階、ならびに/またはパラトープホットスポット(GLIPH)分析によるリンパ球相互作用のグループ化を実施する段階をさらに含む、本発明1205～1226のいずれかの方法。

[本発明1228]

TCRのクローニングが、TCR α 鎖および β 鎖のクローニングである、本発明1226または1227の方法。

[本発明1229]

TCR α 鎖および β 鎖が、5'-cDNA末端迅速増幅(RACE)法を用いてクローニングされる、本発明1228の方法。

[本発明1230]

クローニングされたTCRが、発現ベクターにサブクローニングされる、本発明1229の方法。

[本発明1231]

発現ベクターが、TCR α 配列とTCR β 配列との間にリンカードメインを含む、本発明1230の方法。

[本発明1232]

リンカードメインが、1つまたは複数のペプチド切断部位をコードする配列を含む、本発明1231の方法。

[本発明1233]

10

20

30

40

50

1つまたは複数の切断部位が、フーリン切断部位および/またはP2A切断部位である、本発明1232の方法。

[本発明1234]

TCR α 配列とTCR β 配列とがIRES配列によって連結される、本発明1233の方法。

[本発明1235]

発現ベクターがレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、本発明1230～1234のいずれかの方法。

[本発明1236]

TCR α 鎖および β 鎖を発現する操作された細胞を作製するために、発現ベクターが宿主細胞に形質導入される、本発明1235の方法。

[本発明1237]

宿主細胞が免疫細胞である、本発明1236の方法。

[本発明1238]

本発明1168～1267のいずれかの方法によって產生される、コロナウイルスに特異的な操作されたT細胞。

[本発明1239]

本発明1168～1237のいずれかの方法によって產生される、TCR。

[本発明1240]

本発明1089～1126もしくは1239のいずれかのTCRまたはそのペプチド結合断片と、CD3結合領域とを含む、融合タンパク質。

[本発明1241]

CD3結合領域が、CD3特異的断片抗原結合(Fab)、一本鎖可変断片(scFv)、単ドメイン抗体、または一本鎖抗体を含む、本発明1240の融合タンパク質。

[本発明1242]

検出剤または治療剤にコンジュゲートされている、本発明1089～1126もしくは1239のいずれかのTCRまたは本発明1240もしくは1241の融合タンパク質。

[本発明1243]

前記剤が、蛍光分子、放射性分子、または毒素を含む、本発明1242のTCRまたは融合タンパク質。

[本発明1244]

本発明1001～1088もしくは1157のいずれかのポリペプチド、本発明1089～1126、1239、1242、もしくは1243のいずれかのTCR、本発明1127～1156のいずれかのペプチド、または本発明1240～1243のいずれかの融合タンパク質をコードする、核酸。

[本発明1245]

RNAである、本発明1244の核酸。

[本発明1246]

前記ペプチドもしくはポリペプチドをコードする、または前記ペプチドもしくはポリペプチドの相補体をコードするDNAまたはcDNAである、本発明1245の核酸。

[本発明1247]

SEQ ID NO:1、8、15、またはその断片に対して少なくとも70%の配列同一性を有する、本発明1244の核酸。

[本発明1248]

本発明1244～1247のいずれかの核酸を含む、核酸発現ベクター。

[本発明1249]

核酸の発現を指令するプロモーターを含む、本発明1248のベクター。

[本発明1250]

プロモーターがマウス幹細胞ウイルス(MSCV)プロモーターを含む、本発明1249のベクター。

[本発明1251]

10

20

30

40

50

TCR-aおよびTCR-b遺伝子を含む、本発明1248～1250のいずれかのベクター。

[本発明1252]

本発明1001～1088もしくは1157のいずれかのポリペプチド、本発明1089～1126、1239、1242、もしくは1243のいずれかのTCR、本発明1127～1156のいずれかのペプチド、本発明1240～1243のいずれかの融合タンパク質、本発明1244～1247のいずれかの核酸、または本発明1248～1252のいずれかのベクターを含む、細胞。

[本発明1253]

幹細胞、前駆細胞、免疫細胞、またはナチュラルキラー(NK)細胞を含む、本発明1252の細胞。

[本発明1254]

造血幹細胞もしくは造血前駆細胞、T細胞、間葉系幹細胞(MSC)から分化した細胞、または人工多能性幹細胞(iPSC)を含む、本発明1252の細胞。

[本発明1255]

末梢血単核細胞(PBMC)から単離または誘導される、本発明1252～1254のいずれかの細胞。

[本発明1256]

T細胞が、細胞傷害性Tリンパ球(CTL)、CD8⁺T細胞、CD4⁺T細胞、不変NK T (iNKT)細胞、ガンマ-デルタT細胞、NKT細胞、または調節性T細胞を含む、本発明1252～1255のいずれかの細胞。

[本発明1257]

SARS-CoV-2を有する対象から単離される、本発明1252～1256のいずれかの細胞。

[本発明1258]

本発明1127～1157のいずれかのペプチドもしくはポリペプチド、本発明1244～1247のいずれかの核酸、または本発明1248～1252のいずれかのベクターを含む、インビトロで単離された樹状細胞。

[本発明1259]

成熟樹状細胞である、本発明1258の樹状細胞。

[本発明1260]

HLA-A、HLA-B、またはHLA-C型を有する細胞である、本発明1258または1259の樹状細胞。

[本発明1261]

本発明1244～1247のいずれかの核酸または本発明1248～1252のいずれかのベクターを細胞に移入する段階を含む、細胞を作製する方法。

[本発明1262]

発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離する段階をさらに含む、本発明1261の方法。

[本発明1263]

