

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-534847

(P2024-534847A)

(43)公表日 令和6年9月26日(2024.9.26)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		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	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z	4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/86 (2006.01)	C 1 2 N	15/86	Z	4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全62頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-513196(P2024-513196)	(71)出願人	520358863
(86)(22)出願日	令和4年8月29日(2022.8.29)		オリセル セラピューティクス カンパニ
(85)翻訳文提出日	令和6年4月25日(2024.4.25)		ー リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/115590		中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハ
(87)国際公開番号	WO2023/030272		イ、ブードン ニュー エリア、チャンヘ
(87)国際公開日	令和5年3月9日(2023.3.9)		ン ロード ナンバー1 2 2 7、ビルデ
(31)優先権主張番号	202111004998.9		イング 1、フロア 3、ルーム 3 0 3
(32)優先日	令和3年8月30日(2021.8.30)	(74)代理人	110000796
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		弁理士法人三枝国際特許事務所
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(72)発明者	フー シャオウエン
	最終頁に続く		中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハ
		(72)発明者	イ ブードン チャンヘン ロード ナンバ
			ー 1 2 2 7 ビルディング 1 ルーム
			3 0 3
		(72)発明者	ジョウ チンツァイ
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗GPRC5D抗原結合タンパク質とその使用

(57)【要約】

本願は、1.0 μg/mLのEC₅₀値で共役型受容体ファミリーCグループ5メンバーD (GPRC5D) タンパク質を結合する、単離された抗原結合タンパク質に関する。本願はまた、前記抗原結合タンパク質のキメラ抗原受容体、および腫瘍の治療におけるそれらの用途に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1.0 μg/mL未満のEC₅₀値でGタンパク質共役型受容体クラスCグループ5メンバーD (GPRC5D) タンパク質に結合することができる、単離された抗原結合タンパク質。

【請求項 2】

抗体またはその抗原結合フラグメントを含む、請求項1に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 3】

前記抗原結合フラグメントはFab、Fab'、F(ab)₂、Fvフラグメント、F(ab')₂、scFv、di-scFv、VHHおよび/またはdAbを含む、請求項1～2のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

【請求項 4】

前記抗原結合フラグメントはVHHである、請求項2～3のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 5】

前記抗体はモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全ヒト抗体からなる群より選ばれる、請求項2～4のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 6】

参照抗体と競合して前記GPRC5Dタンパク質に結合することができ、ここで、前記参照抗体は抗体重鎖可変領域であるVHを含み、前記参照抗体のVHはHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含み、かつ、前記参照抗体は、次の群から選ばれる任意の一組のアミノ酸配列を含む、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質：

20

(1) HCDR1 : SEQ ID NO : 102、HCDR2 : SEQ ID NO : 103、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 104 ;

(2) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 107 ;

(3) HCDR1 : SEQ ID NO : 109、HCDR2 : SEQ ID NO : 110、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 111 ;

(4) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 114、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 115 ;

(5) HCDR1 : SEQ ID NO : 116、HCDR2 : SEQ ID NO : 117、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 118 ;

30

(6) HCDR1 : SEQ ID NO : 119、HCDR2 : SEQ ID NO : 120、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 121 ;

(7) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 124、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 125 ;

(8) HCDR1 : SEQ ID NO : 127、HCDR2 : SEQ ID NO : 128、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 129 ;

(9) HCDR1 : SEQ ID NO : 130、HCDR2 : SEQ ID NO : 131、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 132 ;

(10) HCDR1 : SEQ ID NO : 95、HCDR2 : SEQ ID NO : 96、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 97 ;

40

(11) HCDR1 : SEQ ID NO : 133、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 135 ;

(12) HCDR1 : SEQ ID NO : 136、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 137 ;

(13) HCDR1 : SEQ ID NO : 138、HCDR2 : SEQ ID NO : 139、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 140 ;

(14) HCDR1 : SEQ ID NO : 142、HCDR2 : SEQ ID NO : 143、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 144 ;

(15) HCDR1 : SEQ ID NO : 145、HCDR2 : SEQ ID NO : 146、およびHCDR3 :

50

SEQ ID NO : 147 ;
 (16) HCDR1 : SEQ ID NO : 148、HCDR2 : SEQ ID NO : 149、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 150 ;
 (17) HCDR1 : SEQ ID NO : 152、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 154 ;
 (18) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 155、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 156 ;
 (19) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 158 ;
 (20) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 160、およびHCDR3 : 10
 SEQ ID NO : 161 ;
 (21) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 162、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 163 ;
 (22) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 164、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 165 ;
 (23) HCDR1 : SEQ ID NO : 166、HCDR2 : SEQ ID NO : 167、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 168 ;
 (24) HCDR1 : SEQ ID NO : 169、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 170 ;
 (25) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 171、およびHCDR3 : 20
 SEQ ID NO : 172 ;
 (26) HCDR1 : SEQ ID NO : 174、HCDR2 : SEQ ID NO : 175、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 176 ;
 (27) HCDR1 : SEQ ID NO : 177、HCDR2 : SEQ ID NO : 178、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 179 ;
 (28) HCDR1 : SEQ ID NO : 180、HCDR2 : SEQ ID NO : 181、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 182 ;
 (29) HCDR1 : SEQ ID NO : 184、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 185 ;
 (30) HCDR1 : SEQ ID NO : 186、HCDR2 : SEQ ID NO : 187、およびHCDR3 : 30
 SEQ ID NO : 188 ;
 (31) HCDR1 : SEQ ID NO : 189、HCDR2 : SEQ ID NO : 190、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 191 ;
 (32) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 192、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 179 ;
 (33) HCDR1 : SEQ ID NO : 193、HCDR2 : SEQ ID NO : 194、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 195 ; および
 (34) HCDR1 : SEQ ID NO : 196、HCDR2 : SEQ ID NO : 197、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 198。

【請求項 7】

前記抗体重鎖可変領域VHに由来する少なくとも1つのCDRを含み、前記VHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

40

50

【請求項 8】

HCDR3を含み、かつ、前記HCDR3はSEQ ID NO : 215またはSEQ ID NO : 218に示すアミノ酸配列を含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 9】

HCDR3を含み、かつ、前記HCDR3は、SEQ ID NO : 97、SEQ ID NO : 104、SEQ ID NO : 107、SEQ ID NO : 111、SEQ ID NO : 115、SEQ ID NO : 118、SEQ ID NO : 121、SEQ ID NO : 125、SEQ ID NO : 129、SEQ ID NO : 132、SEQ ID NO : 135、SEQ ID NO : 137、SEQ ID NO : 140、SEQ ID NO : 144、SEQ ID NO : 147、SEQ ID NO : 150、SEQ ID NO : 154、SEQ ID NO : 156、SEQ ID NO : 158、SEQ ID NO : 161、SEQ ID NO : 163、SEQ ID NO : 165、SEQ ID NO : 168、SEQ ID NO : 170、SEQ ID NO : 172、SEQ ID NO : 176、SEQ ID NO : 179、SEQ ID NO : 182、SEQ ID NO : 185、SEQ ID NO : 188、SEQ ID NO : 191、SEQ ID NO : 195およびSEQ ID NO : 198のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

【請求項 10】

HCDR2を含み、かつ、前記HCDR2は $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7T$ に示すアミノ酸配列を含み、ここで、 X_1 はIまたはT、 X_2 はN、SまたはT、 X_3 はA、P、R、SまたはW、 X_4 はG、R、S、Tまたは非存在、 X_5 はDまたはG、 X_6 はGまたはSで、かつ、 X_7 はD、G、I、N、R、S、TまたはVである、請求項1～9のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 11】

HCDR2を含み、かつ、前記HCDR2は、SEQ ID NO : 96、SEQ ID NO : 103、SEQ ID NO : 106、SEQ ID NO : 110、SEQ ID NO : 114、SEQ ID NO : 117、SEQ ID NO : 120、SEQ ID NO : 124、SEQ ID NO : 128、SEQ ID NO : 131、SEQ ID NO : 134、SEQ ID NO : 139、SEQ ID NO : 143、SEQ ID NO : 146、SEQ ID NO : 149、SEQ ID NO : 153、SEQ ID NO : 155、SEQ ID NO : 160、SEQ ID NO : 162、SEQ ID NO : 164、SEQ ID NO : 167、SEQ ID NO : 171、SEQ ID NO : 175、SEQ ID NO : 178、SEQ ID NO : 181、SEQ ID NO : 187、SEQ ID NO : 190、SEQ ID NO : 192、SEQ ID NO : 194およびSEQ ID NO : 197のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

20

【請求項 12】

HCDR1を含み、かつ前記HCDR1は $GX_2X_3X_4SX_6X_7X_8$ に示すアミノ酸配列を含み、ここで X_2 はF、G、I、L、N、R、SまたはY、 X_3 はIまたはT、 X_4 はFまたはL、 X_6 はI、L、N、R、S、TまたはY、 X_7 はD、NまたはY、かつ、 X_8 はA、D、G、I、N、R、S、T、VまたはYである、請求項1～11のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

30

【請求項 13】

HCDR1を含み、かつ、前記HCDR1は、SEQ ID NO : 95、SEQ ID NO : 102、SEQ ID NO : 105、SEQ ID NO : 109、SEQ ID NO : 116、SEQ ID NO : 119、SEQ ID NO : 123、SEQ ID NO : 127、SEQ ID NO : 130、SEQ ID NO : 133、SEQ ID NO : 136、SEQ ID NO : 138、SEQ ID NO : 142、SEQ ID NO : 145、SEQ ID NO : 148、SEQ ID NO : 152、SEQ ID NO : 157、SEQ ID NO : 159、SEQ ID NO : 166、SEQ ID NO : 169、SEQ ID NO : 174、SEQ ID NO : 177、SEQ ID NO : 180、SEQ ID NO : 184、SEQ ID NO : 186、SEQ ID NO : 189、SEQ ID NO : 193およびSEQ ID NO : 196のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

40

【請求項 14】

HCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、かつ、前記HCDR1、HCDR2、HCDR3は、以下の群から選ばれる任意の一組のアミノ酸配列を含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質：

(1) HCDR1 : SEQ ID NO : 102、HCDR2 : SEQ ID NO : 103、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 104 ;

50

(2) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 107 ;

(3) HCDR1 : SEQ ID NO : 109、HCDR2 : SEQ ID NO : 110、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 111 ;

(4) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 114、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 115 ;

(5) HCDR1 : SEQ ID NO : 116、HCDR2 : SEQ ID NO : 117、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 118 ;

(6) HCDR1 : SEQ ID NO : 119、HCDR2 : SEQ ID NO : 120、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 121 ;

(7) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 124、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 125 ;

(8) HCDR1 : SEQ ID NO : 127、HCDR2 : SEQ ID NO : 128、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 129 ;

(9) HCDR1 : SEQ ID NO : 130、HCDR2 : SEQ ID NO : 131、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 132 ;

(10) HCDR1 : SEQ ID NO : 95、HCDR2 : SEQ ID NO : 96、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 97 ;

(11) HCDR1 : SEQ ID NO : 133、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 135 ;

(12) HCDR1 : SEQ ID NO : 136、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 137 ;

(13) HCDR1 : SEQ ID NO : 138、HCDR2 : SEQ ID NO : 139、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 140 ;

(14) HCDR1 : SEQ ID NO : 142、HCDR2 : SEQ ID NO : 143、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 144 ;

(15) HCDR1 : SEQ ID NO : 145、HCDR2 : SEQ ID NO : 146、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 147 ;

(16) HCDR1 : SEQ ID NO : 148、HCDR2 : SEQ ID NO : 149、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 150 ;

(17) HCDR1 : SEQ ID NO : 152、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 154 ;

(18) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 155、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 156 ;

(19) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 158 ;

(20) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 160、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 161 ;

(21) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 162、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 163 ;

(22) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 164、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 165 ;

(23) HCDR1 : SEQ ID NO : 166、HCDR2 : SEQ ID NO : 167、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 168 ;

(24) HCDR1 : SEQ ID NO : 169、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 170 ;

(25) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 171、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 172 ;

(26) HCDR1 : SEQ ID NO : 174、HCDR2 : SEQ ID NO : 175、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 176 ;

10

20

30

40

50

(27) HCDR1 : SEQ ID NO : 177、HCDR2 : SEQ ID NO : 178、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 179 ;

(28) HCDR1 : SEQ ID NO : 180、HCDR2 : SEQ ID NO : 181、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 182 ;

(29) HCDR1 : SEQ ID NO : 184、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 185 ;

(30) HCDR1 : SEQ ID NO : 186、HCDR2 : SEQ ID NO : 187、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 188 ;

(31) HCDR1 : SEQ ID NO : 189、HCDR2 : SEQ ID NO : 190、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 191 ;

(32) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 192、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 179 ;

(33) HCDR1 : SEQ ID NO : 193、HCDR2 : SEQ ID NO : 194、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 195 ; および

(34) HCDR1 : SEQ ID NO : 196、HCDR2 : SEQ ID NO : 197、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 198。

【請求項15】

抗体重鎖可変領域VHを含み、ここで、前記VHは、フレームワーク領域H-FR1を含み、前記H-FR1のC末端と前記HCDR1のN末端とは、直接または間接的に連結され、かつ、前記H-FR1はSEQ ID NO : 98に示すアミノ酸配列を含む、請求項1~14のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項16】

前記VHは、フレームワーク領域H-FR2を含み、前記H-FR2が前記HCDR1と前記HCDR2との間に位置し、前記H-FR2は、SEQ ID NO : 216に示すアミノ酸配列を含む、請求項15に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項17】

前記H-FR2は、SEQ ID NO : 99、SEQ ID NO : 108、SEQ ID NO : 112、SEQ ID NO : 122、SEQ ID NO : 151およびSEQ ID NO : 173のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項16に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項18】

前記VHは、フレームワーク領域H-FR3を含み、前記H-FR3が前記HCDR2と前記HCDR3との間に位置し、前記H-FR3は、SEQ ID NO : 217に示すアミノ酸配列を含む、請求項15~17のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項19】

前記H-FR3は、SEQ ID NO : 100、SEQ ID NO : 113、SEQ ID NO : 126、SEQ ID NO : 141およびSEQ ID NO : 183のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項18に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項20】

前記VHは、フレームワーク領域H-FR4を含み、前記H-FR4のN末端が前記HCDR3のC末端と連結され、かつ、前記H-FR4は、SEQ ID NO : 101に示すアミノ酸配列を含む、請求項15~19のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項21】

抗体重鎖可変領域VHを含み、前記VHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68および

10

20

30

40

50

SEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項1~20のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項22】

VHHであり、かつ、前記VHHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項1~21のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項23】

抗体重鎖定常領域を含み、前記抗体重鎖定常領域はIgGに由来する、請求項1~22のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項24】

抗体重鎖定常領域を含み、前記抗体重鎖定常領域はヒトIgGに由来する、請求項1~23のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項25】

抗体重鎖定常領域を含み、前記抗体重鎖定常領域はヒトIgG1に由来する、請求項1~24のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項26】

ターゲティング部位を含み、前記ターゲティング部位は、請求項1~25のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質を含む、キメラ抗原受容体。

【請求項27】

共刺激シグナル領域を含み、ここで、前記共刺激シグナル領域は、CD28、4-1BB、CD27、CD2、CD7、CD8、OX40、CD226、DR3、SLAM、CDS、ICAM-1、NKG2D、NKG2C、B7-H3、2B4、Fc RI、BTLA、GITR、HVEM、DAP10、DAP12、CD30、CD40、CD40L、TIM1、PD-1、LFA-1、LIGHT、JAML、CD244、CD100、ICOS、CD83のリガンド、CD40およびMyD88からなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する細胞内共刺激シグナル領域を含む、請求項26に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項28】

前記共刺激シグナル領域は、4-1BBに由来する細胞内共刺激シグナル領域である、請求項27に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項29】

前記共刺激シグナル領域は、SEQ ID NO : 78に示すアミノ酸配列を含む、請求項27~28のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項30】

細胞内シグナル領域を含み、前記細胞内シグナル領域は、CD3、CD3、CD3、CD3、CD79a、CD79b、Fc RI、Fc RI、Fc RIIa、ウシ白血病ウイルスgp30、Epstein-Barrウイルス(EBV)LMP2A、サル免疫不全ウイルスPBj14 Nef、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス(HSKV)、DAP10、DAP-12および少なくとも1つのITAMドメインを含むドメインからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する細胞内シグナル領域を含む、請求項27~29のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項31】

前記細胞内シグナル領域は、CD3に由来するシグナル伝達ドメインである、請求項30に記載のキメラ抗原受容体。

10

20

30

40

50

【請求項 3 2】

前記細胞内シグナル領域は、SEQ ID NO : 80に示すアミノ酸配列を含む、請求項31に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 3 3】

膜貫通領域を含み、前記膜貫通領域は、CD8、CD28、4-1BB、CD4、CD27、CD7、PD-1、TRAC、TRBC、CD3、CD3、CTLA-4、LAG-3、CD5、ICOS、OX40、NKG2D、2B4、CD244、FcRI、BTLA、CD30、GITR、HVEM、DAP10、CD2、NKG2C、LIGHT、DAP12、CD40L、TIM1、CD226、DR3、CD45、CD80、CD86、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD134、CD137、CD154およびSLAMからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する膜貫通領域を含む、請求項26～32のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

10

【請求項 3 4】

前記膜貫通領域は、CD8に由来する膜貫通領域である、請求項33に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 3 5】

前記膜貫通領域は、SEQ ID NO : 76に示すアミノ酸配列を含む、請求項34に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 3 6】

前記ターゲティング部位と前記膜貫通領域との間にヒンジ領域を含み、前記ヒンジ領域は、CD28、IgG1、IgG4、IgD、4-1BB、CD4、CD27、CD7、CD8、PD-1、ICOS、OX40、NKG2D、NKG2C、FcRI、BTLA、GITR、DAP10、CD40L、TIM1、CD226、SLAM、CD30およびLIGHTからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来するヒンジ領域を含む、請求項34～35のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

20

【請求項 3 7】

前記ヒンジ領域は、CD8に由来するヒンジ領域である、請求項36に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 3 8】

前記ヒンジ領域は、SEQ ID NO : 74に示すアミノ酸配列を含む、請求項37に記載のキメラ抗原受容体。

30

【請求項 3 9】

低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントをさらに含み、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、前記細胞内シグナル領域のC末端に位置している、請求項26～38のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 0】

前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質1-12およびそのフラグメントからなる群から選ばれる1つまたは複数を含む、請求項39に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 1】

前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質6またはそのフラグメントである、請求項39～40のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

40

【請求項 4 2】

前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、SEQ ID NO : 84に示すアミノ酸配列を含む、請求項39～41のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 3】

さらにシグナルペプチドを含む、請求項26～42のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

50

【請求項 4 4】

前記シグナルペプチドは、CD8タンパク質に由来するシグナルペプチドである、請求項 4 3に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 5】

前記シグナルペプチドは、SEQ ID NO : 72に示すアミノ酸配列を含む、請求項 4 4に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 6】

SEQ ID NO : 86、SEQ ID NO : 88、SEQ ID NO : 90、SEQ ID NO : 92、SEQ ID NO : 200、SEQ ID NO : 201、SEQ ID NO : 202、SEQ ID NO : 203およびSEQ ID NO : 204のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む、請求項 26 ~ 45のいずれか一項 10
に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 7】

SEQ ID NO : 85、SEQ ID NO : 87、SEQ ID NO : 89およびSEQ ID NO : 91のいずれか1つに示すヌクレオチド配列を含む、請求項 26 ~ 46のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 4 8】

請求項 1 ~ 25のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質を含む、ポリペプチド。

【請求項 4 9】

請求項 1 ~ 25のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質および/または請求項 26 ~ 47のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体をコードする、単離された1つまたは複数の核酸分子。 20

【請求項 5 0】

さらにプロモーターを含む、請求項 4 9に記載の核酸分子。

【請求項 5 1】

前記プロモーターは、構成的プロモーターである、請求項 5 0に記載の核酸分子。

【請求項 5 2】

前記プロモーターは、EF1 プロモーターである、請求項 5 0 ~ 5 1のいずれか一項に記載の核酸分子。

【請求項 5 3】

SEQ ID NO : 85、SEQ ID NO : 87、SEQ ID NO : 89およびSEQ ID NO : 91のいずれか1つに示すヌクレオチド配列を含む、請求項 4 9 ~ 5 2のいずれか一項に記載の核酸分子。 30

【請求項 5 4】

請求項 4 9 ~ 5 3のいずれか一項に記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 5 5】

ウイルスベクターである、請求項 5 4に記載のベクター。

【請求項 5 6】

レンチウイルスベクターである、請求項 5 4 ~ 5 5のいずれか一項に記載のベクター。

【請求項 5 7】

請求項 1 ~ 25のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 26 ~ 47のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体、請求項 4 9 ~ 5 3のいずれか一項に記載の核酸分子、および/または請求項 5 4 ~ 5 6のいずれか一項に記載のベクターを含む、細胞。 40

【請求項 5 8】

免疫エフェクター細胞である、請求項 5 7に記載の細胞。

【請求項 5 9】

T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞（NK細胞）、マクロファージ、NKT細胞、単球、樹状細胞、顆粒球、リンパ球、白血球、末梢血単核細胞、胚性幹細胞、リンパ系前駆細胞および/または多能性幹細胞を含む、請求項 5 7 ~ 5 8のいずれか一項に記載の細胞。

【請求項 6 0】

T細胞である、請求項 5 7 ~ 5 9のいずれか一項に記載の細胞。 50

【請求項 6 1】

請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質および/または請求項 26～47 のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体の発現させる条件で、請求項 57～60 のいずれか一項に記載の細胞を培養することを含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質および/または請求項 26～47 のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体を調製する方法。

【請求項 6 2】

免疫エフェクター細胞に請求項 55～56 のいずれか一項に記載のベクターを導入することを含む、修飾された免疫エフェクター細胞を調製する方法。

【請求項 6 3】

請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 26～47 のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体、請求項 48 に記載のポリペプチド、請求項 49～53 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 54～56 のいずれか一項に記載のベクター、および/または請求項 57～60 のいずれか一項に記載の細胞、ならびに任意に薬学的に許容される担体を含むことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 6 4】

GPRC5D の異常発現に関連する疾患または症状を治療、予防、および/または緩和するために使用される薬物の調製における、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 26～47 のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体、請求項 48 に記載のポリペプチド、請求項 49～53 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 54～56 の

【請求項 6 5】

前記の GPRC5D の異常発現に関連する疾患または症状は、腫瘍を含む、請求項 64 に記載の使用。

【請求項 6 6】

前記腫瘍は固形腫瘍を含む、請求項 65 に記載の使用。

【請求項 6 7】

前記腫瘍は非固形腫瘍を含む、請求項 65 に記載の使用。

【請求項 6 8】

前記腫瘍は血液腫瘍および/またはリンパ腫を含む、請求項 65 に記載の使用。

【請求項 6 9】

前記腫瘍は骨髄腫を含む、請求項 65 に記載の使用。

【請求項 7 0】

請求項 1～25 中のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 26～47 のいずれか一項に記載のキメラ抗原受容体、請求項 48 に記載のポリペプチド、請求項 49～53 のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項 54～56 のいずれか一項に記載のベクター、請求項 57～60 のいずれか一項に記載の細胞、および/または請求項 63 に記載の医薬組成物を必要とする被験者に投与することを含む、GPRC5D の異常発現に関連する疾患または症状を予防、治療、および/または緩和する方法。

【請求項 7 1】

前記 GPRC5D の異常発現に関連する疾患または症状は、腫瘍を含む、請求項 70 に記載の方法。

【請求項 7 2】

前記腫瘍は固形腫瘍を含む、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 7 3】

前記腫瘍は非固形腫瘍を含む、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 7 4】

前記腫瘍は血液腫瘍および/またはリンパ腫を含む、請求項 71 に記載の方法。

【請求項 7 5】

10

20

30

40

50

前記腫瘍は骨髄腫を含む、請求項71に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本願はバイオ医薬品分野に関し、具体的に、抗GPRC5D抗原結合タンパク質、前記抗原結合タンパク質を含むキメラ抗原受容体、および腫瘍の治療におけるそれらの使用に関する。

【背景技術】

【0002】

背景技術

多発性骨髄腫 (Multiple Myeloma, MM) は2番目に多い悪性血液疾患であり、癌死亡率において第2位を占めている。MMは形質細胞の悪性腫瘍であり、多くの場合に、多発性溶骨性病変、腎機能障害、骨髄浸潤、高カルシウム血症、貧血を伴う。現時点で主流のMM治療法は、全身化学療法であり、重篤な副作用があり、かつ完治できない。

【0003】

Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5メンバーD (GPRC5D) タンパク質は、非典型的な表面オーファン受容体である。GPRC5Dは、他のC5クラス受容体と同じく、アミノ末端が短すぎるため、配座上でC4クラスと非常に似ている。GPRC5Dの正常組織での発現は毛包に限定されるが、MM患者の骨髄でも特異的に高発現し、形質細胞の腫瘍負荷や遺伝子異常と高度に関連している。

【0004】

プロテアーゼ阻害剤 (PI)、免疫調節剤 (IMiD)、モノクローナル抗体 (mAb) などの新規薬剤の介入により、MMの治療法は充実したが、依然として非常に高い再発率と薬剤耐性が存在している。キメラ抗原受容体T細胞 (CAR-T) 療法は、MMにおいて有意な有効性と制御可能な毒性が生じているが、B細胞成熟抗原 (BCMA) を標的とする主流のCAR-T細胞療法は、BCMA陰性またはBCMA低発現のMM患者にとってターゲットエスケープの問題が存在している。GPRC5Dは形質細胞において特異的に高発現しているため、MMの理想的な治療標的となっているがこれを標的とする薬物治療製品はまだ成熟していない。

【発明の概要】

【0005】

発明の概要

本願は、Gタンパク質共役型受容体クラスCメンバー5D (GPRC5D) タンパク質と特異的に結合することができる単離された抗原結合タンパク質を提供する。本願はまた、前記抗原結合タンパク質を含むキメラ抗原受容体、並びに当該キメラ抗原受容体を含む及び/又は発現する細胞を提供し、前記細胞は、以下の1つまたは複数の特徴を有する：(1) 増幅能が高い、(2) GPRC5Dを発現する標的細胞を殺傷できる、(3) 標的細胞による刺激により、サイトカインを分泌する、(4) 標的細胞による刺激により、高い増殖能を備える、及び、(4) 腫瘍の増殖を抑制する。

【0006】

1つの態様では、本願は、1.0 µg/mL未満のEC50値でGタンパク質共役型受容体クラスCグループ5メンバーD (GPRC5D) タンパク質を結合することができる、単離された抗原結合タンパク質を提供する。

【0007】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は抗体またはその抗原結合フラグメントを含む。

【0008】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合フラグメントはFab、Fab'、F(ab)2、Fvフラグメント、F(ab')2、scFv、di-scFv、VHHおよび/またはdAbを含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 9 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合フラグメントはVHHである。

【 0 0 1 0 】

いくつかの実施形態では、前記抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全ヒト化抗体からなる群から選ばれる。

【 0 0 1 1 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、参照抗体と競合してタンパク質に結合することができ、ここで、前記参照抗体は抗体重鎖可変領域であるVHを含み、前記参照抗体のVHはHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含み、かつ、前記参照抗体は、次の任意の一群のアミノ酸配列から選ばれる：

(1) HCDR1 : SEQ ID NO : 102、HCDR2 : SEQ ID NO : 103、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 104 ;

(2) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 107 ;

(3) HCDR1 : SEQ ID NO : 109、HCDR2 : SEQ ID NO : 110、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 111 ;

(4) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 114、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 115 ;

(5) HCDR1 : SEQ ID NO : 116、HCDR2 : SEQ ID NO : 117、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 118 ;

(6) HCDR1 : SEQ ID NO : 119、HCDR2 : SEQ ID NO : 120、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 121 ;

(7) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 124、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 125 ;

(8) HCDR1 : SEQ ID NO : 127、HCDR2 : SEQ ID NO : 128、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 129 ;

(9) HCDR1 : SEQ ID NO : 130、HCDR2 : SEQ ID NO : 131、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 132 ;

(10) HCDR1 : SEQ ID NO : 95、HCDR2 : SEQ ID NO : 96、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 97 ;

(11) HCDR1 : SEQ ID NO : 133、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 135 ;

(12) HCDR1 : SEQ ID NO : 136、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 137 ;

(13) HCDR1 : SEQ ID NO : 138、HCDR2 : SEQ ID NO : 139、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 140 ;

(14) HCDR1 : SEQ ID NO : 142、HCDR2 : SEQ ID NO : 143、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 144 ;

(15) HCDR1 : SEQ ID NO : 145、HCDR2 : SEQ ID NO : 146、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 147 ;

(16) HCDR1 : SEQ ID NO : 148、HCDR2 : SEQ ID NO : 149、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 150 ;

(17) HCDR1 : SEQ ID NO : 152、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 154 ;

(18) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 155、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 156 ;

(19) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 158 ;

(20) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 160、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 161 ;

10

20

30

40

50

(21) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 162、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 163 ;

(22) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 164、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 165 ;

(23) HCDR1 : SEQ ID NO : 166、HCDR2 : SEQ ID NO : 167、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 168 ;

(24) HCDR1 : SEQ ID NO : 169、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 170 ;

(25) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 171、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 172 ;

(26) HCDR1 : SEQ ID NO : 174、HCDR2 : SEQ ID NO : 175、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 176 ;

(27) HCDR1 : SEQ ID NO : 177、HCDR2 : SEQ ID NO : 178、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 179 ;

(28) HCDR1 : SEQ ID NO : 180、HCDR2 : SEQ ID NO : 181、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 182 ;

(29) HCDR1 : SEQ ID NO : 184、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 185 ;

(30) HCDR1 : SEQ ID NO : 186、HCDR2 : SEQ ID NO : 187、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 188 ;

(31) HCDR1 : SEQ ID NO : 189、HCDR2 : SEQ ID NO : 190、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 191 ;

(32) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 192、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 179 ;

(33) HCDR1 : SEQ ID NO : 193、HCDR2 : SEQ ID NO : 194、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 195 ; および

(34) HCDR1 : SEQ ID NO : 196、HCDR2 : SEQ ID NO : 197、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 198。

【 0 0 1 2 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は抗体重鎖可変領域VHに由来する少なくとも1つのCDRを含み、前記VHはSEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR3を含み、かつ、前記HCDR3はSEQ ID NO : 215またはSEQ ID NO : 218に示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 4 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR3を含み、かつ、前記HCDR3はSEQ ID NO : 97、SEQ ID NO : 104、SEQ ID NO : 107、SEQ ID NO : 111、SEQ ID NO : 115、SEQ ID NO : 118、SEQ ID NO : 121、SEQ ID NO : 125、SEQ ID NO : 129、SEQ ID NO : 132、SEQ ID NO : 135、SEQ ID NO : 137、SEQ ID NO : 140、SEQ ID NO : 144、SEQ ID NO : 147、SEQ ID NO : 150、SEQ ID NO : 154、SEQ ID NO : 156、SEQ ID NO : 158、SEQ ID NO : 161、SEQ ID NO : 163、SEQ ID NO : 165、SEQ ID NO : 168、SEQ ID NO : 170、SE

10

20

30

40

50

Q ID NO : 172、SEQ ID NO : 176、SEQ ID NO : 179、SEQ ID NO : 182、SEQ ID NO : 185、SEQ ID NO : 188、SEQ ID NO : 191、SEQ ID NO : 195およびSEQ ID NO : 198のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 5 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質はHCDR2を含み、かつ、前記HCDR2は $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ Tに示すアミノ酸配列を含み、ここで、 X_1 はIまたはT、 X_2 はN、SまたはT、 X_3 はA、P、R、SまたはW、 X_4 はG、R、S、Tまたは非存在、 X_5 はDまたはG、 X_6 はGまたはSで、かつ、 X_7 はD、G、I、N、R、S、TまたはVである。

【 0 0 1 6 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR2を含み、かつ、前記HCDR2はSEQ ID NO : 96、SEQ ID NO : 103、SEQ ID NO : 106、SEQ ID NO : 110、SEQ ID NO : 114、SEQ ID NO : 117、SEQ ID NO : 120、SEQ ID NO : 124、SEQ ID NO : 128、SEQ ID NO : 131、SEQ ID NO : 134、SEQ ID NO : 139、SEQ ID NO : 143、SEQ ID NO : 146、SEQ ID NO : 149、SEQ ID NO : 153、SEQ ID NO : 155、SEQ ID NO : 160、SEQ ID NO : 162、SEQ ID NO : 164、SEQ ID NO : 167、SEQ ID NO : 171、SEQ ID NO : 175、SEQ ID NO : 178、SEQ ID NO : 181、SEQ ID NO : 187、SEQ ID NO : 190、SEQ ID NO : 192、SEQ ID NO : 194およびSEQ ID NO : 197のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 7 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質はHCDR1を含み、かつ前記HCDR1は $GX_2X_3X_4SX_6X_7X_8$ に示すアミノ酸配列を含み、ここで X_2 はF、G、I、L、N、R、SまたはY、 X_3 はIまたはT、 X_4 はFまたはL、 X_6 はI、L、N、R、S、TまたはY、 X_7 はD、NまたはY、かつ、 X_8 はA、D、G、I、N、R、S、T、VまたはYである。

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR1を含み、かつ、前記HCDR1はSEQ ID NO : 95、SEQ ID NO : 102、SEQ ID NO : 105、SEQ ID NO : 109、SEQ ID NO : 116、SEQ ID NO : 119、SEQ ID NO : 123、SEQ ID NO : 127、SEQ ID NO : 130、SEQ ID NO : 133、SEQ ID NO : 136、SEQ ID NO : 138、SEQ ID NO : 142、SEQ ID NO : 145、SEQ ID NO : 148、SEQ ID NO : 152、SEQ ID NO : 157、SEQ ID NO : 159、SEQ ID NO : 166、SEQ ID NO : 169、SEQ ID NO : 174、SEQ ID NO : 177、SEQ ID NO : 180、SEQ ID NO : 184、SEQ ID NO : 186、SEQ ID NO : 189、SEQ ID NO : 193およびSEQ ID NO : 196のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 9 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR1、HCDR2、HCDR3を含み、かつ、前記HCDR1、HCDR2、HCDR3は、次の任意の一群のアミノ酸配列から選ばれる：

(1) HCDR1 : SEQ ID NO : 102、HCDR2 : SEQ ID NO : 103、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 104 ;

(2) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 107 ;

(3) HCDR1 : SEQ ID NO : 109、HCDR2 : SEQ ID NO : 110、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 111 ;

(4) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 114、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 115 ;

(5) HCDR1 : SEQ ID NO : 116、HCDR2 : SEQ ID NO : 117、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 118 ;

(6) HCDR1 : SEQ ID NO : 119、HCDR2 : SEQ ID NO : 120、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 121 ;

(7) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 124、およびHCDR3 : S

10

20

30

40

50

EQ ID NO : 125 ;
 (8) HCDR1 : SEQ ID NO : 127、HCDR2 : SEQ ID NO : 128、およびHCDR3 : S
 EQ ID NO : 129 ;
 (9) HCDR1 : SEQ ID NO : 130、HCDR2 : SEQ ID NO : 131、およびHCDR3 : S
 EQ ID NO : 132 ;
 (10) HCDR1 : SEQ ID NO : 95、HCDR2 : SEQ ID NO : 96、およびHCDR3 : SE
 Q ID NO : 97 ;
 (11) HCDR1 : SEQ ID NO : 133、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 135 ;
 (12) HCDR1 : SEQ ID NO : 136、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : 10
 SEQ ID NO : 137 ;
 (13) HCDR1 : SEQ ID NO : 138、HCDR2 : SEQ ID NO : 139、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 140 ;
 (14) HCDR1 : SEQ ID NO : 142、HCDR2 : SEQ ID NO : 143、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 144 ;
 (15) HCDR1 : SEQ ID NO : 145、HCDR2 : SEQ ID NO : 146、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 147 ;
 (16) HCDR1 : SEQ ID NO : 148、HCDR2 : SEQ ID NO : 149、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 150 ;
 (17) HCDR1 : SEQ ID NO : 152、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : 20
 SEQ ID NO : 154 ;
 (18) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 155、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 156 ;
 (19) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 158 ;
 (20) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 160、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 161 ;
 (21) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 162、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 163 ;
 (22) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 164、およびHCDR3 : 30
 SEQ ID NO : 165 ;
 (23) HCDR1 : SEQ ID NO : 166、HCDR2 : SEQ ID NO : 167、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 168 ;
 (24) HCDR1 : SEQ ID NO : 169、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 170 ;
 (25) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 171、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 172 ;
 (26) HCDR1 : SEQ ID NO : 174、HCDR2 : SEQ ID NO : 175、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 176 ;
 (27) HCDR1 : SEQ ID NO : 177、HCDR2 : SEQ ID NO : 178、およびHCDR3 : 40
 SEQ ID NO : 179 ;
 (28) HCDR1 : SEQ ID NO : 180、HCDR2 : SEQ ID NO : 181、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 182 ;
 (29) HCDR1 : SEQ ID NO : 184、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 185 ;
 (30) HCDR1 : SEQ ID NO : 186、HCDR2 : SEQ ID NO : 187、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 188 ;
 (31) HCDR1 : SEQ ID NO : 189、HCDR2 : SEQ ID NO : 190、およびHCDR3 :
 SEQ ID NO : 191 ;
 (32) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 192、およびHCDR3 : 50

SEQ ID NO : 179 ;

(33) HCDR1 : SEQ ID NO : 193、HCDR2 : SEQ ID NO : 194、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 195 ; および

(34) HCDR1 : SEQ ID NO : 196、HCDR2 : SEQ ID NO : 197、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 198。

【 0 0 2 0 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖可変領域VHを含み、ここで、前記VHは、フレームワーク領域H-FR1を含み、前記H-FR1のC末端と前記HCDR1のN末端とは、直接または間接的に連結され、かつ、前記H-FR1はSEQ ID NO : 98に示すアミノ酸配列を含む。

10

【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質における前記VHは、フレームワーク領域H-FR2を含み、前記H-FR2は、前記HCDR1と前記HCDR2の間に位置し、かつ、前記H-FR2は、SEQ ID NO : 216に示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質におけるH-FR2は、SEQ ID NO : 99、SEQ ID NO : 108、SEQ ID NO : 112、SEQ ID NO : 122、SEQ ID NO : 151およびSEQ ID NO : 173のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質における前記VHは、フレームワーク領域H-FR3を含み、前記H-FR3は、前記HCDR2と前記HCDR3の間に位置し、かつ、前記H-FR3は、SEQ ID NO : 217に示すアミノ酸配列を含む。

20

【 0 0 2 4 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質におけるH-FR3は、SEQ ID NO : 100、SEQ ID NO : 113、SEQ ID NO : 126、SEQ ID NO : 141およびSEQ ID NO : 183のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 0 2 5 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質における前記VHは、フレームワーク領域H-FR4を含み、前記H-FR4のN末端と前記HCDR3のC末端とは連結され、かつ、前記H-FR4はSEQ ID NO : 101に示すアミノ酸配列を含む。

30

【 0 0 2 6 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質における前記VHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

40

【 0 0 2 7 】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、VHHであり、かつ、前記VHHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 6

50

4、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0028】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み、前記抗体重鎖定常領域はIgGに由来する。

【0029】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み、前記抗体重鎖定常領域はヒトIgGに由来する。

【0030】

いくつかの実施形態では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み、前記抗体重鎖定常領域はヒトIgG1に由来する。 10

【0031】

別の態様では、本願は、ターゲティング部分を含むキメラ抗原受容体を提供し、前記ターゲティング部分は、前記抗原結合タンパク質を含む。

【0032】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、共刺激シグナル領域を含み、ここで、前記細胞共刺激シグナル領域は、CD28、4-1BB、CD27、CD2、CD7、CD8、OX40、CD226、DR3、SLAM、CDS、ICAM-1、NKG2D、NKG2C、B7-H3、2B4、Fc RI、BTLA、GITR、HVEM、DAP10、DAP12、CD30、CD40、CD40L、TIM1、PD-1、LFA-1、LIGHT、JAML、CD244、CD100、ICOS、CD83のリガンド、CD40およびMyD88からなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する細胞内共刺激シグナル領域を含む。 20

【0033】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記共刺激シグナル領域は4-1BBに由来する細胞内共刺激シグナル領域である。

【0034】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記共刺激シグナル領域はSEQ ID NO : 78に示すアミノ酸配列を含む。

【0035】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、細胞内シグナル領域を含み、前記細胞内シグナル領域は、CD3、CD3、CD3、CD3、CD79a、CD79b、Fc RI、Fc RI、Fc RIIa、ウシ白血病ウイルスgp30、Epstein-Barrウイルス(EBV) LMP2A、サル免疫不全ウイルスPBj14 Nef、カポジ肉腫ヘルペスウイルス(HSKV)、DAP10、DAP-12および少なくとも1つのITAMを含む構造ドメインからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する細胞内シグナル領域を含む。 30

【0036】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記細胞内シグナル領域は、CD3に由来するシグナル伝達構造ドメインである。

【0037】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記細胞内シグナル領域はSEQ ID NO : 80に示すアミノ酸配列を含む。 40

【0038】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は膜貫通領域を含み、前記膜貫通領域は、CD8、CD28、4-1BB、CD4、CD27、CD7、PD-1、TRAC、TRBC、CD3、CD3、CTLA-4、LAG-3、CD5、ICOS、OX40、NKG2D、2B4、CD244、Fc RI、BTLA、CD30、GITR、HVEM、DAP10、CD2、NKG2C、LIGHT、DAP12、CD40L、TIM1、CD226、DR3、CD45、CD80、CD86、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD134、CD137、CD154およびSLAMからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する膜貫通ドメインを含む。