本発明1127～1157のいずれかのペプチドまたはポリペプチドとT細胞とを共培養する段階を含む、治療用T細胞ワクチンを作製するためのインビトロの方法。

[本発明1264]

T細胞がCD8⁺T細胞を含む、本発明1263の方法。

[本発明1265]

前記ペプチドがMHCと複合体化されている、本発明1263または1264の方法。

[本発明1266]

MHCが、HLA-A、HLA-B、またはHLA-C型を含む、本発明1265の方法。

[本発明1267]

前記ペプチドが、樹状細胞、リンパ芽球様細胞、末梢血単核細胞(PBMC)、人工抗原提示細胞(aAPC)、または人工抗原提示表面に負荷されている、本発明1263～1266のいずれかの方法。

[本発明1268]

10

20

30

40

50

本発明1263～1267のいずれかの方法により作製される、T細胞。

[本発明1269]

SEQ ID NO:22～81のうちの1つのペプチドに特異的に結合するTCRを含む、T細胞。

[本発明1270]

CD8+ T細胞またはCD4+ T細胞を含む、本発明1268または1269のT細胞。

[本発明1271]

細胞傷害性Tリンパ球を含む、本発明1270のT細胞。

[本発明1272]

本発明1001～1088もしくは1157のいずれかのポリペプチド、本発明1089～1126、1239、1242、もしくは1243のいずれかのTCR、本発明1127～1156のいずれかのペプチド、本発明1165の分子複合体、本発明1166もしくは1167のペプチド特異的結合分子、本発明1238もしくは1268～1271のいずれかのペプチド特異的T細胞、または本発明1258～1260のいずれかの樹状細胞と、薬学的担体とを含む、薬学的組成物。

[本発明1273]

非経口投与、静脈内注射、筋肉内注射、吸入、または皮下注射のために製剤化されている、本発明1272の薬学的組成物。

[本発明1274]

前記ペプチドが、リポソーム、脂質含有ナノ粒子、または脂質ベースの担体の中に含まれる、本発明1272または1273の薬学的組成物。

[本発明1275]

注射のためにまたは鼻腔スプレーとしての吸入のために製剤化されている、本発明1272～1274のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1276]

ワクチンとして製剤化されている、本発明1272～1275のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1277]

アジュバントをさらに含む、本発明1272～1276のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1278]

無血清、マイコプラズマ不含、内毒素不含、および/または無菌であると決定されている、本発明1272～1277のいずれかの薬学的組成物。

[本発明1279]

本発明1244～1247のいずれかの核酸または本発明1248～1251のいずれかのベクターを細胞に移入する段階を含む、操作された細胞を作製する方法。

[本発明1280]

培地中で細胞を培養する段階、細胞の分裂を可能にする条件で細胞をインキュベートする段階、細胞をスクリーニングする段階、および/または細胞を凍結する段階をさらに含む、本発明1279の方法。

[本発明1281]

発現されたペプチドまたはポリペプチドを単離する段階をさらに含む、本発明1279または1280の方法。

[本発明1282]

本発明1158～1164もしくは1272～1278のいずれかの組成物または本発明1238もしくは1268～1271のいずれかの細胞を、その必要がある対象に投与する段階を含む、対象においてコロナウイルス感染症を処置または予防するための方法。

[本発明1283]

本発明1158～1164もしくは1272～1278のいずれかの組成物または本発明1238もしくは1268～1271のいずれかの細胞を対象に投与する段階を含む、対象において免疫応答を刺激する方法。

[本発明1284]

対象がヒト対象である、本発明1282または1283の方法。

[本発明1285]

10

20

30

40

50

細胞が自家である、本発明1282～1284のいずれかの方法。

[本発明1286]

細胞が同種である、本発明1282～1284のいずれかの方法。

[本発明1287]

対象が、コロナウイルス感染症の1つまたは複数の症状を有する、本発明1282または1284の方法。

[本発明1288]

対象が、コロナウイルス感染症のいかなる症状も有しない、本発明1282または1284の方法。

[本発明1289]

対象が、コロナウイルス感染症と診断されている、本発明1282～1288のいずれかの方法。

[本発明1290]

対象が、コロナウイルス感染症と診断されていない、本発明1282～1288のいずれかの方法。

[本発明1291]

対象が、コロナウイルス感染症について以前に処置されている、本発明1282～1290のいずれかの方法。

[本発明1292]

コロナウイルスが、コウモリから単離されたコロナウイルスを含む、本発明1282～1291のいずれかの方法。

[本発明1293]

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、本発明1292の方法。

[本発明1294]

COVID-19またはSARSを予防または処置する段階を含む、本発明1282～1293のいずれかの方法。

[本発明1295]

対象が、コロナウイルスに関連する合併症と診断されている、本発明1282～1294のいずれかの方法。

[本発明1296]

合併症が、肺炎、呼吸困難もしくは息切れ、胸痛もしくは胸部圧迫感、急性呼吸不全、急性呼吸窮迫症候群、急性心障害、二次感染、急性腎障害、敗血症性ショック、血餅、多系統炎症症候群、慢性疲労、横紋筋融解症、播種性血管内凝固、および/または急性肝障害を含む、本発明1295の方法。

[本発明1297]

対象が、コロナウイルスに対してワクチン接種される、本発明1282～1296のいずれかの方法。

[本発明1298]

対象が、コロナウイルスに対してワクチン接種されない、本発明1282～1296のいずれかの方法。

[本発明1299]

対象が、以前の処置に対して耐性または非応答性であると決定されている、本発明1291～1298のいずれか記載202の方法。

[本発明1300]

対象が、さらなる治療用物質を投与される、本発明1282～1299のいずれかの方法。

[本発明1301]

さらなる治療用物質が、ステロイドまたは抗ウイルス治療用物質を含む、本発明1300の方法。

[本発明1302]

さらなる治療用物質が、デキサメタゾン、モノクローナル抗体、レムデシビル、パクス

10

20

30

40

50

ロビド、モルヌピラビル、回復期血漿、またはそれらの組み合わせを含む、本発明1301の方法。

[本発明1303]

患者からの生物学的サンプルを、本発明1127～1157のいずれかのペプチドもしくはポリペプチドまたは本発明1165の分子複合体と接触させる段階を含む、患者を予後予測するための、または患者におけるT細胞応答を検出するための方法。

[本発明1304]

生物学的サンプルが、血液サンプルまたはその画分を含む、本発明1303の方法。

[本発明1305]

生物学的サンプルがリンパ球を含む、本発明1304の方法。

10

[本発明1306]

生物学的サンプルが、リンパ球を含む分画サンプルを含む、本発明1305の方法。

[本発明1307]

前記ペプチドが固体支持体に連結されている、本発明1303～1306のいずれかの方法。

[本発明1308]

前記ペプチドが、固体支持体にコンジュゲートされているか、または固体支持体にコンジュゲートされている抗体に結合されている、本発明1307の方法。

[本発明1309]

固体支持体が、マイクロプレート、ビーズ、ガラス表面、スライド、または細胞培養皿を含む、本発明1307の方法。

20

[本発明1310]

T細胞応答を検出することが、T細胞またはTCRへの前記ペプチドの結合を検出することを含む、本発明1303～1309のいずれかの方法。

[本発明1311]

T細胞応答を検出することが、ELISA、ELISPOT、または四量体アッセイを含む、本発明1303～1310のいずれかの方法。

[本発明1312]

対象が、コロナウイルスと診断されている、本発明1303～1311のいずれかの方法。

[本発明1313]

対象が、コロナウイルスに関連する合併症と診断されている、本発明1303～1312のいずれかの方法。

30

[本発明1314]

合併症が、肺炎、呼吸困難もしくは息切れ、胸痛もしくは胸部圧迫感、急性呼吸不全、急性呼吸窮迫症候群、急性心障害、二次感染、急性腎障害、敗血症性ショック、血餅、多系統炎症症候群、慢性疲労、横紋筋融解症、播種性血管内凝固、および/または急性肝障害を含む、本発明1313の方法。

[本発明1315]

対象が、コロナウイルスと診断されていない、本発明1303～1311、1313または1314のいずれかの方法。

[本発明1316]

対象が、コロナウイルスについてワクチン接種されている、本発明1303～1315のいずれかの方法。

40

[本発明1317]

コロナウイルスがSARS-CoVまたはSARS-CoV-2である、本発明1312～1316のいずれかの方法。

[本発明1318]

ワクチンの有効性を決定するためのものである、本発明1316または1317の方法。

[本発明1319]

本発明1158～1164のいずれかの組成物を、T細胞を含む組成物と接触させる段階、ならびに検出タグを検出することによって、結合したペプチドおよび/またはMHCポリペ

50

プチドを有するT細胞を検出する段階を含む、方法。

[本発明1320]

ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞の数を計数する段階をさらに含む、本発明1319の方法。

[本発明1321]

T細胞を含む組成物が、対象から単離されている、本発明1319または1320の方法。

[本発明1322]

対象がヒト対象である、本発明1321の方法。

[本発明1323]

対象が、SARS-CoV-2感染症の1つまたは複数の症状を有する、本発明1321または1322の方法。

[本発明1324]

対象が、SARS-CoV-2感染症のいかなる症状も有しない、本発明1321～1323のいずれかの方法。

[本発明1325]

対象が、SARS-CoV-2感染症と診断されている、本発明1321～1324のいずれかの方法。

[本発明1326]

対象が、SARS-CoV-2感染症と診断されていない、本発明1321～1324のいずれかの方法。

[本発明1327]

対象が、SARS-CoV-2感染症について以前に処置されている、本発明1321～1326のいずれかの方法。

[本発明1328]

対象が、以前の処置に対して耐性または非応答性であると決定されている、本発明1202の方法。

[本発明1329]

ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞の数を選別する段階をさらに含む、本発明1319～1328のいずれかの方法。

[本発明1330]

ペプチドおよび/またはMHCと結合したT細胞からの1つまたは複数のTCR遺伝子を配列決定する段階をさらに含む、本発明1329の方法。

[本発明1331]

パラトープホットスポット(GLIPH)分析によるリンパ球相互作用のグループ化を行う段階をさらに含む、本発明1330の方法。

[本発明1332]

本発明1127～1157のいずれかのペプチドまたはポリペプチドを容器中に含む、キット。

[本発明1333]

前記ペプチドが、薬学的調製物中に含まれる、本発明1332のキット。

[本発明1334]

薬学的調製物が、非経口投与または吸入のために製剤化されている、本発明1333のキット。

[本発明1335]

前記ペプチドが、細胞培養培地中に含まれる、本発明1332のキット。

本発明の他の目的、特徴、および利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。しかしながら、詳細な説明および具体的な実施例は、本発明の特定の態様を示しているが、この詳細な説明から本発明の趣旨および範囲の中でさまざまな修正および変更が当業者には明らかになるので、例示にすぎないことが理解されるはずである。

【手続補正3】

10

20

30

40

50

【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】0268
【補正方法】変更
【補正の内容】
【0268】
(表1)