【0039】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記膜貫通領域はCD8に由来する膜貫通領域である。

【0040】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記膜貫通領域はSEQ ID NO: 76に示すアミノ酸配列を含む。

【0041】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、ターゲティング部位と膜貫通領域との間にヒンジ領域を含み、前記ヒンジ領域は、CD28、IgG1、IgG4、IgD、4-1BB、CD4、CD27、CD7、CD8、PD-1、ICOS、OX40、NKG2D、NKG2C、Fc RI、BTLA、GITR、DAP10、CD40L、TIM1、CD226、SLAM、CD30およびLIGHTからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来するヒンジ領域を含む。

10

【0042】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記ヒンジ領域は、CD8に由来するヒンジ領域である。

【0043】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記ヒンジ領域はSEQ ID NO: 74に示すアミノ酸配列を含む。

【0044】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントも含み、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、前記細胞内シグナル領域のC末端に位置している。

20

【0045】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質1-12およびその機能性フラグメントからなる群から選ばれる1つまたは複数を含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質6またはそのフラグメントである。

【0047】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、SEQ ID NO: 84に示すアミノ酸配列を含む。

30

【0048】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、シグナルペプチドを含む。

【0049】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記シグナルペプチドはCD8タンパク質に由来するシグナルペプチドである。

【0050】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体における前記シグナルペプチドは、SEQ ID NO: 72に示すアミノ酸配列を含む。

40

【0051】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 200、SEQ ID NO: 201、SEQ ID NO: 202、SEQ ID NO: 203およびSEQ ID NO: 204のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0052】

いくつかの実施形態では、前記キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 89およびSEQ ID NO: 91のいずれか1つに示すヌクレオチド配列を含む。

50

【 0 0 5 3 】

別の態様では、本願は、前記抗原結合タンパク質を含むポリペプチドを提供する。

【 0 0 5 4 】

別の態様では、本願はさらに、前記抗原結合タンパク質および/または前記キメラ抗原受容体をコードするための、単離された1つまたは複数の核酸分子を提供する。

【 0 0 5 5 】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子はプロモーターも含む。

【 0 0 5 6 】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子における前記プロモーターは、構成的プロモーターである。

【 0 0 5 7 】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子における前記プロモーターは、EF1 プロモーターである。

【 0 0 5 8 】

いくつかの実施形態では、前記核酸分子は、SEQ ID NO : 85、SEQ ID NO : 87、SEQ ID NO : 89およびSEQ ID NO : 91のいずれか1つに示すヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 5 9 】

別の態様では、本願は、前記核酸分子を含むベクターを提供する。

【 0 0 6 0 】

いくつかの実施形態では、前記ベクターはウイルスベクターである。

【 0 0 6 1 】

いくつかの実施形態では、前記ベクターはレンチウイルスベクターである。

【 0 0 6 2 】

別の態様では、本願は、前記抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子、および/または前記ベクターを含む細胞を提供する。

【 0 0 6 3 】

いくつかの実施形態では、前記細胞は、免疫エフェクター細胞である。

【 0 0 6 4 】

いくつかの実施形態では、前記細胞は、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)、マクロファージ、NKT細胞、単球、樹状細胞、顆粒球、リンパ球、白血球、末梢血単核細胞、胚性幹細胞、リンパ系前駆細胞および/または多能性幹細胞を含む。

【 0 0 6 5 】

いくつかの実施形態では、前記細胞は、T細胞である。

【 0 0 6 6 】

別の態様では、本願は、前記抗原結合タンパク質および/または前記キメラ抗原受容体の発現を可能にする条件で、前記細胞を培養することを含む、前記抗原結合タンパク質および/または前記キメラ抗原受容体を調整する方法を提供する。

【 0 0 6 7 】

別の態様では、本願は、免疫エフェクター細胞に前記ベクターを導入することを含む、改変免疫エフェクター細胞を調整する方法を提供する。

【 0 0 6 8 】

別の態様では、本願は、前記抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記ポリペプチド、前記核酸分子、前記ベクター、および/または前記細胞、及び任意に選ばれる薬学的に許容されるベクターを含む医薬組成物を提供する。

【 0 0 6 9 】

別の態様では、本願は、GPRC5Dの異常発現に関連する疾患または症状を予防、治療、および/または緩和するために使用される薬物の調製における、前記抗原結合タンパク質、前記抗原嵌合受容体、前記核酸分子、前記ベクター、前記細胞、および/または前記医薬組成物の使用を提供する。

【 0 0 7 0 】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、前記使用において、前記のGPRC5D異常発現に関連する疾患または症状は、腫瘍を含む。

【0071】

いくつかの実施形態では、前記使用における前記腫瘍は、固形腫瘍を含む。

【0072】

いくつかの実施形態では、前記使用における前記腫瘍は、非固形腫瘍を含む。

【0073】

いくつかの実施形態では、前記使用における前記腫瘍は、血液腫瘍および/またはリンパ腫を含む。

【0074】

いくつかの実施形態では、前記使用における前記腫瘍は、骨髄腫を含む。

【0075】

別の態様では、本願は、前記抗原結合タンパク質、前記抗原嵌合受容体、前記核酸分子、前記ベクター、前記細胞、および/または前記医薬組成物を必要とする被験者に投与することを含む、GPRC5Dの異常発現に関連する疾患または症状を予防、治療、および/または緩和する方法を提供する。

【0076】

いくつかの実施形態では、前記方法における前記のGPRC5D異常発現に関連する疾患または症状は、腫瘍を含む。

【0077】

いくつかの実施形態では、前記方法における前記腫瘍は、固形腫瘍を含む。

【0078】

いくつかの実施形態では、前記方法における前記腫瘍は、非固形腫瘍を含む。

【0079】

いくつかの実施形態では、前記方法における前記腫瘍は、血液腫瘍および/またはリンパ腫を含む。

【0080】

いくつかの実施形態では、前記方法における前記腫瘍は、骨髄腫を含む。

【0081】

当業者は、本願の他の態様および利点について、以下の詳細な説明から容易に洞察することができる。以下の詳細な説明では、本願の例示的な実施形態のみを示し、説明する。当業者が認識するであろうように、本願の内容は、当業者が、本願に係る発明の精神および範囲を逸脱することなく、開示された特定の実施形態に変更を加えることを可能にするものである。したがって、本願の添付図面および明細書の記載は単なる例示であり、限定的なものではない。

【図面の簡単な説明】

【0082】

図面の説明

本願に係る発明の具体的な特徴は、特許請求の範囲に記載のとおりである。本願で詳細に説明される例示的な実施形態および添付図面を参照することによって、本願に係る発明の特徴および利点をよりよく理解することができる。図面の簡単な説明は下記の通り。

図1A～図1Jは、フローサイトメトリーによって分析された本願に記載の抗GPRC5D抗体と細胞表面上のGPRC5Dとの結合活性を示す。

図2は、本願に記載のキメラ抗原受容体レンチウイルス発現ベクターおよびGPRC5DコアプラスミドにおけるCARの各構成要素および接続順序を示す。

図3A～図3Cは、活性化によって培養されたGPRC5D CAR-T細胞の増幅倍率および感染後のT細胞のCAR陽性率を示す。

図4A～図4Dは、標的細胞(CHO細胞/MM1S細胞)に対するGPRC5D CAR-T細胞の殺傷能力を示す。

図5A～図5Bは、in vitroでGPRC5D CAR-T細胞殺傷後のサイトカイン(IL2、IFN-

10

20

30

40

50

) 分泌状況を示す。

図6は、GPCR5D CAR-T細胞のターゲティングされた増殖倍率を示す。

図7A～図7Dは、マウスにおけるGPCR5D CAR-T細胞のサイトカイン分泌、腫瘍除去能力および安全性を示す。

図8A～図8Dおよび図9A～図9Dは、抗GPCR5D抗体がGPCR5D抗原を発現しない細胞には結合しない細胞を示す。A：A549細胞，B：KERA細胞，C：MCF-7細胞，D：MSC細胞。

図10A～図10Dは、抗GPCR5Dのエンドサイトーシス効果実験結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0083】

具体的な実施形態

以下では、特定の具体的な実施形態を用いて本願発明の実施形態を説明するが、この技術に精通している者は、本願で開示されることにより、本願発明の他の利点及び効果を容易に理解され得る。

【0084】

用語定義

本願では、「単離された抗原結合タンパク質」という用語は、通常、天然に存在する状態から脱離された抗原結合能力を有するタンパク質を指す。前記「単離された抗原結合タンパク質」は、抗原を結合する部分と、任意に、抗原結合部分とその抗原結合を促進する配座のフレームワークまたはフレームワーク部分を採用することを許可する。抗原結合タンパク質は、例えば、抗体に由来するタンパク質フレームワーク領域（FR）または、移植された可変領域（CDR）もしくはCDR誘導体を有する代替タンパク質フレームワーク領域または人工フレームワーク領域を含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質は、抗体またはその抗原結合フラグメントを含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質は、GPCR5Dタンパク質に結合し得る。例えば、前記抗原結合タンパク質は、参照抗体と競合してGPCR5Dタンパク質に結合し得る。例えば、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖可変領域VHを含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖可変領域VHに由来する少なくとも1つのCDRを含み得る。例えば、前記VHは、HCDR3、HCDR2および/またはHCDR1を含み得る。例えば、前記VHは、フレームワーク領域H-FR1を含み得、前記H-FR1のC末端と前記HCDR1のN末端とは直接的または間接的に連結されている。例えば、前記VHは、フレームワーク領域H-FR2を含み得、前記H-FR2は、前記HCDR1と前記HCDR2の間に位置している。例えば、前記VHは、フレームワーク領域H-FR3を含み得、前記H-FR3は、前記HCDR2と前記HCDR3の間に位置している。例えば、前記VHは、フレームワーク領域H-FR4を含み得、前記H-FR4のN末端と前記HCDR3のC末端とは連結されている。例えば、前記抗原結合タンパク質は、VHHであり得る。例えば、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み得、前記抗体重鎖定常領域は、IgGに由来し得る。例えば、前記抗体重鎖定常領域は、ヒトIgGに由来し得る。例えば、前記抗体重鎖定常領域は、ヒトIgG1に由来し得る。

【0085】

使われている「抗体」という用語は、完全抗体とその結合フラグメントを含む。通常、フラグメントは、抗原への特異的結合に関して、そのフラグメントが由来する完全抗体と競争する。任意に、抗体またはその結合フラグメントは、他のタンパク質に化学的に結合するか、または他のタンパク質と、融合タンパク質の形で発現し得る。例えば、前記抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全ヒト抗体であり得る。例えば、前記抗体またはその結合フラグメントの結合タンパク質は、GPCR5Dを含み得る。例えば、前記抗体またはその結合フラグメントは、GPCR5Dに対して特異性を有し得る。

【0086】

「抗原結合フラグメント」という用語は、完全抗体の一部、かつ、完全抗体の抗原決定可変領域を指す。例えば、前記抗原結合フラグメントは、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fvフラグメントと一本鎖Fvフラグメント、タンデムFvフラグメント、VHH、二特異性抗体を

10

20

30

40

50

含み得る。例えば、前記抗原結合フラグメントは、VHHであり得る。例えば、前記抗原結合フラグメントは、GPRC5Dに結合し得る。例えば、前記抗原結合フラグメントは、GPRC5Dに対して特異性を有し得る。

【0087】

本願では、「VHH」という用語は、通常、重鎖抗体の可変抗原結合構造ドメインを含む抗体を指す。VHHは、ナノ抗体(Nanobody)(Nb)および/または単ドメイン抗体と呼ばれることもある。例えば、前記VHHは、GPRC5Dに結合し得る。例えば、前記VHHは、GPRC5Dに対して、特異性を有し得る。

【0088】

本願では、前記抗体は、ジスルフィド結合により相互接続された少なくとも2つの重(H)鎖および2つの軽(L)鎖を含み得る。各重鎖は、重鎖可変領域(VH)と重鎖定常領域からなる。「重鎖定常領域」という用語は、CH1, CH2およびCH3という3つの構造ドメインからなることを指す。各軽鎖は軽鎖可変領域(VL)と軽鎖定常領域からなる。「軽鎖定常領域」という用語は、1つの構造ドメインCLからなることを指す。VHおよびVL領域は、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変領域と、より保存された領域が散在するフレームワーク領域(FR)と呼ばれる領域にさらに細分することができる。各VHおよびVLは、アミノ基末端からカルボキシル基末端に向かって、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4という順序で配列される3つのCDRおよび4つのFRからなる。重鎖と軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、宿主組織や因子への免疫グロブリンの結合を媒介する。

【0089】

本願では、「参照抗体」という用語は、前記の単離された抗原結合タンパク質GPRC5Dと同じエピトープに競合的に結合する抗体を指す。前記参照抗体は、重鎖可変領域VHを含み得る。例えば、前記参照抗体は、3つのCDR配列を有し得る。例えば、前記参照抗体のVHは、HCDR1、HCDR2およびHCDR3を含み得る。例えば、前記CDR配列は、前記単離された抗原結合タンパク質のCDR配列と一致することができる。

【0090】

本願では、「Gタンパク質共役型受容体クラスCグループ5メンバーD(GPRC5D)タンパク質」という用語は、非典型的な表面オーファン受容体である。GPRC5Dは、他のC5クラス受容体と同じく、アミノ末端が短すぎるため、配座上でC4クラスと非常に似ている。GPRC5Dの正常組織での発現は毛包に限定されるが、多発性骨髄腫患者の骨髄でも有意に高発現し、形質細胞の腫瘍負荷や遺伝子異常と高度に関連している。例えば、本願に記載のGPRC5Dは、特にMM患者において発現されるGPRC5Dを指し得る。

【0091】

本願では、「IgG」という用語は、認識された免疫グロブリンガンマ遺伝子によって本質的にコードされる抗体カテゴリーに属するポリペプチドを指す。ヒトでは、このカテゴリーは、IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4を含む。マウスでは、このカテゴリーは、IgG1、IgG2a、IgG2bおよびIgG3を含む。

【0092】

本願では、「キメラ抗原受容体」(CAR)という用語は、通常、少なくとも抗原または標的に特異的に結合することができる細胞外ドメイン、膜貫通領域および細胞内構造ドメインを含む組換えポリペプチドを指す。例えば、前記細胞外構造ドメインと前記膜貫通領域との間にヒンジ領域を含む。例えば、前記キメラ抗原受容体は、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントを含み得る。例えば、前記キメラ抗原受容体は、シグナルペプチドを含み得る。CARの細胞外構造ドメインが標的細胞表面の標的抗原に結合すると、CARがクラスター化し、CARを含む細胞に活性化刺激を伝達する。CARは、免疫エフェクター細胞の特異性を方向転換し、増殖、サイトカイン産生を活性化し、主要組織適合性(MHC)に依存しない方式で、標的抗原を発現する細胞の死の分子の貪食作用および/または生成を媒介する。例えば、前記細胞外構造は、前記抗原結合タンパク質を含み得る。例えば、前記細胞外構造は、特異的にGPRC5Dに結合し得る。

【0093】

本願では、「細胞内構造ドメイン」という用語は、活性化シグナルを伝達するのに十分な任意の切断部分を含む細胞内構造ドメインを指す。前記細胞内構造ドメインは、細胞内シグナル領域および/または共刺激シグナル領域を含み得る。「細胞内シグナル領域」という用語は、CAR細胞（例えば、CART細胞またはCARを発現するNK細胞）の免疫エフェクターのサブ機能を促進するシグナルを生成することができる細胞内領域を指す。例えば、前記細胞内シグナル領域は、CD3、CD3、CD3、CD3、CD79a、CD79b、FcRI、FcRI、FcRIIa、ウシ白血病ウイルスgp30、Epstein-Barrウイルス（EBV）LMP2A、サル免疫不全ウイルスPBj14 Nef、カポジ肉腫ヘルペスウイルス（HSKV）、DAP10、DAP-12および少なくとも1つのITAMを含む構造ドメインからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質の細胞内シグナル領域を含み得る。例えば、前記細胞内シグナル領域は、CD3のシグナル伝達構造ドメインに由来し得る。「共刺激シグナル領域」という用語は、前記細胞内シグナル領域における、エフェクターシグナルを伝達することができるCARの一部を指す。例えば、前記共刺激シグナル領域は、CD28、4-1BB、CD27、CD2、CD7、CD8、OX40、CD226、DR3、SLAM、CDS、ICAM-1、NKG2D、NKG2C、B7-H3、2B4、FcRI、BTLA、GITR、HVEM、DAP10、DAP12、CD30、CD40、CD40L、TIM1、PD-1、LFA-1、LIGHT、JAML、CD244、CD100、ICOS、CD83のリガンド、CD40およびMyD88からなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する細胞内共刺激シグナル領域を含み得る。例えば、前記共刺激シグナル領域は、4-1BBに由来する細胞内共刺激シグナル領域であり得る。

【0094】

本願では、「膜貫通領域」という用語は、細胞質膜を貫通することができるペプチド、ポリペプチド、タンパク質の構造ドメインを指す。これらの構造ドメインにより、細胞外構造ドメインを細胞膜に固定することができる。例えば、前記膜貫通領域は、CD8、CD28、4-1BB、CD4、CD27、CD7、PD-1、TRAC、TRBC、CD3、CD3、CTLA-4、LAG-3、CD5、ICOS、OX40、NKG2D、2B4、CD244、FcRI、BTLA、CD30、GITR、HVEM、DAP10、CD2、NKG2C、LIGHT、DAP12、CD40L、TIM1、CD226、DR3、CD45、CD80、CD86、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD134、CD137、CD154およびSLAMからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質の膜貫通ドメインを含み得る。例えば、前記膜貫通領域は、CD8に由来する膜貫通領域であり得る。

【0095】

本願では、「ヒンジ領域」という用語は、CH1構造ドメインとCH2構造ドメインとを接続する抗体重鎖ポリペプチドの一部を指し、例えば、KabatのEUナンバリングシステムによる約216位から約第230位である。ヒンジ領域は、通常、同じアミノ酸配列を持つ2つのポリペプチドからなる二量体分子である。ヒンジ領域は、通常、約25のアミノ酸残基を含み、柔軟性があるため、抗原結合領域の独立した移動が許される。ヒンジ領域は、上部、中間、下部ヒンジ構造ドメインという3つの構造ドメインに細分化できる。例えば、前記ヒンジ領域は、CD28、IgG1、IgG4、IgD、4-1BB、CD4、CD27、CD7、CD8、PD-1、ICOS、OX40、NKG2D、NKG2C、FcRI、BTLA、GITR、DAP10、CD40L、TIM1、CD226、SLAM、CD30およびLIGHTからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来するヒンジ領域を含み得る。例えば、前記ヒンジ領域はCD8に由来するヒンジ領域であり得る。

【0096】

本願では、「低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質」（Low-density lipoprotein receptor-related protein）という用語は、エンドサイトーシス受容体に属する細胞表面タンパク質であって、体に広く分布し、組織間変異が大きく、主な機能は、細胞増殖やステロイドホルモン、胆汁酸塩の合成のためにコレステロールを細胞内に取り込むことである。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質は、脊椎動物に

由来し得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、前記細胞内シグナル領域のC末端に位置し得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質1-12およびその機能性フラグメントからなる群から選ばれる1つまたは複数を含み得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質6またはそのフラグメントであり得る。

【0097】

本願では、「シグナルペプチド」という用語は、翻訳中または翻訳後に、新生タンパク質を小胞体に誘導し、その後の表面発現に導く、新生CARタンパク質のアミノ末端(N末端)にあるリーダー配列を指す。例えば、前記シグナルペプチドは、CD8タンパク質に由来するシグナルペプチドであり得る。例えば、その中の前記シグナルペプチドは、SEQ ID NO: 72に示すアミノ酸配列を含む。

10

【0098】

本出願では、「ポリペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」という用語は、互換的に使用でき、アミノ酸残基のポリマーを指す。この用語は、1つまたは複数のアミノ酸残基がその対応する天然アミノ酸の人工合成化学模倣物であるアミノ酸ポリマーを指すために使用され得、天然アミノ酸ポリマー、修飾残基を含むアミノ酸ポリマー、および非天然アミノ酸ポリマーを指すために使用され得る。例えば、前記ポリペプチドは、前記抗原結合タンパク質を含み得る。

20

【0099】

本願では、「核酸分子」という用語は、DNA分子およびRNA分子を含む。1つの核酸分子は一本鎖または二本鎖であってもよいが、好ましくは、二本鎖DNAである。「プロモーター」という用語は、通常、プロモーターに作動可能に連結された、選択されたDNA配列の発現を調節することで、細胞において選択されたDNA配列の発現に影響を及ぼすDNA配列を指す。例えば、前記核酸分子は、対応する抗原結合タンパク質および/またはキメラ抗原受容体をコードし得る。例えば、前記核酸分子は、プロモーターを含み得る。例えば、前記プロモーターは、構成的プロモーターであり得る。例えば、前記プロモーターは、EF1プロモーターであり得る。