結果のまとめ:	生産的なTRA再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAV17*01 F	スコア = 1330	同一性 = 100.00% (267/267 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAJ50*01 F	スコア = 273	同一性 = 95.00% (57/60 nt)
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.34.11]	[5.7.11]	CATAQTSYDKVIF (SEQ ID NO:82)

10

【手続補正4】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】0269
【補正方法】変更
【補正の内容】
【0269】
(表2)

結果のまとめ:	生産的なTRA再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAV38-2/DV8*01 F	スコア = 1375	同一性 = 100.00% (276/276 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRAJ40*01 F	スコア = 253	同一性 = 94.64% (53/56 nt)
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.34.11]	[7.8.11]	CAYRSGGTYKYIF (SEQ ID NO:150)

30

【手続補正5】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】0270
【補正方法】変更
【補正の内容】
【0270】
(表3)

40

50

結果のまとめ:	生産的なTRB再編成配列 (終止コドンおよびインフレーム接合部なし)		
V遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBV9*02 F	スコア = 1360	同一性 = 100.00% (273/273 nt)
J遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBJ2-1*01 F	スコア = 241	同一性 = 98.00% (49/50 nt)
IMGT/接合部分析によるD遺伝子および対立遺伝子	Homsap TRBD1*01 F	D領域は読み枠2にある	
FR-IMGT長、CDR-IMGT長、およびAA接合部	[26.17.37.10]	[5.6.13]	CASSVEGPTYNEQF F (SEQ ID NO:83)

10

【手続補正 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0322

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0322】

20

MGP-65 TCRレトロウイルスベクターの構築およびレトロウイルスの作製: MGP-65 特異的T細胞に由来するTCR α 鎖および β 鎖の全長cDNAを、フォーリン-SGSG-P2A (SEQ ID NO:178)自己切断リンカーペプチドでアSEMBルして、両鎖の均等な発現を可能にした(Wargo et al., 2009)。外因性TCR α 鎖と β 鎖との間のペアリングを改善し、内因性ヒト α 鎖と β 鎖とのミスペアリングを低減するために、以前の報告(Kuball et al., 2007)にしたがってTCR α 鎖と β 鎖の両方の定常ドメインにCys変異を導入した。さらに、外因性TCRの発現レベルを増強するために、コドン最適化を実施し、GenScript (NJ, USA)によって最適化されたTCR配列を合成した。TCR断片全体を、遺伝子発現を駆動するためにMSCV末端反復配列(LTR)を利用するレトロウイルスベクターpMSGV1にクローニングした。

30

【手続補正 7】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図8-2

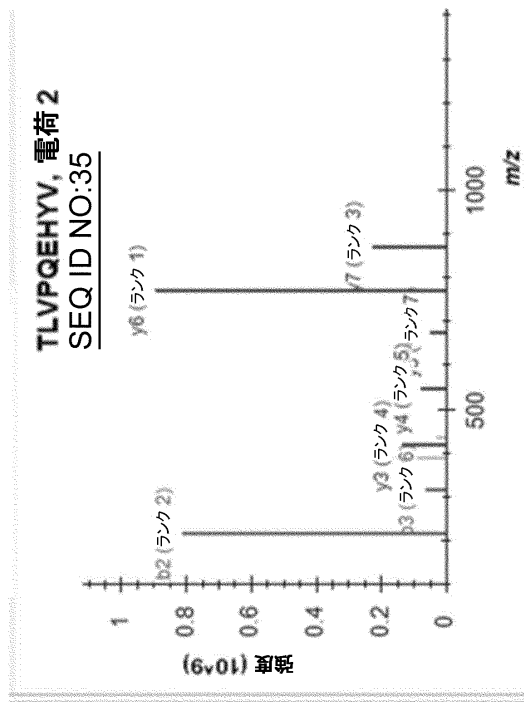
【補正方法】変更

【補正の内容】

40

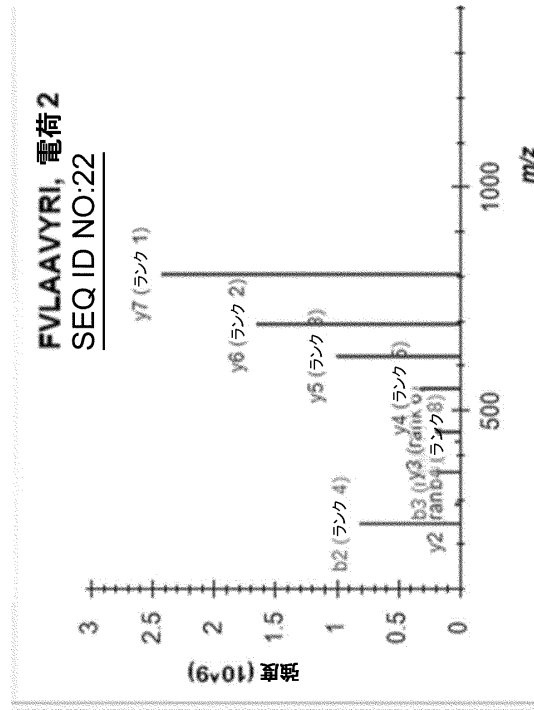
50

【 図 8 - 3 】



(185)