【0100】

本願では、「ベクター」という用語は、通常、本願の1つまたは複数の核酸分子が付着され得る分子を指す。例えば、前記ベクターは、ウイルスベクターであり得る。例えば、前記ベクターは、レンチウイルスベクターであり得る。

30

【0101】

本願では、「細胞」という用語は、核酸がトランスフェクトされ得る細胞を指し、「細胞」という用語は、プラスミドの増殖に使われる原核細胞、および核酸発現およびコードされたポリペプチドの産生に使われる真核細胞を含む。例えば、細胞は、前記抗原結合タンパク質、前記核酸分子および/または前記ベクターを含み得る。例えば、前記細胞は、免疫エフェクター細胞であり得る。「免疫エフェクター細胞」という用語は、通常、免疫応答に関与し、エフェクター機能を発揮する免疫細胞を指す。例えば、前記エフェクター機能を発揮することは、外来抗原の除去、または免疫エフェクター応答の促進などを含み得る。例えば、免疫エフェクター細胞は、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞(NK細胞)、マクロファージ、NKT細胞、単球、樹状細胞、顆粒球、リンパ球、白血球、末梢血単核細胞、胚性幹細胞、リンパ系前駆細胞および/または多能性幹細胞を含み得る。例えば、免疫エフェクター細胞はT細胞であり得る。

40

【0102】

本願では、「医薬組成物」という用語は、通常、哺乳動物個体への投与に適した化学または生物学的組成物を指す。例えば、前記医薬組成物は、前記抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記ポリペプチド、前記核酸分子、前記ベクターおよび/または前記細胞、および任意に選ばれる薬学的に許容されるベクターを含み得る。前記医薬組成物は

50

、GPRC5Dの異常発現に関連する疾患または症状の予防、治療、および/または緩和に利用し得る。例えば、前記のGPRC5D異常発現に関連する疾患または症状は、腫瘍を含み得る。例えば、前記腫瘍は、固形腫瘍および/または非固形腫瘍を含み得る。例えば、前記腫瘍は、血液腫瘍および/またはリンパ腫を含み得る。例えば、前記腫瘍は骨髄腫を含み得る。

【0103】

発明の詳細な説明

単離された抗原結合タンパク質

1つの態様では、本願は、1.0 μg/mL未満のEC50値でGタンパク質共役型受容体クラスCグループ5メンバーD (GPRC5D) タンパク質を結合することができる、単離された抗原結合タンパク質を提供する。例えば、本願に記載の抗原結合タンパク質は、約0.9 μg/mL未満、約0.8 μg/mL未満、約0.7 μg/mL未満、約0.6 μg/mL未満、約0.5 μg/mL未満、約0.4 μg/mL未満、約0.3 μg/mL未満、約0.2 μg/mL未満、約0.1 μg/mL未満またはこれ以下のEC50値で、GPRC5Dタンパク質に結合し得る。例えば、本願に記載の抗原結合タンパク質は、約0.9 μg/mL未満のEC50値で細胞表面に発現するGPRC5Dタンパク質に結合し得る。例えば、本願に記載の細胞表面に発現するGPRC5Dタンパク質への抗原結合タンパク質の結合は、フローサイトメトリー蛍光ソーティング (FACS) 、例えばiQue Screenerフローサイトメーターを用いて検出することができる。

10

【0104】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、抗体またはその抗原結合フラグメントを含み得る。本願では、前記抗原結合フラグメントはFab、Fab'、F(ab)2、Fvフラグメント、F(ab')2、scFv、di-scFv、VHHおよび/またはdAbを含み得る。本願では、前記抗体は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体および完全ヒト抗体を含み得る。

20

【0105】

CDR

CDRは、抗体の相補性決定領域であって、抗体可変領域の一部であり、この領域のアミノ酸残基は抗原または抗原エピトープと接触することにより、抗原を特異的に特定し、これに結合する。

【0106】

本願では、前記単離された抗原結合タンパク質は、抗体重鎖可変領域VHにおける少なくとも1つのCDRを含み得、例えば、前記VHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれかが1つに示すアミノ酸配列を含む。

30

【0107】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR3を含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質のHCDR3は、SEQ ID NO : 215に示すアミノ酸配列：

AAX₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄YX₁₆Y (SEQ ID NO : 215) を含み得、ここで、X₃= F、G、R、S、TまたはV、X₄= A、G、L、P、R、SまたはT、X₅= A、G、K、R、VまたはY、X₆= P、R、S、VまたはY、X₇= A、F、G、I、N、P、S、WまたはY、X₈= A、F、L、P、R、TまたはY、X₉= A、G、L、R、S、TまたはY、X₁₀= L、P、Q、S、T、WまたはY、X₁₁= D、G、N、R、S、TまたはY、X₁₂= A、D、E、G、P、R、SまたはY、X₁₃= A、G、L、N、R、SまたはY、X₁₄= E、G、L、N、R、TまたはV、かつ、X₁₆= DまたはNである。例えば、前記配列は、IMGTルールに従って区分し得る。

40

50

【 0 1 0 8 】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR3を含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質のHCDR3は、SEQ ID NO : 218に示すアミノ酸配列：

AAX₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁YX₁₃Y (SEQ ID NO : 218) を含み得、ここで、X₃= D、F、G、K、N、R、S、TまたはV、X₄= D、G、I、L、R、SまたはT、X₅= A、F、G、R、VまたはY、X₆= G、P、R、S、T、WまたはY、X₇= A、G、L、N、R、S、WまたはY、X₈= D、F、G、L、N、R、S、TまたはY、X₉= A、D、G、I、L、P、R、S、TまたはY、X₁₀= G、L、N、R、S、T、WまたはY、X₁₁= D、G、L、N、P、RまたはT、X₁₃= DまたはNである。

【 0 1 0 9 】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR3を含み得、かつ、前記HCDR3はSEQ ID NO : 97、SEQ ID NO : 104、SEQ ID NO : 107、SEQ ID NO : 111、SEQ ID NO : 115、SEQ ID NO : 118、SEQ ID NO : 121、SEQ ID NO : 125、SEQ ID NO : 129、SEQ ID NO : 132、SEQ ID NO : 135、SEQ ID NO : 137、SEQ ID NO : 140、SEQ ID NO : 144、SEQ ID NO : 147、SEQ ID NO : 150、SEQ ID NO : 154、SEQ ID NO : 156、SEQ ID NO : 158、SEQ ID NO : 161、SEQ ID NO : 163、SEQ ID NO : 165、SEQ ID NO : 168、SEQ ID NO : 170、SEQ ID NO : 172、SEQ ID NO : 176、SEQ ID NO : 179、SEQ ID NO : 182、SEQ ID NO : 185、SEQ ID NO : 188、SEQ ID NO : 191、SEQ ID NO : 195およびSEQ ID NO : 198のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 1 1 0 】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR2を含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質のHCDR2は、

X₁X₂X₃X₄X₅X₆X₇Tに示すアミノ酸配列を含み得、ここで、X₁=IまたはT、X₂=N、SまたはT、X₃=A、P、R、SまたはW、X₄=G、R、S、Tまたは不存在、X₅=DまたはG、X₆=GまたはS、且X₇=D、G、I、N、R、S、TまたはVである。例えば、前記配列は、IMGTルールに従って区分し得る。

【 0 1 1 1 】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR2を含み得、かつ、前記HCDR2はSEQ ID NO : 96、SEQ ID NO : 103、SEQ ID NO : 106、SEQ ID NO : 110、SEQ ID NO : 114、SEQ ID NO : 117、SEQ ID NO : 120、SEQ ID NO : 124、SEQ ID NO : 128、SEQ ID NO : 131、SEQ ID NO : 134、SEQ ID NO : 139、SEQ ID NO : 143、SEQ ID NO : 146、SEQ ID NO : 149、SEQ ID NO : 153、SEQ ID NO : 155、SEQ ID NO : 160、SEQ ID NO : 162、SEQ ID NO : 164、SEQ ID NO : 167、SEQ ID NO : 171、SEQ ID NO : 175、SEQ ID NO : 178、SEQ ID NO : 181、SEQ ID NO : 187、SEQ ID NO : 190、SEQ ID NO : 192、SEQ ID NO : 194およびSEQ ID NO : 197のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【 0 1 1 2 】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR1を含み得る。例えば、前記抗原結合タンパク質のHCDR1は、

GX₂X₃X₄SX₆X₇X₈に示すアミノ酸配列を含み得、ここで、X₂= F、G、I、L、N、R、SまたはY、X₃=IまたはT、X₄= FまたはL、X₆= I、L、N、R、S、TまたはY、X₇= D、NまたはY、且X₈= A、D、G、I、N、R、S、T、VまたはYである。例えば、前記配列は、IMGTルールに従って区分し得る。

【 0 1 1 3 】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR1を含み得、かつ、前記HCDR1はSEQ ID NO : 95、SEQ ID NO : 102、SEQ ID NO : 105、SEQ ID NO : 109、SEQ ID NO : 116、SEQ ID NO : 119、SEQ ID NO : 123、SEQ ID NO : 127、SEQ ID NO : 130、SEQ ID NO : 133、SEQ ID NO : 136、SEQ ID NO : 138、SEQ ID NO : 142、SEQ ID NO : 145、SEQ ID NO : 148、SEQ ID NO : 152、SEQ ID NO :

10

20

30

40

50

157、SEQ ID NO : 159、SEQ ID NO : 166、SEQ ID NO : 169、SEQ ID NO : 174、SEQ ID NO : 177、SEQ ID NO : 180、SEQ ID NO : 184、SEQ ID NO : 186、SEQ ID NO : 189、SEQ ID NO : 193およびSEQ ID NO : 196のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0114】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR1、HCDR2、HCDR3を含み得、前記HCDR1はSEQ ID NO : 95、SEQ ID NO : 102、SEQ ID NO : 105、SEQ ID NO : 109、SEQ ID NO : 116、SEQ ID NO : 119、SEQ ID NO : 123、SEQ ID NO : 127、SEQ ID NO : 130、SEQ ID NO : 133、SEQ ID NO : 136、SEQ ID NO : 138、SEQ ID NO : 142、SEQ ID NO : 145、SEQ ID NO : 148、SEQ ID NO : 152、SEQ ID NO : 157、SEQ ID NO : 159、SEQ ID NO : 166、SEQ ID NO : 169、SEQ ID NO : 174、SEQ ID NO : 177、SEQ ID NO : 180、SEQ ID NO : 184、SEQ ID NO : 186、SEQ ID NO : 189、SEQ ID NO : 193およびSEQ ID NO : 196のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得、前記HCDR2は、SEQ ID NO : 96、SEQ ID NO : 103、SEQ ID NO : 106、SEQ ID NO : 110、SEQ ID NO : 114、SEQ ID NO : 117、SEQ ID NO : 120、SEQ ID NO : 124、SEQ ID NO : 128、SEQ ID NO : 131、SEQ ID NO : 134、SEQ ID NO : 139、SEQ ID NO : 143、SEQ ID NO : 146、SEQ ID NO : 149、SEQ ID NO : 153、SEQ ID NO : 155、SEQ ID NO : 160、SEQ ID NO : 162、SEQ ID NO : 164、SEQ ID NO : 167、SEQ ID NO : 171、SEQ ID NO : 175、SEQ ID NO : 178、SEQ ID NO : 181、SEQ ID NO : 187、SEQ ID NO : 190、SEQ ID NO : 192、SEQ ID NO : 194およびSEQ ID NO : 197のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得、前記HCDR3は、SEQ ID NO : 97、SEQ ID NO : 104、SEQ ID NO : 107、SEQ ID NO : 111、SEQ ID NO : 115、SEQ ID NO : 118、SEQ ID NO : 121、SEQ ID NO : 125、SEQ ID NO : 129、SEQ ID NO : 132、SEQ ID NO : 135、SEQ ID NO : 137、SEQ ID NO : 140、SEQ ID NO : 144、SEQ ID NO : 147、SEQ ID NO : 150、SEQ ID NO : 154、SEQ ID NO : 156、SEQ ID NO : 158、SEQ ID NO : 161、SEQ ID NO : 163、SEQ ID NO : 165、SEQ ID NO : 168、SEQ ID NO : 170、SEQ ID NO : 172、SEQ ID NO : 176、SEQ ID NO : 179、SEQ ID NO : 182、SEQ ID NO : 185、SEQ ID NO : 188、SEQ ID NO : 191、SEQ ID NO : 195およびSEQ ID NO : 198のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

10

20

30

【0115】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、HCDR1、HCDR2、HCDR3を含み得、かつ、前記HCDR1、HCDR2、HCDR3は、次の任意の一群のアミノ酸配列を含み得る：

- (1) HCDR1 : SEQ ID NO : 102、HCDR2 : SEQ ID NO : 103、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 104 ;
- (2) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 107 ;
- (3) HCDR1 : SEQ ID NO : 109、HCDR2 : SEQ ID NO : 110、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 111 ;
- (4) HCDR1 : SEQ ID NO : 105、HCDR2 : SEQ ID NO : 114、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 115 ;
- (5) HCDR1 : SEQ ID NO : 116、HCDR2 : SEQ ID NO : 117、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 118 ;
- (6) HCDR1 : SEQ ID NO : 119、HCDR2 : SEQ ID NO : 120、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 121 ;
- (7) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 124、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 125 ;
- (8) HCDR1 : SEQ ID NO : 127、HCDR2 : SEQ ID NO : 128、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 129 ;

40

50

(9) HCDR1 : SEQ ID NO : 130、HCDR2 : SEQ ID NO : 131、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 132 ;

(10) HCDR1 : SEQ ID NO : 95、HCDR2 : SEQ ID NO : 96、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 97 ;

(11) HCDR1 : SEQ ID NO : 133、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 135 ;

(12) HCDR1 : SEQ ID NO : 136、HCDR2 : SEQ ID NO : 134、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 137 ;

(13) HCDR1 : SEQ ID NO : 138、HCDR2 : SEQ ID NO : 139、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 140 ;

(14) HCDR1 : SEQ ID NO : 142、HCDR2 : SEQ ID NO : 143、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 144 ;

(15) HCDR1 : SEQ ID NO : 145、HCDR2 : SEQ ID NO : 146、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 147 ;

(16) HCDR1 : SEQ ID NO : 148、HCDR2 : SEQ ID NO : 149、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 150 ;

(17) HCDR1 : SEQ ID NO : 152、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 154 ;

(18) HCDR1 : SEQ ID NO : 123、HCDR2 : SEQ ID NO : 155、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 156 ;

(19) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 158 ;

(20) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 160、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 161 ;

(21) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 162、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 163 ;

(22) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 164、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 165 ;

(23) HCDR1 : SEQ ID NO : 166、HCDR2 : SEQ ID NO : 167、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 168 ;

(24) HCDR1 : SEQ ID NO : 169、HCDR2 : SEQ ID NO : 153、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 170 ;

(25) HCDR1 : SEQ ID NO : 157、HCDR2 : SEQ ID NO : 171、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 172 ;

(26) HCDR1 : SEQ ID NO : 174、HCDR2 : SEQ ID NO : 175、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 176 ;

(27) HCDR1 : SEQ ID NO : 177、HCDR2 : SEQ ID NO : 178、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 179 ;

(28) HCDR1 : SEQ ID NO : 180、HCDR2 : SEQ ID NO : 181、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 182 ;

(29) HCDR1 : SEQ ID NO : 184、HCDR2 : SEQ ID NO : 106、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 185 ;

(30) HCDR1 : SEQ ID NO : 186、HCDR2 : SEQ ID NO : 187、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 188 ;

(31) HCDR1 : SEQ ID NO : 189、HCDR2 : SEQ ID NO : 190、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 191 ;

(32) HCDR1 : SEQ ID NO : 159、HCDR2 : SEQ ID NO : 192、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 179 ;

(33) HCDR1 : SEQ ID NO : 193、HCDR2 : SEQ ID NO : 194、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 195 ; および

10

20

30

40

50

(34) HCDR1 : SEQ ID NO : 196、HCDR2 : SEQ ID NO : 197、およびHCDR3 : SEQ ID NO : 198。

【0116】

FR

本願では、抗体フレームワーク領域FRとは、抗体可変領域において、分岐性がより高い(すなわち、超可変)CDRの間に存在している部分を指す。これらのフレームワーク領域は、典型的にフレームワーク1~4(FR1、FR2、FR3およびFR4)と呼ばれ、かつ、6つのCDR(重鎖から3つ、軽鎖から3つ)を3次元的に提示して抗原結合表面を形成するための骨格を提供する。

【0117】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR1を含み得、前記H-FR1は、SEQ ID NO : 98に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0118】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR2を含み得、前記H-FR2は、SEQ ID NO : 216に示すアミノ酸配列 : MGWFRQAPGKGRELVAX₁₇ (SEQ ID NO : 216) を含み得、ここで、前記X₁₇ = A、F、G、R、SまたはVである。例えば、前記配列は、IMGTルールに従って区分し得る。

【0119】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR2を含み得、かつ、前記H-FR2は、SEQ ID NO : 99、SEQ ID NO : 108、SEQ ID NO : 112、SEQ ID NO : 122、SEQ ID NO : 151とSEQ ID NO : 173のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0120】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR3を含み得、かつ、前記H-FR3は、SEQ ID NO : 217に示すアミノ酸配列 : X₁YPDSVEGRFTISRDNKRMVYVYLMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO : 217) を含み得、ここで、前記X₁ = H、F、S、NまたはYである。例えば、前記配列は、IMGTルールに従って区分し得る。

【0121】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR3を含み得、かつ、前記H-FR3は、SEQ ID NO : 100、SEQ ID NO : 113、SEQ ID NO : 126、SEQ ID NO : 141とSEQ ID NO : 183のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0122】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR4を含み得、かつ、前記H-FR4は、SEQ ID NO : 101に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0123】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR1、H-FR2、H-FR3およびH-FR4を含み得、かつ、前記H-FR1、H-FR2、H-FR3およびH-FR4は、順次SEQ ID NO : 98、SEQ ID NO : 216、SEQ ID NO : 217とSEQ ID NO : 101に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0124】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、H-FR1、H-FR2、H-FR3およびH-FR4を含み得、かつ、前記H-FR1は、SEQ ID NO : 98に示すアミノ酸配列を含み得、前記H-FR2は、SEQ ID NO : 99、SEQ ID NO : 108、SEQ ID NO : 112、SEQ ID NO : 122、SEQ ID NO : 151とSEQ ID NO : 173のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得、前記H-FR3は、SEQ ID NO : 100、SEQ ID NO : 113、SEQ ID NO : 126、SEQ ID NO : 141とSEQ ID NO : 183のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得、かつ、前記H-FR4は、SEQ ID NO : 101に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0125】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖可変領域VHを含み得、かつ、前記VHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO :

10

20

30

40

50

20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0126】

本願では、前記抗原結合フラグメントは、VHHであり得、かつ、前記VHHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

10

【0127】

重鎖定常領域

本願では、前記の単離された抗原結合タンパク質は、重鎖定常領域を含み得る。前記重鎖定常領域は、少なくとも3つの重鎖恒定構造ドメインCH1、CH2、およびCH3の領域を含むことを指す。非限定的で、例示的な重鎖定常領域は、 γ 、 δ 、および ϵ を含む。非限定的で、例示的な重鎖定常領域はまた、 μ および ν を含む。各重鎖定常領域は、それぞれ1つの抗体アイソフォームに対応する。例えば、 γ 定常領域を含む抗体は、IgG抗体で、 δ 定常領域を含む抗体は、IgD抗体で、 ϵ 定常領域を含む抗体は、IgA抗体である。また、 μ 定常領域を含む抗体は、IgM抗体で、 ν 定常領域を含む抗体は、IgE抗体である。特定のアイソフォームは、さらにサブクラスに細分化し得る。例えば、IgG抗体は、IgG1（ γ_1 定常領域を含む）、IgG2（ γ_2 定常領域を含む）、IgG3（ γ_3 定常領域を含む）、およびIgG4（ γ_4 定常領域を含む）抗体を含むがこれらに限定されず、IgA抗体は、IgA1（ α_1 定常領域を含む）およびIgA2（ α_2 定常領域を含む）抗体を含むがこれらに限定されず、IgMは、IgM1およびIgM2を含むがこれらに限定されない。

20

30

【0128】

本願では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み得、前記抗体重鎖定常領域は、IgGに由来し得る。本願では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み得、前記抗体重鎖定常領域は、ヒトIgGに由来し得る。本願では、前記抗原結合タンパク質は、抗体重鎖定常領域を含み得、前記抗体重鎖定常領域は、ヒトIgG1に由来し得る。

【0129】

キメラ抗原受容体

別の態様では、本願は、キメラ抗原受容体（CAR）を提供し、前記キメラ抗原受容体（CAR）は、GPCR5Dタンパク質に結合するターゲティング部位を含み得、例えば、GPCR5Dタンパク質に結合するターゲティング部位は、本願に記載の抗原結合タンパク質であり得る。

40

【0130】

例えば、本願に記載のCARは、VHHを含み得、前記VHHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、