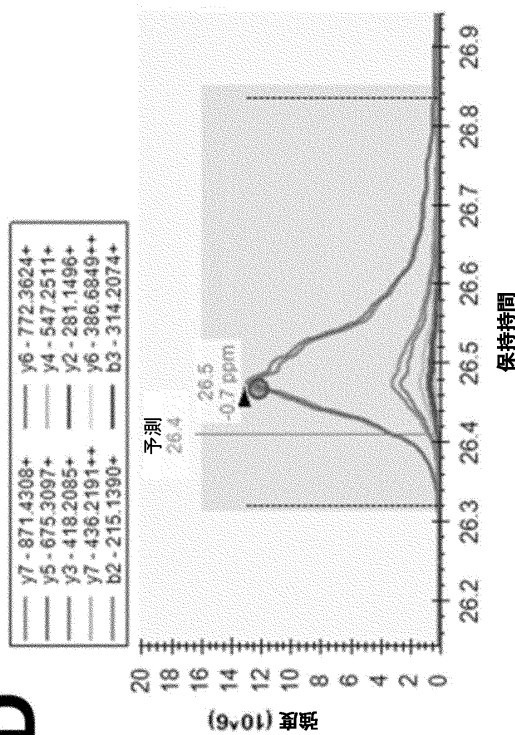
JP 2024-514477 A 2024.4.2



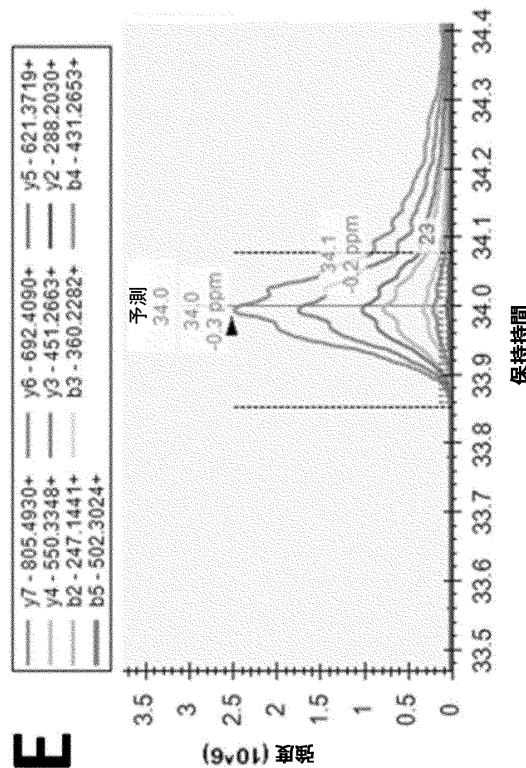
10

20

D



E



30

40

【 手続補正 9 】
【 補正対象書類名 】 図面
【 補正対象項目名 】 図 8 - 4
【 補正方法 】 変更
【 補正の内容 】

50

【図 8 - 4】

F

SARS-CoV-2	P	A	E	I	V	D	T	V	S	A	L	V	Y	D	N	<u>SEQ ID NO:151</u>
SARS-CoV	P	A	E	I	V	D	T	V	S	A	L	V	Y	D	N	<u>SEQ ID NO:151</u>
MERS-CoV	P	K	E	I	V	S	T	V	S	A	L	V	Y	N	N	<u>SEQ ID NO:152</u>
HCoV-229E	P	A	E	I	V	N	T	V	S	E	L	V	Y	E	N	<u>SEQ ID NO:153</u>
HCoV-NL63	P	A	E	I	V	N	T	V	S	E	L	V	Y	E	N	<u>SEQ ID NO:153</u>
HCoV-OC43	P	K	E	I	V	D	T	V	S	A	L	V	Y	E	N	<u>SEQ ID NO:154</u>
HCoV-HKU1	P	K	E	I	V	E	T	V	S	A	L	V	Y	D	N	<u>SEQ ID NO:155</u>

448 452 456

10

G

SARS-CoV-2	S	A	P	T	L	V	P	Q	E	H	Y	V	R	I	T	<u>SEQ ID NO:156</u>
SARS-CoV	S	A	P	T	L	V	P	Q	E	H	Y	V	R	I	T	<u>SEQ ID NO:156</u>
MERS-CoV	T	A	P	T	I	V	N	Q	E	R	Y	V	K	I	T	<u>SEQ ID NO:157</u>
HCoV-229E	R	A	P	T	M	A	N	Q	E	K	Y	S	T	I	Y	<u>SEQ ID NO:158</u>
HCoV-NL63	R	A	P	T	I	A	N	Q	E	K	Y	S	S	I	Y	<u>SEQ ID NO:159</u>
HCoV-OC43	S	A	P	T	L	V	P	Q	E	N	Y	S	S	I	R	<u>SEQ ID NO:160</u>
HCoV-HKU1	S	A	P	T	L	V	P	Q	E	N	Y	A	S	I	R	<u>SEQ ID NO:161</u>

239 243 247 251

20

H

SARS-CoV-2	E	R	L	K	L	F	A	A	E	T	L	K	A	T	E	<u>SEQ ID NO:162</u>
SARS-CoV	E	R	L	K	L	F	A	A	E	T	L	K	A	T	E	<u>SEQ ID NO:162</u>
MERS-CoV	E	P	L	K	L	F	A	A	E	T	L	R	A	T	E	<u>SEQ ID NO:163</u>
HCoV-229E	E	S	L	R	L	F	A	A	E	T	V	K	A	K	E	<u>SEQ ID NO:164</u>
HCoV-NL63	D	T	L	R	L	F	A	A	E	T	I	K	A	K	E	<u>SEQ ID NO:165</u>
HCoV-OC43	E	R	L	K	L	F	A	A	E	T	Q	K	A	T	E	<u>SEQ ID NO:166</u>
HCoV-HKU1	E	R	L	K	L	F	A	A	E	T	Q	K	A	T	E	<u>SEQ ID NO:166</u>

134 138 142

30

40

【手続補正 1 0】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 8 - 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