50

SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含む。

【0131】

本願では、前記CARは、GPCR5Dタンパク質に結合する細胞外のターゲティング部位を含むほか、細胞内構造ドメインを含み得る。

【0132】

本願では、前記CARは、刺激シグナルを提供するための細胞内の共刺激シグナル領域を含み得る。例えば、前記共刺激シグナル領域は、CD28、4-1BB、CD27、CD2、CD7、CD8、OX40、CD226、DR3、SLAM、CDS、ICAM-1、NKG2D、NKG2C、B7-H3、2B4、Fc RI、BTLA、GITR、HVEM、DAP10、DAP12、CD30、CD40、CD40L、TIM1、PD-1、LFA-1、LIGHT、JAML、CD244、CD100、ICOS、CD83のリガンド、CD40およびMyD88からなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質の細胞内共刺激シグナル領域を含み得る。

【0133】

例えば、前記共刺激シグナル領域は、4-1BBに由来する細胞内共刺激シグナル領域であり得る。例えば、前記共刺激シグナル領域は、SEQ ID NO : 78に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0134】

特定の実施形態では、前記CARは、少なくとも1つのITAMモチーフを有する構造ドメインを含み得る細胞内シグナル伝達領域を含み得る。前記細胞内シグナル伝達構造ドメインは、活性化されたシグナルを細胞内部に伝達し得る。例えば、前記細胞内シグナル領域は、CD3、CD3、CD3、CD3、CD79a、CD79b、Fc RI、Fc RI、Fc RIIa、ウシ白血病ウイルスgp30、Epstein-Barrウイルス(EBV)LMP2A、サル免疫不全ウイルスPBj14 Nef、カポジ肉腫ヘルペスウイルス(HSKV)、DAP10、DAP12および少なくとも1つのITAMを含む構造ドメインからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する細胞内シグナル領域を含み得る。

【0135】

例えば、前記細胞内シグナル領域は、CD3のシグナル伝達構造ドメインに由来し得る。例えば、前記細胞内シグナル領域は、SEQ ID NO : 80に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0136】

特定の実施形態では、前記CARは、細胞膜を貫通する細胞表面タンパク質内の配列である膜貫通ドメインを含み得、疎水性alphaヘリックスを含み得る。前記膜貫通ドメインは任意の1タイプ跨膜タンパク質に由来し得る。膜貫通ドメインは、疎水性ヘリックスを形成すると予測される合成配列であり得る。例えば、前記膜貫通領域は、CD8、CD28、4-1BB、CD4、CD27、CD7、PD-1、TRAC、TRBC、CD3、CD3、CTLA-4、LAG-3、CD5、ICOS、OX40、NKG2D、2B4、CD244、Fc RI、BTLA、CD30、GITR、HVEM、DAP10、CD2、NKG2C、LIGHT、DAP12、CD40L、TIM1、CD226、DR3、CD45、CD80、CD86、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD134、CD137、CD154およびSLAMからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質に由来する膜貫通ドメインを含み得る。

【0137】

例えば、前記膜貫通領域は、CD8に由来する膜貫通領域であり得る。例えば、前記膜貫通領域は、SEQ ID NO : 76に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0138】

特定の実施形態では、前記CARは、前記細胞外のターゲティング部位と前記膜貫通ドメインの間に位置し得るヒンジ領域を含み得る。例えば、前記ヒンジ領域は、CD28、IgG1、IgG4、IgD、4-1BB、CD4、CD27、CD7、CD8、PD-1、ICOS、OX40、NKG

2D、NKG2C、Fc RI、BTLA、GITR、DAP10、CD40L、TIM1、CD226、SLAM、CD30およびLIGHTからなる群から選ばれる1つまたは複数のタンパク質のヒンジ領域を含み得る。

【0139】

例えば、前記ヒンジ領域は、CD8に由来するヒンジ領域であり得る。例えば、前記ヒンジ領域は、SEQ ID NO: 74に示すアミノ酸配列を含み得る。

【0140】

本願では、前記CARの前記結合GPCR5Dタンパク質のターゲティング部位のN末端はまた、シグナルペプチドを含み得る。例えば、前記シグナルペプチドは、CD8タンパク質に由来するシグナルペプチドであり得る。例えば、前記シグナルペプチドは、SEQ ID NO: 72に示すアミノ酸配列を含み得る。

10

【0141】

本願では、前記CARは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントを含み得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、前記CARのC末端に位置し得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質1-12またはその機能性フラグメントを含み得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質6またはそのフラグメントであり得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、SEQ ID NO: 84に示すアミノ酸配列を含み得る。

20

【0142】

本願では、前記CAR中の前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、自己切断ペプチド（例えば、T2A、P2A、E2Aなどの2Aペプチド）を介してCARのC末端に接続し得る。例えば、前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントは、T2Aを介して、細胞内シグナル領域のC末端に接続し得る。

【0143】

本願では、前記CARは、N末端からC末端へと、順次GPCR5Dタンパク質に結合する標的部分（例えば、前記抗原結合タンパク質、さらにまた、本願に記載のVHH）、前記ヒンジ領域、前記膜貫通ドメイン、前記共刺激シグナル領域および前記細胞内シグナル領域を含み得る。例えば、前記CARは、N末端からC末端へと、順次前記VHH、CD8に由来するヒンジ領域、CD8に由来する膜貫通領域、4-1BBに由来する共刺激シグナル領域、およびCD3に由来する細胞内シグナル領域を含み得、かつ、前記VHHは、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 68およびSEQ ID NO: 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得る。

30

40

【0144】

本願では、前記CARは、N末端からC末端へと、順次GPCR5Dタンパク質に結合する標的部分（例えば、前記抗原結合タンパク質、さらにまた、本願に記載のVHH）、前記ヒンジ領域、前記膜貫通ドメイン、前記共刺激シグナル領域、前記細胞内シグナル領域、および前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントを含み得る。例えば、前記CARは、N末端からC末端へと、順次前記VHH、CD8に由来するヒンジ領域、CD8に由来する膜貫通領域、4-1BBに由来する共刺激シグナル領域、CD3に

50

由来する細胞内シグナル領域、およびSEQ ID NO : 84に示すアミノ酸配列の低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントを含み得、かつ、前記VHHは、SEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得る。

10

【0145】

本願では、前記CARは、N末端からC末端へと、順次シグナルペプチド、GPCR5Dタンパク質に結合する標的部分（例えば、前記抗原結合タンパク質、さらにまた、本願に記載のVHH）、前記ヒンジ領域、前記膜貫通ドメイン、前記共刺激シグナル領域および前記細胞内シグナル領域を含み得る。

【0146】

本願では、前記CARは、N末端からC末端へと、順次シグナルペプチド、GPCR5Dタンパク質に結合する標的部分（例えば、前記抗原結合タンパク質、さらにまた、本願に記載のVHH）、前記ヒンジ領域、前記膜貫通ドメイン、前記共刺激シグナル領域、前記細胞内シグナル領域、および前記低密度リポタンパク質受容体関連タンパク質またはそのフラグメントを含み得る。

20

【0147】

例えば、前記キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO : 86、SEQ ID NO : 88、SEQ ID NO : 90、SEQ ID NO : 92、SEQ ID NO : 200、SEQ ID NO : 201、SEQ ID NO : 202、SEQ ID NO : 203とSEQ ID NO : 204のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得る。例えば、前記キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO : 205、SEQ ID NO : 206、SEQ ID NO : 207、SEQ ID NO : 208、SEQ ID NO : 209、SEQ ID NO : 210、SEQ ID NO : 211、SEQ ID NO : 212、SEQ ID NO : 213およびSEQ ID NO : 214のいずれか1つに示すアミノ酸配列を含み得る。

30

【0148】

例えば、前記キメラ抗原受容体は、SEQ ID NO : 85、SEQ ID NO : 87、SEQ ID NO : 89およびSEQ ID NO : 91のいずれか1つに示すヌクレオチド配列にコードされ得る。

【0149】**核酸分子**

別の態様では、本願はまた、単離された抗原結合タンパク質および/またはキメラ抗原受容体をコードする、任意の長さのヌクレオチド、デオキシヌクレオチドおよび/またはリボヌクレオチドの単離形態であり得る、1つまたは複数の核酸分子を提供する。

【0150】

例えば、前記核酸分子は、プロモーターを含み得る。例えば、前記プロモーターは、構成的プロモーターであり得る。例えば、前記プロモーターは、EF1 プロモーターであり得る。

40

【0151】

例えば、前記核酸分子は、SEQ ID NO : 3、SEQ ID NO : 5、SEQ ID NO : 7、SEQ ID NO : 9、SEQ ID NO : 11、SEQ ID NO : 13、SEQ ID NO : 15、SEQ ID NO : 17、SEQ ID NO : 19、SEQ ID NO : 21、SEQ ID NO : 23、SEQ ID NO : 25、SEQ ID NO : 27、SEQ ID NO : 31、SEQ ID NO : 33、SEQ ID NO : 35、SEQ ID NO : 37、SEQ ID NO : 39、SEQ ID NO : 41、SEQ ID NO : 43、SEQ ID NO : 45、SEQ ID NO : 47、SEQ ID NO : 49、SEQ ID NO : 51、SEQ ID NO : 53、SEQ

50

ID NO : 55、SEQ ID NO : 57、SEQ ID NO : 59、SEQ ID NO : 61、SEQ ID NO : 63、SEQ ID NO : 65、SEQ ID NO : 67およびSEQ ID NO : 69のいずれか1つに示すヌクレオチド配列を含み得る。例えば、前記核酸分子は、SEQ ID NO : 85、SEQ ID NO : 87、SEQ ID NO : 89およびSEQ ID NO : 91のいずれか1つに示すヌクレオチド配列を含む。

【0152】

ベクター

別の態様では、本願は、前記核酸分子を含み得るベクターを提供する。前記ベクターは、宿主細胞を形質転換、形質導入またはトランスフェクトすることで、それが運ぶ遺伝物質エレメントが宿主細胞内で発現され得る。例えば、ベクターは、プロモーター、転写因子、エンハンサー、レプリコン、選択エレメントおよびレポーター遺伝子を含み得る。例えば、ベクターは、細胞内への侵入を補助する成分を含み得る。前記核酸分子がベクター中で複製するために、前記核酸分子の5'末端および3'末端はまた、長い末端反復配列を含み得る。

10

【0153】

例えば、前記ベクターは、ウイルスベクターであり得る。例えば、前記ベクターは、レンチウイルスベクターであり得る。

【0154】

細胞

別の態様では、本願は、前記の単離された抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子および/または前記ベクターを含む細胞を提供する。前記細胞は単一細胞の子孫を含み得る。自然突然変異、偶発突然変異、または意図的突然変異のために、子孫が必ずしも始原母細胞と同一同一ではない場合がある（全DNA相互補体の形態学的またはゲノムの）。

20

【0155】

いくつかの実施形態では、前記細胞は、免疫エフェクター細胞であり得る。いくつかの実施形態では、前記細胞は、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞（NK細胞）、マクロファージ、NKT細胞、単球、樹状細胞、顆粒球、リンパ球、白血球、末梢血単核細胞、胚性幹細胞、リンパ系前駆細胞および/または多能性幹細胞を含み得る。例えば、

いくつかの実施形態では、前記細胞は、T細胞であり得る。

30

【0156】

医薬組成物

別の態様では、本願は、前記の単離された抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子、前記ベクターおよび/または前記細胞、および任意に選ばれる薬学的に許容されるアジュバントを含み得る医薬組成物を提供する。

【0157】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物は、また1つまたは複数（薬学的に有効な）の支持剤、安定剤、賦形剤、希釈剤、可溶化剤、界面活性剤、乳化剤及び/または防腐剤の適当な製剤を含み得る。組成物の許容成分は使用用量と濃度で優先的に受取人に無毒である。本発明の医薬組成物は、液体、冷凍および凍結乾燥組成物を含み得る。

40

【0158】

いくつかの実施形態では、前記薬学的に許容されるアジュバントは、薬物投与に適合する任意及びすべての溶剤、分散媒体、コーティング、等張剤及び吸収遅延剤を含むことができ、通常は安全で、無毒であり、生物学的にも他の点でも好ましくないものではない。

【0159】

いくつかの実施形態では、前記医薬組成物は非経口、経皮、腔内、動脈内、髄腔内と/または鼻腔内投与または直接組織に注射することを含み得る。例えば、前記医薬組成物は注入または注射によって患者または被験者に投与することができる。いくつかの実施形態では、前記医薬組成物の使用は異なる方式によって行うことができ、例えば静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、局部または真皮内の使用である。

50

【0160】

調製方法

別の態様では、本願は、前記の単離された抗原結合タンパク質および/または前記キメラ抗原受容体を調製するための方法を提供する。前記方法は、前記抗原受容体および/または前記キメラ抗原受容体が発現される条件で、前記細胞を培養することを含み得る。

【0161】

本願は、また、前記ベクターを免疫細胞に導入することを含む、修飾された免疫エフェクター細胞を調製するための方法を提供する。

【0162】

使用

別の態様では、本願は、前記の単離された抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子、前記ベクター、前記細胞および/または前記医薬組成物の薬物調製における使用を提供し、前記薬物は、腫瘍の予防、緩和及び/または治療に用いる。

【0163】

別の態様では、本願は、腫瘍を予防、緩和および/または治療するための方法を提供し、前記方法は、前記の単離された抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子、前記ベクター、前記細胞および/または前記医薬組成物を被験者に投与することを含み得る。

【0164】

別の態様では、本願は、腫瘍の予防、緩和及び/または治療に用いる前記の単離された抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子、前記ベクター、前記細胞および/または前記医薬組成物を提供する。

【0165】

本願では、前記腫瘍は、固形腫瘍および/または非固形腫瘍を含み得る。

【0166】

本願では、前記腫瘍は、血液腫瘍および/またはリンパ腫を含み得る。

【0167】

本願では、前記腫瘍は、骨髄腫を含み得る。本願では、前記腫瘍は、多発性骨髄腫を含み得る。

【0168】

本願では、前記被験者は、ヒトまたは非ヒト動物を含み得る。

【0169】

別の態様では、本願は、前記抗原結合タンパク質を含むポリペプチドを提供する。別の態様では、本願は、前記の単離された抗原結合タンパク質を含む抗体-薬物複合体を提供する。

【0170】

別の態様では、本願は、前記の単離された抗原結合タンパク質、前記キメラ抗原受容体、前記核酸分子、前記ベクター、前記細胞および/または前記医薬組成物を含むキットまたは薬剤投与装置を提供する。

【0171】

以下の実施例は、理論に限定されることを意図するものではなく、本出願の抗原結合タンパク質、調製方法、使用等を説明するためにのみ使用され、本願の範囲を限定するために使用されるものではない。

【実施例】

【0172】

実施例

実施例1. 人工合成ナノ抗体ライブラリー NanoOri 1.0を用いた抗GPCR5D抗体のスクリーニング

まず、まず、PDBデータベース(Protein Data Bank)に登録されている繰り返し配列のない296種類のナノ抗体とその構造を比較し、CDR3の長さが14、17、21のア

10

20

30

40

50

ミノ酸の3種類のCDRs変異戦略を決定した。既に市販されているナノ抗体であるカプラシズマブ (Caplacizumab) をバックボーンとして選択し、Caplacizumabのヌクレオチド配列を全遺伝的に合成し、これをHP153ファージベクターにクローニングした後、HP153の一本鎖DNAを抽出し、Kunkel Mutagenesisの手法を用いてナノ抗体のCDRsを変異させ、二本鎖DNAを得た。二本鎖DNAを事前にM13KO7ヘルパーファージに感染させたコンピテント大腸菌SS320にエレクトロポレーションし、一晚培養した後にファージ上清を回収し、最終的にシードライブラリーとして、多様性が 1.44×10^{10} である合成ナノ抗体ライブラリー-NanoOri_1.0 (Shanghai YuanengOrigincell Technology Co., Ltd.) を構築し、抗体配列スクリーニングを行った。

【0173】

10

Sino Biological社から購入したGPRC5D完全長配列 (cat:HG24447-UT) を会社の既存のレンチウイルスベクターに構築し、レンチウイルス形質導入を行い、標的細胞CHO-GPRC5Dおよび標的細胞293-GPRC5Dの過剰発現細胞株を調製した。標的細胞CHO-GPRC5Dおよび293-GPRC5Dを用いて、人工合成ナノ抗体ライブラリー (Shanghai YuanengOrigincell Technology Co., Ltd.) 4回の交互パンニングを行った。

【0174】

人工合成ナノ抗体ライブラリー-NanoOri_1.0から1本取り出し、PEG/NaClを加え、再沈殿させて使用した。標的細胞CHO-GPRC5Dと293-GPRC5Dを、細胞パンニングのための交互スクリーンとして使用した。500 μ Lのファージと500 μ Lの10%FBS/PBS緩衝液を最終容量が1mLになるまで混合し、2mLの低吸着EPチューブに入れ、4 で1h 閉じ込め、緩やかに回転させるか周期的に振り混ぜた。CHO-GPRC5D細胞を140gで10min遠心して回収し、10mLのPBSで1回洗浄した。計数を行い、生存細胞数が95%以上に達した後、CHO-GPRC5D細胞を5%FBS/PBS緩衝液で3回洗浄した。次に、細胞数が 1×10^7 になるまで、1mLの5%FBS/PBS緩衝液に再懸濁した。この間、細胞は氷上に置いた。細胞を4 、140gで2min遠心分離し、閉じ込めた1mLのファージ抗体ライブラリーに再懸濁し、4 または室温で2h緩やかに回転させるか周期的に振り混ぜ、上清を除去し、回収した細胞を1mLの5%FBS/PBS緩衝液に再懸濁し、2回洗浄し、最後の懸濁後に、EPチューブに非特異的に吸着したファージの溶出を避けるために、新しい2mLの低吸着EPチューブに入れた。

20

【0175】

30

1mLの100nMのGly-HCl (pH2.2) で細胞を再懸濁し、室温で10minインキュベートした後、4 、140gで2min遠心分離し、上清を新しいEPチューブに移し、2M Tris中和液25 μ Lを加えた。中和液約1mLをさらに約500 μ Lの7.5%FBS/PBS緩衝液で中和した。

【0176】

CHO-GPRC5D細胞と同じ処理方法で、3つの吸着細胞CHOを遠心分離した。溶出して、中和できたファージをCHO細胞に再懸濁した。4 で、30min緩やかに回転させるか周期的に振り混ぜた。4 、140gで2min遠心分離し、上清を次の吸着工程に使い、この操作を3回繰り返した。最後のファージ上清をTG1細胞への感染に使用した。

【0177】

40

同じ方法で第2ラウンドの細胞パンニングを行い、標的細胞CHO-GPRC5D数は 5×10^6 とし、洗浄回数は3回とした。同じ操作方法で第3と第4ラウンドの細胞パンニングを行い、標的細胞を293-GPRC5Dに変更し、細胞数を 1×10^6 とし、洗浄回数を10回に増やした。

【0178】

4ラウンドのパンニング後に、アウトプットされたファージが標的細胞に対し、有意な特異的な濃縮が認められた。細胞に基づくモノファージELISAを用いて、パンニングによって得られたファージ抗体クローンを同定した：CHO-GPRC5D標的細胞を96ウェルELISA板において、 3×10^4 細胞/ウェルでコーティングし、4 で一晚置いた。次に、非特異的結合部位を5%脱脂粉乳で閉じ込め、十分に洗浄後、モノクローナルのファージ

50

上清（あらかじめ混合した脱脂粉乳）を取り、96ウェルプレートに入れ、2hインキュベートした。十分に洗浄後、Anti-M13-HRPを加え、45min反応させ、十分に洗浄した後、TMBを加えて発色させ、室温で5～10min作用させた後、硫酸で反応を終了させ、各ウェルのOD値を450nmで測定した。

【0179】

ELISAによる同定で、ヒトGPRC5Dに特異的に結合する34個のファージ抗体クローン（すなわち、本願に記載の単離されたGPRC5D抗体）を取得し、シーケンシング後に一本鎖V_{HH}遺伝子配列を取得し、この10個のファージ抗体クローンをそれぞれ3B5、3E7、4A2、4B3、3E9、3F5、3G4、4A4、4E12、4F10、505A1、505A3、505A11、505B12、505D2、505F1、505H3、505H8、505H10、506A5、506A8、506B6、506B12、506C2、506C5、506C8、506C11、506D2、506D8、506E1、506F5、506G1、506H2と506H9に命名した。34個のクローンのCDR配列は、表1に示し、可変領域のアミノ酸配列はそれぞれSEQ ID NO : 4、SEQ ID NO : 6、SEQ ID NO : 8、SEQ ID NO : 10、SEQ ID NO : 12、SEQ ID NO : 14、SEQ ID NO : 16、SEQ ID NO : 18、SEQ ID NO : 20、SEQ ID NO : 22、SEQ ID NO : 24、SEQ ID NO : 26、SEQ ID NO : 28、SEQ ID NO : 30、SEQ ID NO : 32、SEQ ID NO : 34、SEQ ID NO : 36、SEQ ID NO : 38、SEQ ID NO : 40、SEQ ID NO : 42、SEQ ID NO : 44、SEQ ID NO : 46、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 68およびSEQ ID NO : 70に示す。