50

【図 8 - 5】

I

SARS-CoV-2	K	H	Y	V	Y	I	G	D	P	A	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:167</u>
SARS-CoV	K	H	Y	V	Y	I	G	D	P	A	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:167</u>
MERS-CoV	K	H	I	V	Y	V	G	D	P	A	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:168</u>
HCoV-229E	K	H	I	V	Y	V	G	D	P	Q	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:169</u>
HCoV-NL63	K	H	I	V	Y	V	G	D	P	Q	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:169</u>
HCoV-OC43	K	H	Y	V	Y	I	G	D	P	A	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:170</u>
HCoV-HKU1	K	H	Y	V	Y	I	G	D	P	A	Q	L	P	A	P	<u>SEQ ID NO:170</u>

397402407

10

J

SARS-CoV-2	A	C	F	V	L	A	A	V	Y	-	-	R	I	N	W	<u>SEQ ID NO:171</u>
SARS-CoV	A	C	F	V	L	A	A	V	Y	-	-	R	I	N	W	<u>SEQ ID NO:171</u>
MERS-CoV	A	L	S	I	F	S	A	V	Y	-	-	P	I	D	L	<u>SEQ ID NO:172</u>
HCoV-229E	A	L	S	I	F	D	T	W	A	N	W	D	S	N	W	<u>SEQ ID NO:173</u>
HCoV-NL63	A	L	S	I	F	D	C	F	V	N	F	N	V	D	W	<u>SEQ ID NO:174</u>
HCoV-OC43	I	L	T	I	F	N	C	V	Y	-	-	A	L	N	N	<u>SEQ ID NO:175</u>
HCoV-HKU1	T	L	T	I	F	N	C	F	Y	-	-	A	L	N	N	<u>SEQ ID NO:176</u>

63677175

20

30

【手続補正 1 1】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図 8 - 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

40

50

【圖 8 - 7】

	SEQ ID NO:36	SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:37	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:22
	NSP13-134	NSP13-242	NSP13-400	NSP13-448	MGP-65
	134	134	368	448	458
	135	242	341	448	457
	136	243	250	448	456
	137	244	249	448	455
	138	245	248	448	454
	139	246	247	448	453
	140	247	406	448	452
	141	248	405	448	451
	142	249	404	448	450
	143	250	403	448	449
	144	251	402	448	448
	145	252	401	448	447
	146	253	400	448	446
	147	254	399	448	445
	148	255	398	448	444
	149	256	397	448	443
	150	257	396	448	442
	151	258	395	448	441
	152	259	394	448	440
	153	260	393	448	439
	154	261	392	448	438
	155	262	391	448	437
	156	263	390	448	436
	157	264	389	448	435
	158	265	388	448	434
	159	266	387	448	433
	160	267	386	448	432
	161	268	385	448	431
	162	269	384	448	430
	163	270	383	448	429
	164	271	382	448	428
	165	272	381	448	427
	166	273	380	448	426
	167	274	379	448	425
	168	275	378	448	424
	169	276	377	448	423
	170	277	376	448	422
	171	278	375	448	421
	172	279	374	448	420
	173	280	373	448	419
	174	281	372	448	418
	175	282	371	448	417
	176	283	370	448	416
	177	284	369	448	415
	178	285	368	448	414
	179	286	367	448	413
	180	287	366	448	412
	181	288	365	448	411
	182	289	364	448	410
	183	290	363	448	409
	184	291	362	448	408
	185	292	361	448	407
	186	293	360	448	406
	187	294	359	448	405
	188	295	358	448	404
	189	296	357	448	403
	190	297	356	448	402
	191	298	355	448	401
	192	299	354	448	400
	193	300	353	448	399
	194	301	352	448	398
	195	302	351	448	397
	196	303	350	448	396
	197	304	349	448	395
	198	305	348	448	394
	199	306	347	448	393
	200	307	346	448	392
	201	308	345	448	391
	202	309	344	448	390
	203	310	343	448	389
	204	311	342	448	388
	205	312	341	448	387
	206	313	340	448	386
	207	314	339	448	385
	208	315	338	448	384
	209	316	337	448	383
	210	317	336	448	382
	211	318	335	448	381
	212	319	334	448	380

【手續補正 1 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2024514477000001.app

10

20

30

40

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/2324

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 39/12, G01N 33/68, A61P 37/04, A61P 31/20, C07K 14/005 (2022.01)

CPC - C07K 14/005, C07K 14/7051, C07K 2317/565, C07K 14/70539

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)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2019/133853 A1 (GRITSTONE ONCOLOGY INC.) 04 July 2019 (04.07.2019) Claim 75; Claim 78; TCR ID#213	1-4, 17-20, 89-92
A	WO 2019/036688 A1 (GRITSTONE ONCOLOGY INC. et al.) 21 February 2019 (21.02.2019) Claim 54; SEQ ID NO 4219	1-4, 17-20, 89-92

☐ 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

"D" document cited by the applicant in the international application

"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

26 June 2022

Date of mailing of the international search report

SEP 14 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/22324

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

International application No.