10

20

【0180】

30

40

50

【表 1】

表 1 34 個のクローンの CDR 配列 (IMGT に基づく区分)

クローン番号	HCDR1	HCDR2	HCDR3
3B5	GFIFSRYG	INWSDGTT	AADRRLRSQTGYDY
3E7	GRIFSRDA	INSSGGNT	AARGVVRWTSTTAYGYNY
4A2	GFIFSRYD	ITWGGGST	AARSASAYRTGRLEYNY
4B3	GLIFSRYV	INSSGGST	AASSRTSTTRGYNY
3E9	GFIFSRYD	INWGDSST	AARRYYSYYPSSGGYNY
3F5	GFILSRYV	ITWSDGST	AAKSRTYRGGLYDY
3G4	GSIFSTYR	ISPGGSDT	AATPGRFALLSPRGYNY
4A4	GFIFSRNA	INWSGSST	AAGSRTNTGTDWSRTRYTYNY
4E12	GFIFSRNS	ISWRDGST	AAFRGWNNGRNYNY
4F10	GFIFSLNA	ISPGDGTT	AARRRSLSGYGYNY
505A1	GYIFSRYN	ISAGGSST	AARRRRATDSPYDY
505A3	GFIFSRYS	ISAGGSST	AAFARSPRTSTEYLYDY
505A11	GIIFSRYV	ITSGGGST	AAGPRPNYQRYNTYNY
505B12	GFIFSRYI	INAGGGST	AAGSASGWSTYSPRRLYRYNY
505D2	GYIFSRYA	INRGGSTT	AAGRFGGLSRTYDY
505F1	GRTLSNNT	ISASGSRT	AAVSRVGFYTRGATYNY
505H3	GNILSINI	ISRTGGST	AASSRRSSLNTYNY
505H8	GFIFSRNA	ITWSGGTT	AARIAYSSTWTYDY
505H10	GFIFSRYY	ISRTGGST	AADLYPGFRRGYNY
506A5	GFIFSRYA	ISRGSDST	AAVGRYYYYGYANNYNY
506A8	GFIFSRYA	INRGDSVT	AARGRTSLAYTYDY
506B6	GFIFSRYA	INAGGGTT	AAFTKRSLLTGSAVYNY
506B12	GLIFSRNA	INWGGGTT	AATTRTSRPYTYNY
506C2	GYIFSNDV	ISRTGGST	AASTRRRYATVDYRRDYTYDY
506C5	GFIFSRYY	ITSGDGST	AARSFRDDIYDYNY
506C8	GYIFSNYA	INRSGSIT	AANDVRGYRRYNY
506C11	GLIFSSYA	INRRGGST	AAGSRSSRLGYNY
506D2	GIIFSRYA	INRSGGRT	AAFLASWDGTTYDY
506D8	GYTLSSYY	ITWGGGST	AAARKRSVTYTTLSYAYSYDY
506E1	GYIFSRYS	ISSGSST	AATPRRSTGNTF
506F5	GGIFSSYA	INRGGGGT	AAFGRYSRGSDDSRYNY
506G1	GFIFSRYA	ISWSGGST	AAGSRSSRLGYNY
506H2	GRTFSYYT	TSRDGST	AAVRRWSSDSTYNY
506H9	GRTFSRYA	ISSRGSTT	AASLYVIPAWNEYGYNY

10

20

30

40

【 0 1 8 1 】

実施例 2. 抗GPRC5D V_HH hFc融合抗体の構築およびその真核発現および精製

ファージ抗体クローンである3B5、3E7、4A2、4B3、3E9、3F5、3G4、4A4、4E12、4F10、505A1、505A3、505A11、505B12、505D2、505F1、505H3、505H8、505H10、506A5、506A8、506B6、506B12、506C2、506C5、506C8、506C11、506D2、506D8、506E1、506F5、506G1、506H2および506H9および、陽性対照抗体であるET150-5 scFv (特許CN107428829A) を再設計し、Fc (IgG1) を含む真核発現ベクターに構築した：ファージ抗体クローンと3B5、3E7、4A2、4B3、3E9、3F5、3G4、4A4、4E12、4F10、505A1、505A3、505A11、

50

505B12、505D2、505F1、505H3、505H8、505H10、506A5、506A8、506B6、506B12、506C2、506C5、506C8、506C11、506D2、506D8、506E1、506F5、506G1、506H2および506H9のV_HHに対しPCR増幅を行うプライマーを設計し、組み換えによって、PCR産物をSfiIおよびNotI制限エンドヌクレアーゼによってダブルダイジェストされたpcDNA3.4-hFcベクターにクローニングした。正しくシーケンシング後に、そのプラスミドを293F細胞にトランスフェクションして一過性に発現させ、プロテインAアフィニティークラム（Protein Aカラム）によって精製し、3B5、3E7、4A2、4B3、3E9、3F5、3G4、4A4、4E12、4F10、505A1、505A3、505A11、505B12、505D2、505F1、505H3、505H8、505H10、506A5、506A8、506B6、506B12、506C2、506C5、506C8、506C11、506D2、506D8、506E1、506F5、506G1、506H2および506H9抗体を得た。抗体部分のSEC純度は、表2に示す。

10

【 0 1 8 2 】

【表 2】

表 2. V_HH 抗体の SEC 純度

名称	SEC 純度
3B5 VHH-hFc	97.5%
3E7 VHH-hFc	100%
4A2 VHH-hFc	100%
4B3 VHH-hFc	100%
3E9 VHH-hFc	76.5%
3F5 VHH-hFc	100%
3G4 VHH-hFc	100%
4A4 VHH-hFc	100%
4E12VHH-hFc	97.1%
4F10 VHH-hFc	98.7%
505A1 VHH-hFc	94.11%
505A3 VHH-hFc	93.37%
506D8 VHH-hFc	95.92%
506A8 VHH-hFc	96.52%
506B12 VHH-hFc	94.18%
506C5 VHH-hFc	90.90%
506C11 VHH-hFc	91.70%

20

30

【 0 1 8 3 】

実施例 3. 抗GPRC5D抗体と細胞表面GPRC5Dとの結合活性の検出

抗体（すなわち、実施例2で得られた3B5、3E7、4A2、4B3、3E9、3F5、3G4、4A4、4E12、4F10、505A1、505A3、505A11、505B12、505D2、505F1、505H3、505H8、505H10、506A5、506A8、506B6、506B12、506C2、506C5、506C8、506C11、506D2、506D8、506E1、506F5、506G1、506H2と506H9抗体）に対する細胞表面標的抗原（GPRC5D）結合活性を、0.1% BSAを含むPBSを緩衝液として、iQue Screenerフローサイトメーター（IntelliCyt社から購入）を用いて、フローサイトメトリー蛍光ソーティング（FACS）により検出した。簡単に説明すると緩衝液で濃度が 1×10^6 細胞/mLの標的細胞（すなわちMM1S骨髄腫細胞）を調製し、96ウェルのシャープボトムプレート（corning 3894）各ウェルに30 μ Lを入れた。緩衝液で検出抗体濃度を10 μ g/mLに調製し、抗体を3倍の比率で希釈し、8つの濃度勾配を形成した。調製された各濃度の抗体を30 μ L/ウェルで、広げた標的細胞に加え、均一

40

50

に混ぜた。4 の冷蔵庫で1hインキュベートした。各ウェルに緩衝液150 μ Lを加え、300gで5min遠心し、上清を捨てた後、振盪して細胞をほぐし、1回洗浄した。緩衝液を使用して、1:200の比率で蛍光二次抗体(ab98593)を調製し、30 μ l/ウェルで細胞に入れて均一に混ぜ、4 の冷蔵庫で30minインキュベートした。各ウェルに緩衝液150 μ Lを加え、300gで5min遠心し、上清を捨てた後、振盪して細胞をほぐし、1回洗浄した。各ウェルに緩衝液35 μ Lを加え、均一に混ぜた後、フローサイトメーターで検出した。フローサイトメーターによる親和性結合試験の分析結果は、表3と図1に示し、本願の抗GPRC5D VHHは細胞表面のGPRC5Dに結合することができ、かつ、結合能が陽性対照であるET150-5 scFvの同等以上である。

【0184】

10

【表3】

表3. 抗GPRC5D抗体と細胞表面GPRC5Dタンパク質との結合

GPRC5D 抗体 (EC50 μ g/mL)	細胞株		
	CHO-GPRC5D	K562-GPRC5D	MM1S
3B5 VHH	0.1035	0.2066	0.04387
3E7 VHH	0.4259	0.5761	0.2865
4A2 VHH	0.06866	0.1644	0.01948
4B3 VHH	0.1805	0.2158	0.6580
505A1 VHH	0.1055	0.2302	0.03769
505A3 VHH	0.1163	0.1169	0.01372
505A11 VHH	0.1255	0.1748	0.05886
505B12 VHH	0.1546	0.1622	0.1357
505D2 VHH	0.0886	0.1118	0.0389
505F1 VHH	2.462	0.9059	0.6288
505H3 VHH	0.0857	0.09154	0.3283
505H8 VHH	0.1186	0.1695	0.04929
505H10 VHH	0.2438	0.8443	0.06741
506A5 VHH	0.4368	1.412	0.05372
506D8 VHH	0.107	0.295	0.08999
506E1 VHH	0.2181	1.672	0.04386
506F5 VHH	0.1196	0.6153	0.06907
506H2 VHH	0.1357	0.2513	0.2748
506H9 VHH	0.1887	0.3309	0.2166
506A8 VHH	0.06495	0.1411	0.03572
506B6 VHH	0.1021	0.4826	0.07292
506B12 VHH	0.09338	0.2468	0.07139
506C2 VHH	0.07475	0.165	0.04642
506C5 VHH	0.1266	0.2835	0.02748
506C8 VHH	0.3918	1.743	0.121
506C11 VHH	0.1451	0.2715	0.0521
506D2 VHH	0.1264	0.4848	0.05586
506G1 VHH	0.129	0.2945	0.02277
ET150-5 scFv	0.2490	0.4315	0.9109

20

30

40

50

【 0 1 8 5 】

実施例4. キメラ抗原受容体レンチウイルス発現ベクターの構築

SphIおよびNotIエンドヌクレアーゼ（NEBから購入）を用いて、CARレンチウイルスコア空プラスミド（Shanghai Yuaneng Origincell Technology Co., Ltd.が自己構築したもので、ori2新規エレメントを含む。以下、CARレンチウイルス空ベクターという）をダブルダイジェストを行い、8992bpの線状化フラグメントを産生し、ゲル切断により回収後、実施例1で得られた3B5, 3E7, 4A2, 4B3, 3E9, 3F5, 3G4, 4A4, 4E12および4F10のVHHフラグメントと、1:3のモル比で混合した。相同組換えを行い、DH5 コンピテントセルを形質転換した。シングルコロニーを摘出し、シーケンシングにより同定した。CARレンチウイルス空ベクターおよびGPRC5Dコアプラスミド（3B5VHH-CAR-ori2, 3E7-CAR-ori2, 4A2-CAR-ori2, 4B3-CAR-ori2, 3E9-CAR-ori2, 3F5-CAR-ori2, 3G4-CAR-ori2, 4A4-CAR-ori2, 4E12-CAR-ori2および4F10-CAR-ori2）におけるCAR各部のエレメントおよび接続順序について図面2、アミノ酸配列は順次SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 199、SEQ ID NO: 200、SEQ ID NO: 201、SEQ ID NO: 202、SEQ ID NO: 203およびSEQ ID NO: 204に示す。

10

【 0 1 8 6 】

実施例5. レンチウイルスの包装およびウイルス力価測定

一例として、本発明を構築するために使用されるレンチウイルスベクターシステムは第3世代に属し、同システムは、Gag-Polタンパク質およびRevタンパク質をコードするパッケージングプラスミドpsPAX2と、エンベロープタンパク質VSV-GをコードするPMD2.Gプラスミドと、コアプラスミドとの3つのプラスミドからなり、すなわち、前記実施例4において、VHH配列を含む各CARレンチウイルスプラスミド（すなわち3B5VHH-CAR-ori2, 3E7-CAR-ori2, 4A2-CAR-ori2, 4B3-CAR-ori2, 3E9-CAR-ori2, 3F5-CAR-ori2, 3G4-CAR-ori2, 4A4-CAR-ori2, 4E12-CAR-ori2と4F10-CAR-ori2）である。各CARレンチウイルスプラスミドにおけるCAR遺伝子の発現は、伸長因子-1（EF-1）プロモーターによって制御される。

20

【 0 1 8 7 】

5.1 レンチウイルスのパッケージングプロセスは次のとおり。

(1) 293T細胞完全培地（10%FBSを含む高糖DMEM）5mLに、増殖状態の良い293T細胞（通常20世代以内の細胞を選ぶ）を約 2.5×10^6 個を入れ、よく混合した後、6cmディッシュに接種し（20-24時間後に細胞コンフルエントが80-90%になることを確保する）、37℃, 5%CO₂のインキュベーター内で一晚培養した。

30

(2) 約20-24h後に、Opti-MEM培地300μLをとり、3つのプラスミド（質量比で、CARレンチウイルスコアプラスミド：psPAX2：PMD2.G=4:3:2の比率で加える）を合計で6.3μg加え、よく混合した後、FuGENEHDトランスフェクション試薬（Promega, E2311）18.9μLを添加し、注意深くよく混合した後、室温で15-20min静置した。次に混合液を6cmディッシュに注意深く滴下添加し、ディッシュを注意深く振とうした後、37℃, 5%CO₂のインキュベーター内で一晚培養した。

(3) トランスフェクトの約20-24h後、6cmディッシュの上層液を注意深く捨て、293T細胞完全培地5mLをゆっくり加えた。

40

(4) トランスフェクトの約48h後、6cmディッシュの上層液（死細胞と破片を含む）を回収し、3000gで5min遠心分離し、細胞破片を除去した上層ウイルス液を新しい遠沈管に移し、分注後に-80℃で保管した。

【 0 1 8 8 】

5.2 レンチウイルス力価測定は、次のように行った。

(1) 記で調製したウイルス溶液を素早く解凍した。

(2) 増殖状態の良い293T細胞（通常20世代以内の細胞を選ぶ）を取り、上層廃液を捨て、PBSで細胞を洗浄した後、0.25%の胰酵素（GIBICO）を用いて、37℃で約3min消化し、細胞が完全に消化された後、所定容積の293T細胞完全培地を加え、反応を終了

50

させた。サンプリングして計数し、細胞密度を 2.0×10^5 /mLに調整し、最終濃度が10 μ g/mLであるポリブレン (polybrene) を加え、2.5mL/ウェルの接種量で、細胞を6ウェルプレートに接種した。

(3) 次に、6ウェルプレートにそれぞれ前記ウイルス溶液を加えた。通常、各ウイルス溶液について、2 μ L、5 μ Lおよび10 μ Lという3つの試料勾配を作り、かつ、フローサイトメリー測定を行う際の陰性対照として、ウイルス溶液を加えないブランクウェルを1-2個を用意した。

(4) 細胞培養プレートを37 $^{\circ}$ C、5% CO₂のインキュベータで静置培養した。

(5) 細胞を静置培養した48h後に、上層廃液を捨て、PBSで細胞を洗浄した後、0.25%の胰酵素 (GIBICO) を用いて、37 $^{\circ}$ Cで約3min消化し、細胞が完全に消化された後、所定容積の293T細胞完全培地を加え、反応を終了させた。サンプリングして計数し、約 5×10^5 個の細胞を1.5mL無菌遠沈管に入れ、マークを付けた。

(6) NBS溶液 (1%牛新生子血清を含むPBS溶液) を用いて、1.2-1.5mLにし、4 $^{\circ}$ C、500gで5min遠心分離し、上清を捨てた。

(7) 各管にNBS 1mLを加え、軽く吹き混ぜて、4 $^{\circ}$ C、500gで5min遠心分離し、上清を十分に捨てた。

(8) 各管にNBS 50 μ L およびBiotin-Goat anti-human F(ab)₂抗体 (109-066-006) 0.8 μ gを加え、ピペッターで軽く吹き混ぜ (陰性対照には、一次抗体を加えない)、4 $^{\circ}$ Cで60minインキュベートした。

(9) インキュベート完了後に、直接NBS 1mLを加えて細胞を再懸濁し、4 $^{\circ}$ C、500gで5min遠心分離し、上清を捨てた。

(10) 各管にNBS 50 μ LおよびAPC streptavidin (554067) 蛍光二次抗体 (陰性対照にはこのタンパク質を加えない) を加え、4 $^{\circ}$ Cで30minインキュベートした。

(11) 手順(9)を繰り返した。

(12) 各管にNBS再懸濁細胞200 μ Lを入れた。

(13) BD FACS Cantollフローサイトメーターで蛍光発現百分率を検出し、データを処理した。

【0189】

各試験管の陽性率 - 陰性対照陽性率が5%-20%である場合のみ、結果が利用できる。

【0190】

レンチウイルス力価 (I₅₀/mL) = プレーティング細胞数 \times (試験管陽性率 - 対照管陽性率) / 接種したウイルス容積 (mL)。

【0191】

測定した結果、前記のVHHを含む各CARウイルスの力価範囲は $1-10 \times 10^6$ I₅₀/mLであった。

【0192】

実施例6. T細胞感染およびin vitroでのBCMA CAR-T細胞の増幅

GPRC5D抗体配列および陽性対照配列109 scFv (特許CN107428829A) を含むCAR-T細胞の調製方法は下記の通り。

(1) Ficoll密度勾配遠心法で、アフエレーシス装置によって採取した血液サンプルを単離し、ヒト末梢血単核球 (PBMC) (アフエレーシス血液はShanghai Yuaneng Origin Cell Technology Co., Ltd. 方舟プログラムのボランティアにより提供されたものである) を得た。

(2) PBMCは、CD3陽性磁気ビーズによって選別され、純度 90%のCD3+T細胞を得た。T細胞選別方法について、製品取扱説明書 (MACS, DS130-050-101) を参照する。

(3) T細胞完全培地 (X-VIVO 15 (Lonza) +5%FBS+サイトカイン) を用いてCD3+T細胞を再懸濁し、さらに3倍の細胞量ですでに洗浄されたCD3/CD28 Dynabeads (Gibco, 40203D) を加え、T細胞完全培地を補充し、細胞密度を $1.0-1.2 \times 10^6$ 細胞/mLに調整し、細胞を37 $^{\circ}$ C、5%CO₂インキュベータで活性化して培養した (記録はD0で

10

20

30

40

50

ある)。

(4) レンチウイルス形質導入は、T細胞活性化の20-24h後に行われる。

(5) 20-24h活性化されたT細胞を回収し、500gで5min遠心分離した後、所定容積のT細胞完全培地で細胞を再懸濁し、サンプリング、計数後に、ウイルス再感染指数(MOI)が2-5である比率で、それぞれ実施例5で力価を測定したウイルス溶液を加え、さらに最終濃度が5 μ g/mLになるように、polybreneを加え、T細胞完全培地を補充し、細胞密度を0.6-1.0 $\times 10^6$ /mLに調整した。さらに細胞を37 $^{\circ}$ C、5%CO₂インキュベータで培養し、別途陰性対照群として、レンチウイルス感染なしのT細胞を採取した。

(6) ウイルス形質導入の約20-24h後、各群のT細胞を収集し、500gで5min遠心分離した後、所定容積のT細胞完全培地で細胞を再懸濁し、サンプリング、計数後に、T細胞完全培地を補充し、細胞密度を0.5-0.7 $\times 10^6$ 細胞/mLに調整した。

(7) その後、1-2ごとに、CAR-T細胞の計数処理を行い、実情に合わせてT細胞完全培地を補充し、細胞密度を0.5-1.0 $\times 10^6$ 細胞/mLに調整した。

(8) 通常、Dynabeadsは、培養7日目に除去され、全培養サイクルは約12日間であった。

【0193】

実験結果は図3A-3Dに示し、活性化して12日間培養したGPRC5D CAR-T細胞の増幅総倍数は、100~600倍であり、感染後のCAR陽性率は、75%~95%で、細胞学的機能実験に使用できる。

【0194】

実施例7. GPRC5D CAR-T細胞のin vitro標的殺傷活性の評価

標的細胞に対するCAR-T細胞の殺傷能力を正確に検出するために、レンチウイルスを介してGPRC5D遺伝子をCHO細胞に導入し、フローソーターを使用してGPRC5D陽性細胞、すなわちCHO-GPRC5D細胞を選別した。標的細胞はCHO-GPRC5D細胞とし、陰性細胞はCHO陰性細胞とした。9日目まで培養したエフェクター細胞を、それぞれエフェクターと標的の比率1:3、1:1および3:1の比率で、標的細胞と20hインキュベートし、LDH方法で標的細胞の生存状況(すなわち、CAR-T細胞の殺傷力)を判断した。

【0195】

細胞の殺傷毒性は、次の計算式で計算できる。

【数式1】

【0196】

$$\%殺傷率 = \frac{\text{実験ウェル} - \text{標的細胞の自発的放出} - \text{エフェクター細胞の自発的放出}}{\text{標的細胞の最大放出} - \text{標的細胞の自発的放出}} \times 100$$

【0197】

図4A~図4Cに示すように、ブランクエフェクター細胞であるT細胞と比較した結果、抗GPRC5D CAR-T細胞と109陽性対照は、勾配依存的に標的細胞に対して有意な殺傷効果を示した。一方、非標的細胞に対する殺傷効果は認められなかった。

【0198】

殺傷力を検出する別の方法では、標的細胞としてMM1S-luciferaseを用い、エフェクターCAR-T細胞と6h共インキュベートした後、残存する標的細胞のルシフェラーゼ値を検出することで殺傷効果を判定した。エフェクター対標的比を1:1としたときの検出結果は、4Dに示し、その結果は、T細胞と比較して、本願のCAR-T細胞が有意な殺傷効果を有することを示している。

【0199】

実施例8. in vitroでの殺傷後のGPRC5D CAR-T細胞のサイトカイン分泌

実施例7を参照して、96ウェルプレートで標的細胞殺傷実験を行い、エフェクター細胞と標的細胞の比率を1:1とし、各96ウェルのエフェクター細胞数を 2×10^4 個とし、順次標的細胞とエフェクター細胞を加え、各群に各エフェクター対標的比の下で2つの複製

10

20

30

40

50

ウェルを設定し、各群に2つの個別のエフェクター細胞ウェルを設定し、エフェクター細胞のバックグラウンド因子分泌量を検出した。

【0200】

標的細胞の殺傷から約24h後、96ウェルプレートで遠心分離し、各ウェルの上清を回収した（すぐに検査しない場合は、上清を-80℃の冷蔵庫で保存する必要がある）。

【0201】

エフェクター細胞を遠心分離して上清を除去し、X-VIVOで 3×10^5 細胞/mLに希釈し、各ウェルから100 μ Lを取っておいた。丸底96ウェルプレート内に、非標的細胞（すなわち、腫瘍細胞と共に培養しなかったCAR-T細胞）およびMM1S細胞と、1:1のエフェクター対標的比で混合し、24h共インキュベートした後、上清を吸引し、上清中のIL-2およびIFN- γ 含量をR&D Cytokine Kitで検出した。

10

【0202】

図5に示すように、MM1S細胞による刺激がない場合、各CAR-T細胞群は少量のIL-2およびIFN- γ を分泌したが、MM1S細胞による刺激を受けた場合、本願で選定した陽性対照109-ori2と比較して、本願では、標的細胞を殺傷する際により多くのIFN- γ 分泌を生じた。

【0203】

実施例9. GPRC5D CAR-T細胞の標的増殖能力

本実施例では、CAR-T細胞の標的増殖能力検出のために、標的細胞として未処理のMM1S細胞を選定した。

20

【0204】

通常、CAR-T細胞を9-12日程度培養した後に実施するが、事前に各群のCAR陽性率を検出し、さらにブランクエフェクターT細胞を用いて、各群のCAR陽性率が一致するように調整した（培地は、添加剤を一切含まないX-VIVO 15培地を選定した）。

【0205】

CAR-T細胞とMM1S細胞を、1:1のエフェクター対標的比で1回目の標的刺激を与え、4-5日共インキュベートした後、すべての細胞を回収し、サンプリング、計数後に、さらに1:3（全CAR-T細胞：新MM1S細胞）の比率で、2回目の標的刺激を与え、さらに4-5日共インキュベートした後、3回目の標的刺激（二細胞間の比率は、2回目の標的刺激と同じであった）を与えた。3回の標的刺激中に、細胞増殖状況に応じて、適切な量のX-VIVO 15培地を1~2日ごとに補充した。

30

【0206】

図6に示すように、GPRC5D CAR-T細胞に対して、2、3回の標的刺激を与えた後、本願のCAR-T増殖増幅倍数は陽性対照と同等であった。これに対し、T細胞の共インキュベートウェルおよび単独のMM1S標的細胞ウェルはほとんど増幅しなかった。

【0207】

実施例10. GPRC5D CAR-Tマウスin vivo試験

我々はさらに、NSGマウスを用いて、in vivoでGPRC5D CAR-T細胞の腫瘍消失効果および腫瘍抑制効果を検証した。具体的には、T細胞群、陽性対照群、GPRC5D CAR-T細胞群の3群に分け、各群に5匹ずつのマウスで試験を行った。まず、NSG小鼠に対し、 1×10^7 細胞/匹の投与量でMM1S細胞を皮下接種し、約2週間後（腫瘍サイズが50-150 mm^3 である）に10~12日間培養したCAR-T（またはT）細胞を3群尾静脈注射し、CAR-T細胞の投与量は3群とも 2×10^6 個/匹とした（各マウスの総接種細胞数はT細胞で一して調整した）。CAR-T（或T）細胞を接種した後、CAR-T（またはT）細胞接種後7日目と14日目にマウスの末梢血からサイトカイン分泌を検出し、週3回マウスの腫瘍サイズと体重を測定し、3週間観察した。

40

【0208】

サイトカイン分泌に関しては、図7Bおよび7Cに示すように、GPRC5D CAR-T細胞群はマウス体内からより多くのIFN- γ を産生し、かつ、持続期間も長かった（CAR-T投与後14日目に検出されたIFN- γ は、対照群より有意に多かった）が、IL-2などの他のサイ

50

トカインの分泌は非常に低く、群間の差は非常に小さかった。

【0209】

腫瘍消失速度に関しては、図7Eに示すように、GPRC5D CAR-T細胞は基本的に陽性対照群とほぼ一致するようになり、T細胞群と比較して、とても有意な腫瘍消失効果が認められた。

【0210】

図7Dに示すように、NSGマウスにCAR-T（またはT）細胞を接種した後、2～3日ごとにマウスの体重を測定し、マウスの体重曲線をプロットし、マウスの毛色、排泄物、食餌摂取水、躯体の動き、およびマウスの死亡状況を観察し、記録した。GPRC5D CAR-T細胞と陽性対照群のマウス体重は時間の経過とともに安定した成長傾向を示し、T群のマウスの体重曲線傾向と一致していた。試験期間に、GPRC5D CAR-T細胞と陽性対照群のマウス毛色が鮮やかで、行動、食餌摂取水、尿や糞の色はすべて正常であり、GPRC5D CAR-T細胞がマウス体内において良好な安全性を有することが確認された。

10

【0211】

実施例11. GPRC5D抗体の特異性試験

抗体（すなわち、実施例2で得られた3B5, 3E7, 4A2, 4B3, 3E9, 3F5, 3G4, 4A4と4E12抗体）に対する細胞表面標的抗原（GPRC5D）の非特異性結合試験を、0.1% BSAを含むPBSを緩衝液として、iQue Screenerフローサイトメーター（IntelliCyt社から購入）を用いて、フローサイトメトリ蛍光ソーティング（FACS）により実施した。すなわち、標的細胞（すなわち、A549細胞、KERA細胞、MCF-7細胞、MSC細胞などGPRC5D抗原を発現しない細胞）を緩衝液で 1×10^6 細胞/mLに設定し、96 ウェルシャーボトムプレート（corning 3894）に30 μ L/ウェルで添加した。緩衝液を用いて20 μ g/mLの濃度で検出抗体を調製し、抗体を3倍に希釈して8つの濃度勾配を形成し、調製した異なる濃度の抗体を30 μ L/ウェルでプレATINGした標的細胞に加え、よく混合し、4 の冷蔵庫で1hインキュベートし、各ウェルに150 μ Lの緩衝液を加え、300gで5min遠心分離し、上清を捨て、振盪して細胞をほぐし、洗浄を1回繰り返した。緩衝液を用いて、1:200の比率で蛍光二次抗体（ab98593）を調製し、30 μ L/ウェルで細胞に加え、よく混合した後、4 の冷蔵庫で30minインキュベートした。各ウェルに緩衝液150 μ Lを加え、300gで5min遠心分離し、上清を捨て、振盪して細胞をほぐし、洗浄を1回繰り返した。各ウェルに緩衝液35 μ Lを加え、よく混合した後に、フロー

20

30

【0212】

フローサイトメトリによる親和性結合実験の解析結果を図8A～8Dおよび図9A～9Dに示し、抗GPRC5Dの3B5、3E7、4A2、4B3、3E9、3F5、3G4、4A4および4E12抗体は上記の細胞に非特異的に結合しないため、抗GPRC5D抗体が強い特異性を有することが示唆された。

【0213】

実施例12. GPRC5D抗体のエンドサイトーシス効果実験

野生型細胞株であるMM.1S細胞およびGPRC5D標的抗原を過剰発現するNCIH929-GPRC5D細胞を選定し、具体的な操作手順は下記の通り。5 $\times 10^4$ 細胞/ウェルの標的細胞を96ウェルV底プレートに、30 μ L/ウェルずつ、計2枚のプレート（プレートAとプレートB）にコーティングした。抗体希釈濃度は20 μ g/mLで開始し、3倍比勾配で希釈し、合計7つの濃度勾配を設定し、30 μ L/ウェルで標的細胞がコーティングされた96ウェルV底プレートに加え、よく混合し、1hインキュベートした後、0.1%BSAを含むPBSで1回洗浄した。抗体希釈濃度を参考にし、1:200で希釈し、30 μ L/ウェルでAnti-Human IgG-Fc（Dylight650）二次抗体を加え、4 で30minインキュベートした後、0.1%BSAを含むPBSで1回洗浄し、さらに完全培地（RPMI1640+10%FBS）50 μ Lを加え、それぞれ、プレートAとプレートBを4 と37 のインキュベータで2hインキュベートし、0.1%BSAを含むPBSで1回洗浄した。各ウェルに蛍光消光緩衝液30 μ Lを加え、4 で10min放置した後、0.1%BSAを含むPBSを加え、1回洗浄し、30 μ L/ウェルの0.1

40

50

% BSAを含むPBSで再懸濁し、intellicyt iQue3フローサイトメーターで検出した。

【 0 2 1 4 】

結果は図10A-10Dに示されており、本願で提供されるGPCRC5D抗体は37で様々な程度のエンドサイトーシス効果を有することを示している。

【 0 2 1 5 】

前述の詳細な説明は、説明および例として提供されるものであり、添付の請求項の範囲を限定することを意図するものではない。本願に記載された実施形態の様々な変更は、当業者には明白であり、添付の特許請求の範囲およびそれと同等の方法の範囲内にとどまる。