PCT/US 22/22324

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

continuation of item 3*
85-88, 93-94, 99-100, 105-108, 111-112, 117-128, 135-268, 270-335

3. ☒ Claims Nos.: claims 5-8, 13-16, 21-24, 29-32, 37-40, 45-48, 53-56, 61-64, 69-72, 77-80, (see continuation because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
---Please see continuation in first extra sheet---

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-4, 17-20, 89-92, limited to a TCR comprising TCRalpha of SEQ ID NO:3 comprising CDR3 of SEQ ID NO:7, and TCRbeta of SEQ ID NO:17, comprising CDR3 of SEQ ID NO:21

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/22324

Continuation of Box No. III. Observations where unity of invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+, claims 1-4, 9-12, 17-20, 25-28, 33-36, 41-44, 49-52, 57-60, 65-68, 73-76, 81-84, 89-92, 95-98, 101-104, 107-110, 113-116 directed to an engineered T-cell Receptor (TCR). The TCR will be searched to the extent that the TCR encompasses a TCR-a polypeptide and a TCR-b polypeptide, wherein the TCR-a polypeptide comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:3, comprising a CDR1 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:5, a CDR2 with the amino acid sequence of SEQ ID NO: 6, and a CDR3 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:7, and the TCR-b polypeptide comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:17, comprising a CDR1 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:19 a CDR2 with the amino acid sequence of SEQ ID NO: 20, and a CDR3 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:21 (note, these are the first claimed sequences for TCR alpha and beta chain polypeptides). The first named invention was determined based on the first claimed TCR alpha and beta chain CDR3 polypeptides for the inventive polypeptide embodiment. This first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. It is believed that claims 1-4, 17-20, 89-92 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the TCR encompasses a TCR-a polypeptide and a TCR-b polypeptide, wherein the TCR-a polypeptide comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:3, comprising a CDR1 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:5, a CDR2 with the amino acid sequence of SEQ ID NO: 6, and a CDR3 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:7, and the TCR-b polypeptide comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:17, comprising a CDR1 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:19 a CDR2 with the amino acid sequence of SEQ ID NO: 20, and a CDR3 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:21. Additional TCR polypeptide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected TCR polypeptide(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a TCR comprising a TCR-a polypeptide and a TCR-b polypeptide, wherein the TCR-a polypeptide comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:10, comprising a CDR1 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:12, a CDR2 with the amino acid sequence of SEQ ID NO: 13, and a CDR3 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:14, and the TCR-b polypeptide comprises the amino acid sequence of SEQ ID NO:17, comprising a CDR1 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:19 a CDR2 with the amino acid sequence of SEQ ID NO: 20, and a CDR3 with the amino acid sequence of SEQ ID NO:21 (claims 9-12, 17-20, 89-92).

Group II+, claims 127-134, directed to a peptide. Group II+ will be searched upon payment of additional fees. The peptide may be searched, for example, to encompass peptide of SEQ ID NO:22 for an additional fee and election as such. It is believed that claims 127-134 read on this exemplary invention. Additional peptide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected peptide(s). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Another exemplary election would be peptide of SEQ ID NO:23 (claims 127-134).

Group III+, claim 269, directed to a T cell comprising a TCR that specifically binds to a peptide. Group III+ will be searched upon payment of additional fees. The T cell may be searched, for example, to encompass a TCR that specifically binds to a peptide of SEQ ID NO: 22 for an additional fee and election as such. It is believed that claim 269 reads on this exemplary invention. Additional T cell(s) comprising a TCR that specifically binds to additional peptide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected T cell(s) comprising a TCR that specifically binds to additional peptide(s). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Another exemplary election would be a TCR that specifically binds to a peptide of SEQ ID NO: 23 (claims 269).

The inventions listed as Groups I+, II+ and III+ do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special technical features

The inventions of Groups I+, II+ and III+ each include the special technical feature of a unique amino acid sequence. Each amino acid sequence comprises a unique peptide, and is considered a distinct technical feature.

Additionally,

Group I+ has the special technical feature of an engineered T-cell Receptor (TCR) comprising a TCR-a polypeptide and a TCR-b polypeptide, that is not required by Groups II+ and III+.

Group II+ has the special technical feature of a peptide, that is not required by Groups I+ and III+.

Group III+ has the special technical feature of a T cell comprising a TCR that specifically binds to a peptide, that is not required by Groups I+ and II+.

-----please see continuation on next sheet-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/22324

Continuation of Box No. III. Observations where unity of invention is lacking.

-----continued from previous sheet -----

Common technical features

No technical features are shared between the peptide amino acid sequences in each of Groups I+, II+ and III+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+, II+ and III+ were considered to share the technical features of including: a peptide, this shared technical feature is previously disclosed by prior art, as discussed below.

Group I+ inventions additionally share the technical features of including: an engineered T-cell Receptor (TCR) comprising a TCR-a polypeptide and a TCR-b polypeptide, wherein the TCR-a polypeptide and TCR-b polypeptide each comprise a CDR1, CDR2, and CDR3 amino acid sequence.

However, these shared technical features are previously disclosed by US 2016/0263155 A1 to Leiden University Medical Center, (hereinafter 'LUMC').

LUMC teaches an engineered T-cell Receptor (TCR) comprising a TCR-a polypeptide and a TCR-b polypeptide, wherein the TCR-a polypeptide and TCR-b polypeptide each comprise a CDR1, CDR2, and CDR3 amino acid sequence (para [0035] - 'Recombinant T cell receptors, specific for a particular antigen, have been used to provide specificity to T cells, and to provide an antigen-specific immune response in patients. Certain methods involve the use of genetically modified T cells that express an antigen-specific protein having an extracellular domain that binds to an antigen.'; Claim 1 - 'A nucleic acid molecule comprising a CDR3-encoding polynucleotide, wherein: the CDR3-encoding polynucleotide encodes the CDR3 region of a T cell receptor that specifically binds to the preferentially expressed antigen in melanoma (PRAME); the CDR3-encoding polynucleotide comprises a first polynucleotide that encodes a first polypeptide comprising the CDR3 region of a TCRA polypeptide; the CDR3-encoding polynucleotide comprises a second polynucleotide that encodes a second polypeptide comprising the CDR3 region of a TCRb polypeptide; and the CDR3 region of the TCRA polypeptide and the CDR3 region of the TCR b polypeptide together specifically bind to PRAME.'; para [0061] - 'The variable domain of the alpha and beta polypeptides has three complementarity determining regions (CDRs); CDR3 is considered to be the main CDR responsible for recognizing the epitope.'; para [0062] - 'Under certain conditions, for example, in an immunoassay, for example an immunoassay discussed herein, the T cell receptor binds to PRAME and does not bind in a significant amount to other polypeptides.').