【 図 面 】

10

【 図 1 A 】

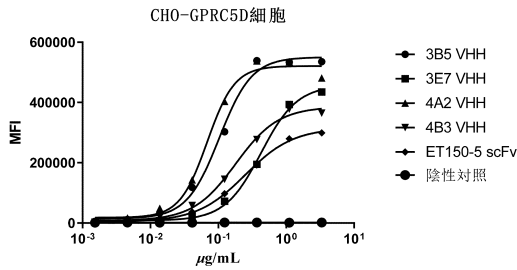


図 1A

【 図 1 B 】

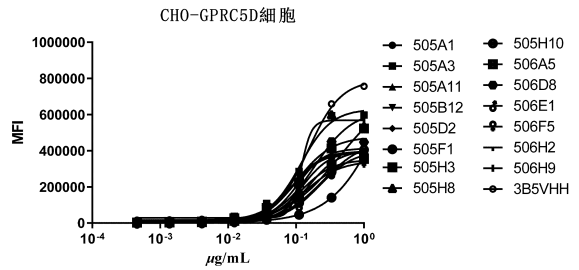


図 1B

20

【 図 1 C 】

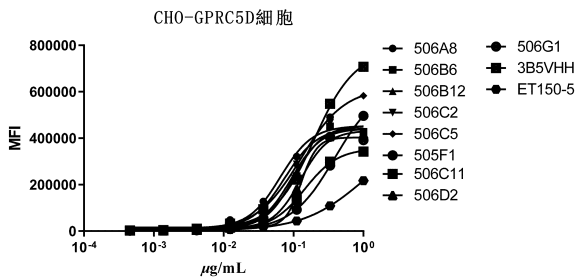


図 1C

【 図 1 D 】

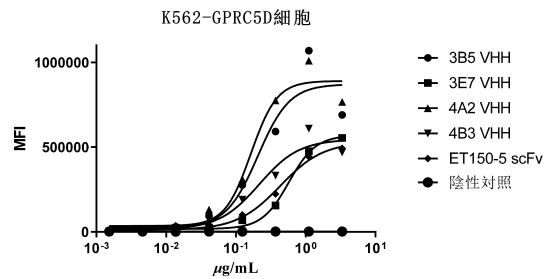


図 1D

30

40

50

【 図 1 E 】

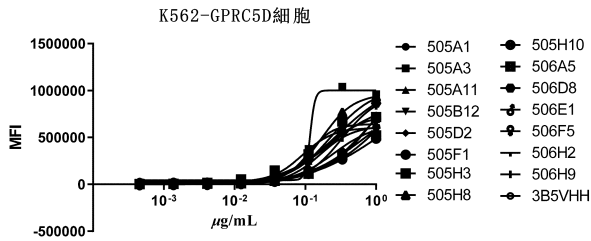


図 1E

【 図 1 F 】

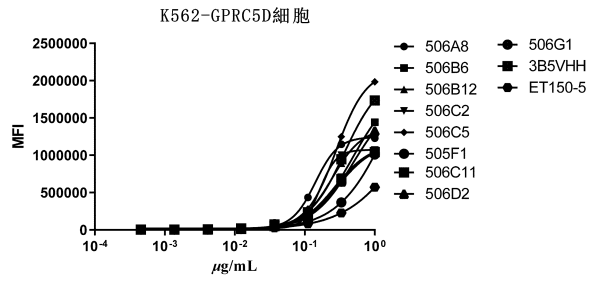


図 1F

10

【 図 1 G 】

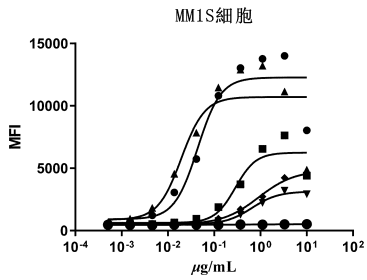


図 1G

【 図 1 H 】

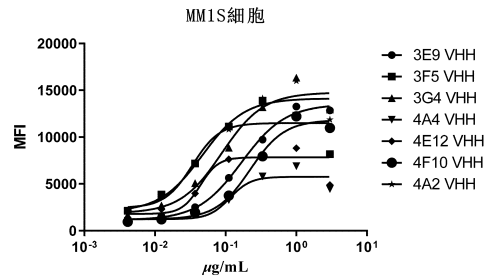


図 1H

20

【 図 1 I 】

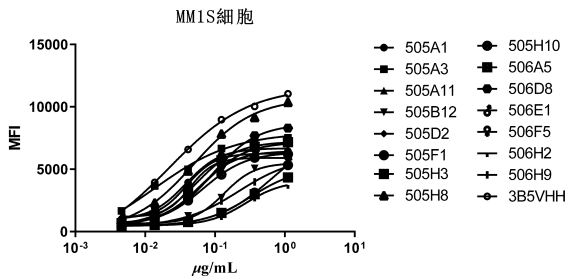


図 1I

【 図 1 J 】

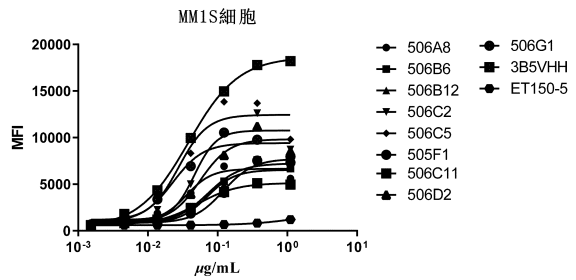


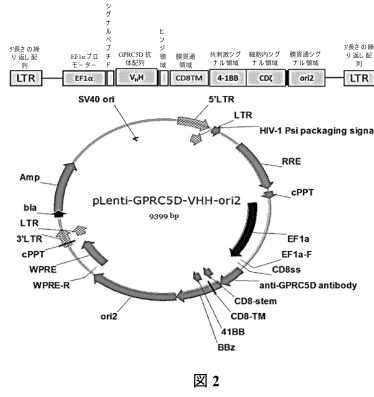
図 1J

30

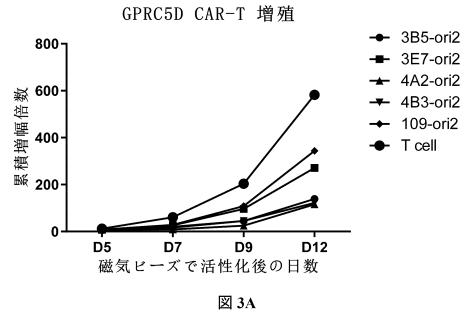
40

50

【 図 2 】

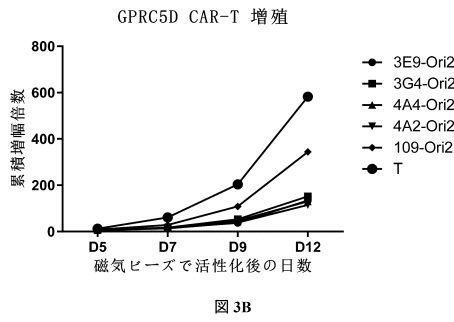


【 図 3 A 】

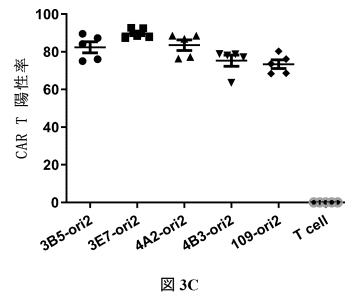


10

【 図 3 B 】

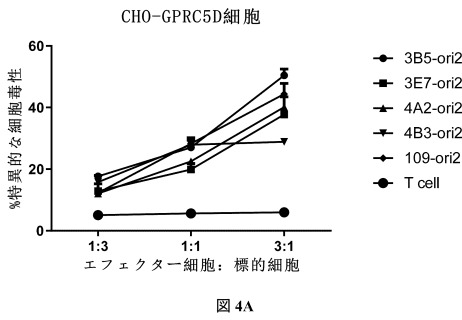


【 図 3 C 】

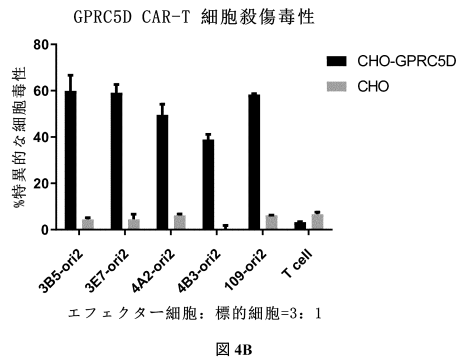


20

【 図 4 A 】



【 図 4 B 】



30

40

50

【 図 4 C 】

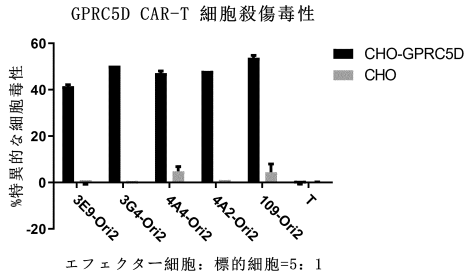


図 4C

【 図 4 D 】

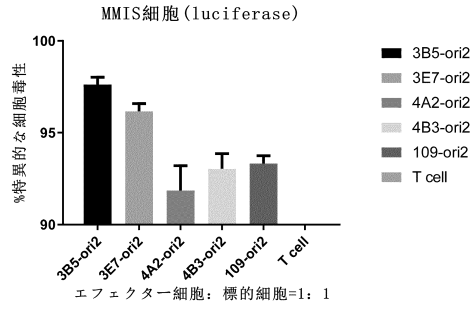


図 4D

10

【 図 5 A 】

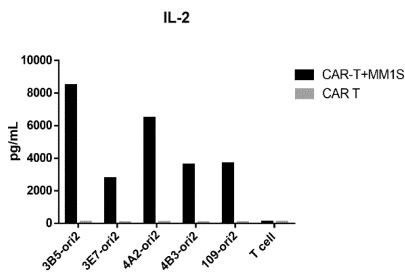


図 5A

【 図 5 B 】

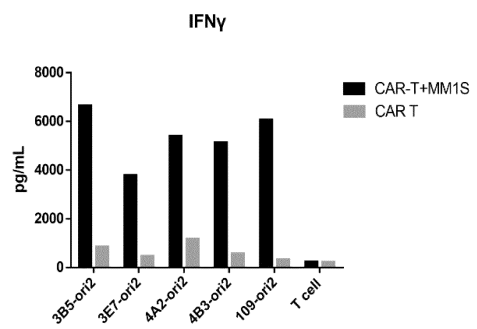


図 5B

20

【 図 6 】



図 6

【 図 7 】

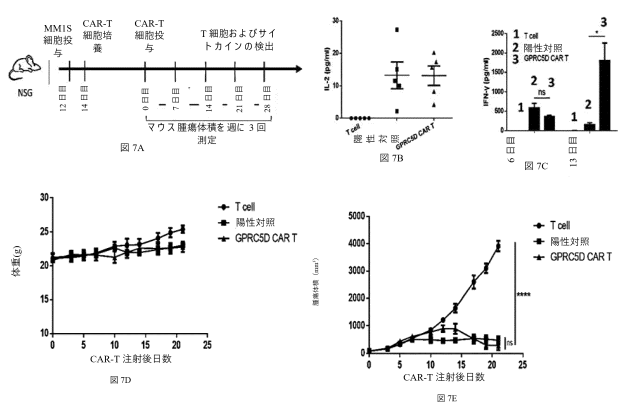


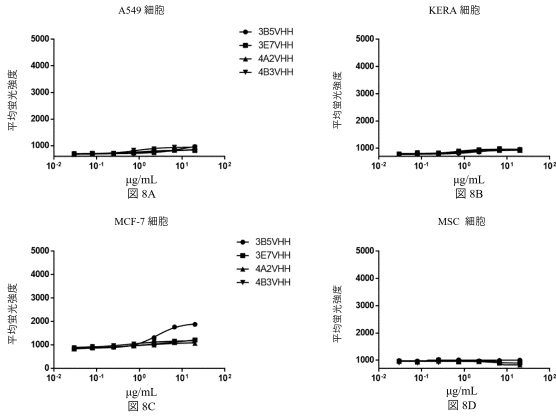
図 7

30

40

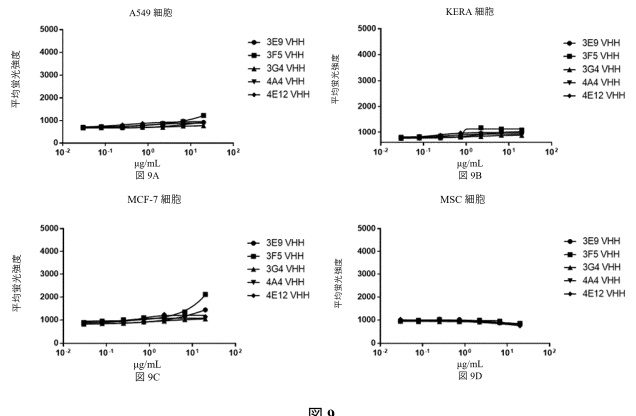
50

【 8 】



8

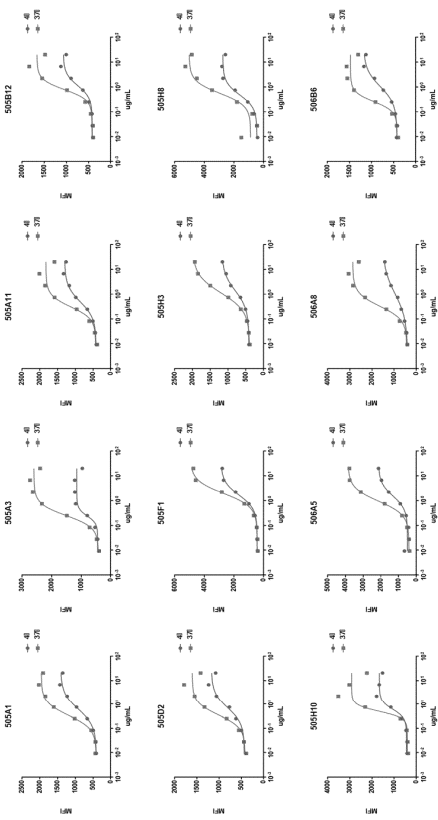
【 9 】



9

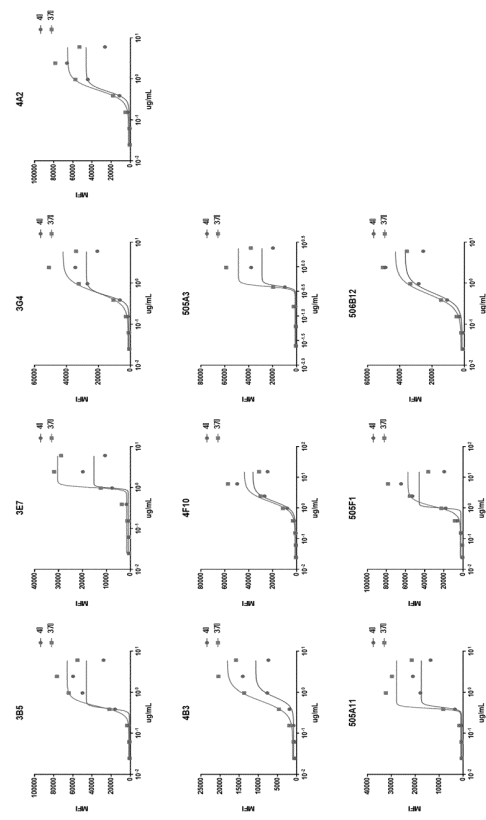
10

【 10 A 】



10A

【 10 B 】



10B

20

30

40

50

【 図 10 C 】

MM1S細胞における抗体のエンドサイトーシス効果

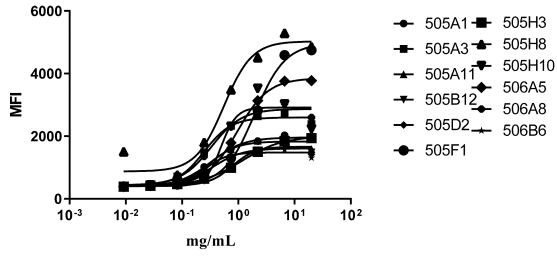


図 10C

【 図 10 D 】

NCIH929-GPRC5D細胞における抗体のエンドサイトーシス効果

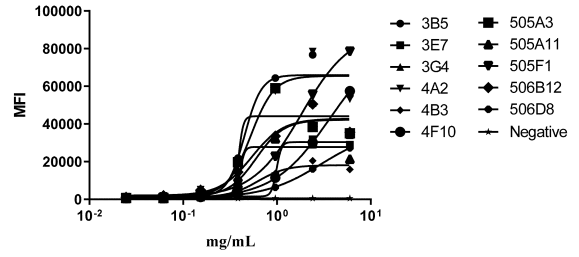


図 10D

10

【 配列表 】

202453484700001.xml

20

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2022/115590
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 16/28(2006.01)i; C07K 16/30(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 39/00(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K 16/-; A61P 35/-; A61P 39/- Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; CNTXT; VEN; DWPI; CJFD; STN; CNKI; 百度, BAIDU; 中国专利生物序列检索, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval; PUBMED; Genbank; GPRC5D, 抗体, 抗原结合蛋白, 嵌合抗原受体, 骨髓瘤, EC50, SEQ ID NO: 4-70; SEQ ID NO: 96-198; antibody; antigen binding protein; CAR-T		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020092854 A2 (JUNO THERAPEUTICS INC. et al.) 07 May 2020 (2020-05-07) see claims 1, 47-48, 50-52, 54, 56-58, 68, 118-123, 145, 180, 183-185, and 222-226	1-75
X	CN 110462038 A (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 15 November 2019 (2019-11-15) see abstract, and claims 1-41	1-25, 48-75
X	CN 111788231 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.) 16 October 2020 (2020-10-16) see abstract, and claims 1-7 and 28-41	1-25, 48-75
A	COHEN, Y. et al. "GPRC5D is a promising marker for monitoring the tumor load and to target multiple myeloma cells" <i>Hematology</i> , Vol. 18, No. 6, 15 November 2013 (2013-11-15), pp. 348-351	1-75
A	KODAMA, T. et al. "Anti-GPRC5D/CD3 bispecific T-cell-redirecting antibody for the treatment of multiple myeloma" <i>Molecular cancer therapeutics</i> , Vol. 18, No. 9, 03 July 2019 (2019-07-03), pp. 1555-1564	1-75
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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 11 November 2022		Date of mailing of the international search report 25 November 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/115590

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:

[1] The actually submitted sequence table is an XML file in Standard ST.26.

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/115590

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.: **70-75**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claims 70-75 relate to a method for preventing, treating and/or alleviating diseases or disorders associated with the abnormal expression of GPRC5D, belonging to a disease treatment method defined in PCT Rule 39.1(iv).
- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/115590

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2020092854	A2	07 May 2020	CL	2021001153	A1	07 January 2022
				TW	202021981	A	16 June 2020
				CA	3116413	A1	07 May 2020
				IL	282666	A	30 June 2021
				JP	2022506598	A	17 January 2022
				CO	2021007254	A2	30 August 2021
				CN	113614108	A	05 November 2021
				EP	3873937	A2	08 September 2021
				US	2021393689	A1	23 December 2021
				SG	11202103873V	A	28 May 2021
				PE	20211058	A1	07 June 2021
				MA	54079	A	08 September 2021
				AU	2019374103	A1	20 May 2021
				KR	20210102888	A	20 August 2021
				CN	110462038	A	15 November 2019
KR	20190133160	A	02 December 2019				
EP	3581651	A1	18 December 2019				
PH	12019501824	A1	14 September 2020				
MX	2019009358	A	02 December 2019				
ZA	201905905	B	25 May 2022				
IL	268588	A	26 September 2019				
SG	10201912368 X	A	27 February 2020				
SG	11201907321 T	A	27 September 2019				
WO	2018147245	A1	16 August 2018				
AU	2018218753	A1	26 September 2019				
TW	201837174	A	16 October 2018				
CA	3052938	A1	16 August 2018				
RU	2019128134	A	09 March 2021				
JP	WO2018147245	A1	21 November 2019				
US	2019367612	A1	05 December 2019				
CO	2019009680	A2	07 February 2020				
CN	111788231	A	16 October 2020	TW	201936641	A	16 September 2019
				RU	2020129004	A	09 March 2022
				KR	20200119833	A	20 October 2020
				EP	3749692	A1	16 December 2020
				PE	20201341	A1	25 November 2020
				IL	276537	A	30 September 2020
				CO	2020008940	A2	31 August 2020
				MA	51734	A	19 May 2021
				JP	2021513334	A	27 May 2021
				CR	20200341	A	02 November 2020
				AU	2019219061	A1	06 August 2020
				WO	2019154890	A1	15 August 2019
				US	2021054094	A1	25 February 2021
				CL	2020001854	A1	23 October 2020
				SG	11202007578 S	A	29 September 2020
BR	112020015297	A2	08 December 2020				
CA	3088730	A1	15 August 2019				
AR	117392	A1	04 August 2021				
PH	12020551211	A1	17 May 2021				

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/115590

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/28(2006.01)i; C07K 16/30(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 39/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K 16/-; A61P 35/-; A61P 39/-</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS; CNTXT; VEN; DWPI; CJFD; STN; CNKI; 百度; 中国专利生物序列检索; PUBMED; Genbank; GPRC5D, 抗体, 抗原结合蛋白, 嵌合抗原受体, 骨髓瘤, EC50, SEQ ID NO: 4-70; SEQ ID NO: 96-198; antibody; antigen binding protein; CAR-T</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>WO 2020092854 A2 (JUNO THERAPEUTICS INC. 等) 2020年5月7日 (2020 - 05 - 07) 参见权利要求1, 47-48, 50-52, 54, 56-58, 68, 118-123, 145, 180, 183-185, 222-226</td> <td>1-75</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 110462038 A (第一三共株式会社) 2019年11月15日 (2019 - 11 - 15) 参见摘要, 权利要求1-41</td> <td>1-25, 48-75</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>CN 111788231 A (豪夫迈 罗氏有限公司) 2020年10月16日 (2020 - 10 - 16) 参见摘要, 权利要求1-7, 28-41</td> <td>1-25, 48-75</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>COHEN, Y. 等. "GPRC5D is a promising marker for monitoring the tumor load and to target multiple myeloma cells" Hematology, 第18卷, 第6期, 2013年11月15日 (2013 - 11 - 15), 第348-351页</td> <td>1-75</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>KODAMA, T. 等. "Anti-GPRC5D/CD3 bispecific T-cell-redirecting antibody for the treatment of multiple myeloma" Molecular cancer therapeutics, 第18卷, 第9期, 2019年7月3日 (2019 - 07 - 03), 第1555-1564页</td> <td>1-75</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	WO 2020092854 A2 (JUNO THERAPEUTICS INC. 等) 2020年5月7日 (2020 - 05 - 07) 参见权利要求1, 47-48, 50-52, 54, 56-58, 68, 118-123, 145, 180, 183-185, 222-226	1-75	X	CN 110462038 A (第一三共株式会社) 2019年11月15日 (2019 - 11 - 15) 参见摘要, 权利要求1-41	1-25, 48-75	X	CN 111788231 A (豪夫迈 罗氏有限公司) 2020年10月16日 (2020 - 10 - 16) 参见摘要, 权利要求1-7, 28-41	1-25, 48-75	A	COHEN, Y. 等. "GPRC5D is a promising marker for monitoring the tumor load and to target multiple myeloma cells" Hematology, 第18卷, 第6期, 2013年11月15日 (2013 - 11 - 15), 第348-351页	1-75	A	KODAMA, T. 等. "Anti-GPRC5D/CD3 bispecific T-cell-redirecting antibody for the treatment of multiple myeloma" Molecular cancer therapeutics, 第18卷, 第9期, 2019年7月3日 (2019 - 07 - 03), 第1555-1564页	1-75
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	WO 2020092854 A2 (JUNO THERAPEUTICS INC. 等) 2020年5月7日 (2020 - 05 - 07) 参见权利要求1, 47-48, 50-52, 54, 56-58, 68, 118-123, 145, 180, 183-185, 222-226	1-75																		
X	CN 110462038 A (第一三共株式会社) 2019年11月15日 (2019 - 11 - 15) 参见摘要, 权利要求1-41	1-25, 48-75																		
X	CN 111788231 A (豪夫迈 罗氏有限公司) 2020年10月16日 (2020 - 10 - 16) 参见摘要, 权利要求1-7, 28-41	1-25, 48-75																		
A	COHEN, Y. 等. "GPRC5D is a promising marker for monitoring the tumor load and to target multiple myeloma cells" Hematology, 第18卷, 第6期, 2013年11月15日 (2013 - 11 - 15), 第348-351页	1-75																		
A	KODAMA, T. 等. "Anti-GPRC5D/CD3 bispecific T-cell-redirecting antibody for the treatment of multiple myeloma" Molecular cancer therapeutics, 第18卷, 第9期, 2019年7月3日 (2019 - 07 - 03), 第1555-1564页	1-75																		
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件</p>																				
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年11月11日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年11月25日</p>																		
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>受权官员</p> <p>夏颖</p> <p>电话号码 (86-10)53962033</p>																		

PCT/ISA/210 表(第2页) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/115590

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	DE LARREA, C. F.等. "Defining an optimal dual-targeted CAR T-cell therapy approach simultaneously targeting BCMA and GPRC5D to prevent BCMA escape-driven relapse in multiple myeloma" Blood Cancer Discov, 第1卷, 第2期, 2020年9月1日 (2020 - 09 - 01), 第146-154页	1-75

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/115590

第I栏	核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)
	<p>1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> 作为国际申请的一部分提交的:</p> <p style="padding-left: 20px;"><input checked="" type="checkbox"/> 附件C/ST. 25文本文件形式</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 纸件或图形文件形式</p> <p>b. <input type="checkbox"/> 根据细则13之三. 1(a)仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:</p> <p>c. <input type="checkbox"/> 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 另外,在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下,提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。</p> <p>3. 补充意见:</p> <p style="padding-left: 20px;">[1] 实际提交的序列表是ST. 26标准的XML文件。</p>

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/115590

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

- 1. 权利要求: 70-75
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:
[1] 权利要求70-75涉及预防、治疗和/或缓解与GPC5D异常表达相关的疾病或病症的方法, 属于 PCT Rule 39.1(iv)规定的疾病治疗方法。
- 2. 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:
- 3. 权利要求:
因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

10

20

30

40

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/115590

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2020092854	A2	2020年5月7日	CL	2021001153	A1	2022年1月7日
				TW	202021981	A	2020年6月16日
				CA	3116413	A1	2020年5月7日
				IL	282666	A	2021年6月30日
				JP	2022506598	A	2022年1月17日
				CO	2021007254	A2	2021年8月30日
				CN	113614108	A	2021年11月5日
				EP	3873937	A2	2021年9月8日
				US	2021393689	A1	2021年12月23日
				SG	11202103873V	A	2021年5月28日
				PE	20211058	A1	2021年6月7日
				MA	54079	A	2021年9月8日
				AU	2019374103	A1	2021年5月20日
				KR	20210102888	A	2021年8月20日
CN	110462038	A	2019年11月15日	BR	112019016204	A2	2020年7月7日
				KR	20190133160	A	2019年12月2日
				EP	3581651	A1	2019年12月18日
				PH	12019501824	A1	2020年9月14日
				MX	2019009358	A	2019年12月2日
				ZA	201905905	B	2022年5月25日
				IL	268588	A	2019年9月26日
				SG	10201912368X	A	2020年2月27日
				SG	11201907321T	A	2019年9月27日
				WO	2018147245	A1	2018年8月16日
				AU	2018218753	A1	2019年9月26日
				TW	201837174	A	2018年10月16日
				CA	3052938	A1	2018年8月16日
				RU	2019128134	A	2021年3月9日
JP	WO2018147245	A1	2019年11月21日				
US	2019367612	A1	2019年12月5日				
CO	2019009680	A2	2020年2月7日				
CN	111788231	A	2020年10月16日	TW	201936641	A	2019年9月16日
				RU	2020129004	A	2022年3月9日
				KR	20200119833	A	2020年10月20日
				EP	3749692	A1	2020年12月16日
				PE	20201341	A1	2020年11月25日
				IL	276537	A	2020年9月30日
				CO	2020008940	A2	2020年8月31日
				MA	51734	A	2021年5月19日
				JP	2021513334	A	2021年5月27日
				CR	20200341	A	2020年11月2日
				AU	2019219061	A1	2020年8月6日
				WO	2019154890	A1	2019年8月15日
				US	2021054094	A1	2021年2月25日
				CL	2020001854	A1	2020年10月23日
SG	11202007578S	A	2020年9月29日				
BR	112020015297	A2	2020年12月8日				
CA	3088730	A1	2019年8月15日				
AR	117392	A1	2021年8月4日				
PH	12020551211	A1	2021年5月17日				

10

20

30

40

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

C 1 2 N 5/10 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 43/00 (2006.01)
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)
 A 6 1 K 48/00 (2006.01)
 A 6 1 K 35/76 (2015.01)
 A 6 1 K 35/17 (2015.01)
 A 6 1 K 35/15 (2015.01)
 A 6 1 K 35/545 (2015.01)
 A 6 1 K 47/68 (2017.01)
 C 1 2 N 15/13 (2006.01)
 C 1 2 N 15/867 (2006.01)

F I

C 1 2 N 5/10
 C 1 2 P 21/08
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 43/00 1 1 1
 A 6 1 K 39/395 T
 A 6 1 K 48/00
 A 6 1 K 35/76
 A 6 1 K 35/17
 A 6 1 K 35/15
 A 6 1 K 35/545
 A 6 1 K 47/68
 C 1 2 N 15/13
 C 1 2 N 15/867 Z

テーマコード (参考)

4 C 0 8 7
 4 H 0 4 5

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,J
 M,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,T
 H,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハイ プードン チャンヘン ロード ナンバー 1 2 2 7 ビ
 ルディング 1 ルーム 3 0 3

(72)発明者

チェン シーイエ

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハイ プードン チャンヘン ロード ナンバー 1 2 2 7 ビ
 ルディング 1 ルーム 3 0 3

(72)発明者

ヤン ユエ

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハイ プードン チャンヘン ロード ナンバー 1 2 2 7 ビ
 ルディング 1 ルーム 3 0 3

(72)発明者

シー チョンジュン

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハイ プードン チャンヘン ロード ナンバー 1 2 2 7 ビ
 ルディング 1 ルーム 3 0 3

(72)発明者

リー シャオペイ

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 シャンハイ プードン チャンヘン ロード ナンバー 1 2 2 7 ビ
 ルディング 1 ルーム 3 0 3

F ターム (参考)

4B064 AG26 AG27 CA19 CC24 CE12 DA01
 4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
 4C076 AA95 BB13 CC27 CC29 CC41 EE59
 4C084 AA13 MA66 NA13 NA14 ZB261 ZC411
 4C085 AA14 AA16 BB01 BB11 BB12 BB31 BB36 BB41 BB43 BB50
 CC03 CC05 CC07 CC31 DD62 EE01 GG02
 4C087 AA01 AA02 AA03 BB37 BB57 BB64 BC83 CA12 MA66 NA13
 NA14 ZB26 ZC41
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA75 DA76
 EA20 FA74 GA26