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Groups I+, II+ and III+ inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

Continuation of item 4 above: claims 5-8, 13-16, 21-24, 29-32, 37-40, 45-48, 53-56, 61-64, 69-72, 77-80, 85-88, 93-94, 99-100, 105-106, 111-112, 117-126, 135-268, 270-335 are held unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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 15/62 (2006.01)	C 1 2 N 15/62 Z	4 C 0 8 6
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 C 0 8 7
C 1 2 Q 1/6869(2018.01)	C 1 2 Q 1/6869 Z	4 H 0 4 5
C 1 2 N 15/867(2006.01)	C 1 2 N 15/867 Z	
A 6 1 P 31/14 (2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	
A 6 1 K 35/15 (2015.01)	A 6 1 K 35/15	
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 P 37/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 7/02 (2006.01)	A 6 1 P 7/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 3/02 (2006.01)	A 6 1 P 3/02	
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 K 39/39 (2006.01)	A 6 1 K 39/39	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 38/05 (2006.01)	A 6 1 K 38/05	
A 6 1 K 31/573(2006.01)	A 6 1 K 31/573	
A 6 1 K 31/664(2006.01)	A 6 1 K 31/664	
A 6 1 K 31/7068(2006.01)	A 6 1 K 31/7068	
A 6 1 K 39/395(2006.01)	A 6 1 K 39/395 M	
A 6 1 K 35/16 (2015.01)	A 6 1 K 35/16	
A 6 1 K 9/127(2006.01)	A 6 1 K 9/127	
A 6 1 K 9/72 (2006.01)	A 6 1 K 9/72	
G 0 1 N 33/536(2006.01)	G 0 1 N 33/536 B	
A 6 1 K 31/426(2006.01)	G 0 1 N 33/536 D	
A 6 1 K 31/4025(2006.01)	A 6 1 K 31/426	
C 0 7 K 16/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/4025	
C 1 2 N 15/115 (2010.01)	C 0 7 K 16/00	
C 1 2 N 5/0784(2010.01)	C 1 2 N 15/115 Z	
C 1 2 N 5/0775(2010.01)	C 1 2 N 5/0784	
C 0 7 K 14/165 (2006.01)	C 1 2 N 5/0775	
C 0 7 K 17/00 (2006.01)	C 0 7 K 14/165	
C 1 2 N 5/0789(2010.01)	C 0 7 K 17/00	
	C 1 2 N 5/0789	

(32)優先日 令和4年2月28日(2022.2.28)

(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. プルロニック

	弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人	100160923
	弁理士 山口 裕孝
(74)代理人	100119507
	弁理士 刑部 俊
(74)代理人	100142929
	弁理士 井上 隆一
(74)代理人	100148699
	弁理士 佐藤 利光
(74)代理人	100188433
	弁理士 梅村 幸輔
(74)代理人	100128048
	弁理士 新見 浩一
(74)代理人	100129506
	弁理士 小林 智彦
(74)代理人	100114340
	弁理士 大関 雅人
(74)代理人	100214396
	弁理士 塩田 真紀
(74)代理人	100121072
	弁理士 川本 和弥
(74)代理人	100221741
	弁理士 酒井 直子
(74)代理人	100114926
	弁理士 枝松 義恵
(72)発明者	イー カシアン
	アメリカ合衆国 7 7 0 3 0 テキサス州 ヒューストン ホルコム ブールバード 1 5 1 5 ユー.
	ティー. エム. ディー. アンダーソン キャンサー センター内
(72)発明者	パン ケ
	アメリカ合衆国 7 7 0 3 0 テキサス州 ヒューストン ホルコム ブールバード 1 5 1 5 ユー.
	ティー. エム. ディー. アンダーソン キャンサー センター内
(72)発明者	チウ ユルン
	アメリカ合衆国 7 7 0 3 0 テキサス州 ヒューストン ホルコム ブールバード 1 5 1 5 ユー.
	ティー. エム. ディー. アンダーソン キャンサー センター内
F ターム (参考)	4B063 QA01 QA13 QA18 QA19 QQ08 QQ42 QQ52 QR48 QS33
	4B065 AA90X AA90Y AA94X AA94Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44 CA46
	4C076 AA19 AA24 BB25 CC04 CC35
	4C084 AA19 BA01 BA09 BA14 BA23 ZA361 ZA541 ZA591 ZA751 ZA941
	ZB091 ZB111 ZB331 ZB332 ZB351 ZC032 ZC211 ZC751
	4C085 AA03 AA14 AA38 EE01 EE03 EE06 GG02 GG03 GG04 GG10
	4C086 AA01 AA02 DA10 DA34 EA16 MA02 MA04 NA05 ZA36 ZA54
	ZA59 ZA75 ZA81 ZA94 ZB11 ZB33 ZB35 ZC21 ZC75
	4C087 AA01 AA02 BB35 BB65 MA13 MA24 MA55 MA66 NA05 NA14
	ZA36 ZA54 ZA59 ZA75 ZA81 ZA94 ZB09 ZB11 ZB33 ZB35 ZC21
	ZC75
	4H045 AA10 AA30 BA41 BA60 BA70 BA71 BA72 CA01 CA40 DA50
	EA20 EA31 EA50 FA72 FA74