

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2025-503644  
(P2025-503644A)

(43)公表日 令和7年2月4日(2025.2.4)

| (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           | 19/00                                                                                                                                                            | (2006.01) | C 0 7 K        | 19/00   |                                                                           | 4 B 0 6 5 |
| C 1 2 N           | 5/10                                                                                                                                                             | (2006.01) | C 1 2 N        | 5/10    |                                                                           | 4 C 0 8 5 |
| C 1 2 N           | 15/13                                                                                                                                                            | (2006.01) | C 1 2 N        | 15/13   |                                                                           | 4 C 0 8 6 |
| C 1 2 N           | 15/62                                                                                                                                                            | (2006.01) | C 1 2 N        | 15/62   | Z                                                                         | 4 C 0 8 7 |
|                   |                                                                                                                                                                  |           | 審査請求           | 未請求     | 予備審査請求                                                                    | 未請求       |
|                   |                                                                                                                                                                  |           | (全102頁) 最終頁に続く |         |                                                                           |           |
|                   |                                                                                                                                                                  |           |                |         |                                                                           |           |
| (21)出願番号          | 特願2024-541171(P2024-541171)                                                                                                                                      |           |                | (71)出願人 | 507410113                                                                 |           |
| (86)(22)出願日       | 令和5年1月10日(2023.1.10)                                                                                                                                             |           |                |         | ボード オブ リージェンツ, ザ ユニヴァーシティー オブ テキサス システム                                   |           |
| (85)翻訳文提出日        | 令和6年8月19日(2024.8.19)                                                                                                                                             |           |                |         | アメリカ合衆国, テキサス州, オースティン, ウェスト 7ストリート 210                                   |           |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2023/060431                                                                                                                                                |           |                |         | 100107456                                                                 |           |
| (87)国際公開番号        | WO2023/137291                                                                                                                                                    |           |                | (74)代理人 | 弁理士 池田 成人                                                                 |           |
| (87)国際公開日         | 令和5年7月20日(2023.7.20)                                                                                                                                             |           |                |         | 100162352                                                                 |           |
| (31)優先権主張番号       | 63/298,423                                                                                                                                                       |           |                | (74)代理人 | 弁理士 酒巻 順一郎                                                                |           |
| (32)優先日           | 令和4年1月11日(2022.1.11)                                                                                                                                             |           |                |         | 100123995                                                                 |           |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                                                                                                                                                           |           |                | (74)代理人 | 弁理士 野田 雅一                                                                 |           |
| (81)指定国・地域        | AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV |           |                | (72)発明者 | ニーラブ, サットヴァ エス. アメリカ合衆国, テキサス州, ヒューストン, ホルコム ブルバード 1515, ケアオブ ザ ユニヴァーシティー |           |
|                   |                                                                                                                                                                  |           | 最終頁に続く         |         |                                                                           |           |
|                   |                                                                                                                                                                  |           | 最終頁に続く         |         |                                                                           |           |

(54)【発明の名称】 抗C D 9 4抗体及びキメラ抗原受容体ならびにそれらの使用方法

(57)【要約】  
本開示の様々な態様によれば、本開示は、C D 9 4に結合することができる抗体またはその抗原結合断片、C D 9 4に結合することができるキメラ抗原受容体、及びC D 9 4に結合することができるキメラ抗原受容体を含有する操作されたT細胞に関する。  
【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、配列番号 3 または配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (C D R) H 1 と、配列番号 4 または配列番号 2 0 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 または配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 または配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S または配列番号 2 3 もしくは配列番号 2 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む、前記抗体または前記その抗原結合断片。

10

## 【請求項 2】

重鎖可変領域 (V H) 及び軽鎖可変領域 (V L) を含み、前記 V H が、配列番号 1 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、前記 V L が、配列番号 2 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

20

## 【請求項 3】

C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片であって、

i) 配列番号 1 の C D R H 1、C D R H 2、及び C D R H 3 アミノ酸配列を含む C D R H 1、C D R H 2、及び C D R H 3 と、

i i) 配列番号 2 の C D R L 1、C D R L 2、及び C D R L 3 アミノ酸配列を含む C D R L 1、C D R L 2、及び C D R L 3 と、を含む、前記抗体または前記その抗原結合断片。

## 【請求項 4】

前記 C D R が、K a b a t で定義される C D R、C h o t h i a で定義される C D R、A b M で定義される C D R、または I M G T で定義される C D R である、請求項 3 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

30

## 【請求項 5】

前記抗体または前記抗原結合断片が、前記アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 8 5 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片。

## 【請求項 6】

前記抗体または前記抗原結合断片が、前記アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 9 0 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体または抗原結合断片。

## 【請求項 7】

前記抗体または前記抗原結合断片が、前記アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

40

## 【請求項 8】

前記抗体または前記抗原結合断片が、前記アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

## 【請求項 9】

前記抗体または前記抗原結合断片が、前記アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体または

50

その抗原結合断片。

【請求項 10】

前記抗体または前記抗原結合断片が、配列番号 2 の前記アミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 11】

前記抗体または前記抗原結合断片が、配列番号 2 の前記アミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 12】

前記抗体または前記抗原結合断片が、配列番号 2 の前記アミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 13】

前記抗体または前記抗原結合断片が、配列番号 2 の前記アミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 14】

前記抗体または前記抗原結合断片が、配列番号 2 の前記アミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む、先行請求項のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 15】

前記抗体または前記その抗原結合断片が、ヒト、ヒト化、またはキメラである、請求項 1～14 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 16】

前記抗体または前記その抗原結合断片が、IgG 抗体である、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 17】

前記 IgG 抗体が、IgG1 抗体または IgG4 抗体である、請求項 16 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 18】

前記抗体が、抗体の抗原結合断片である、請求項 1～15 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 19】

前記断片が、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv、scFv-Fc、dsFv、及び単ドメイン分子からなる群から選択される、請求項 18 に記載の抗体の抗原結合断片。

【請求項 20】

前記断片が、scFv である、請求項 19 に記載の抗体の抗原結合断片。

【請求項 21】

前記断片が、Fab である、請求項 19 に記載の抗体の抗原結合断片。

【請求項 22】

前記断片が、イントラボディである、請求項 18 に記載の抗体の抗原結合断片。

【請求項 23】

前記抗原結合断片が、Fc 領域を欠いている、請求項 1～15 または 18～22 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 24】

同じポリペプチド鎖上に V<sub>H</sub> 及び V<sub>L</sub> を含む、請求項 1～15 または 18～23 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 25】

前記 V H 及び前記 V L が、リンカーによって接続されている、請求項 24 に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 26】

前記抗体または前記その抗原結合断片が、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的応答修飾物質、医薬品、及び P E G からなる群から選択される薬剤にコンジュゲートしている、請求項 1 ～ 25 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 27】

前記抗体または前記その抗原結合断片が、二重特異性抗体である、請求項 1 ～ 26 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

10

【請求項 28】

キメラ抗原受容体であって、N 末端から C 末端に、(a) C D 9 4 に結合することができる抗原結合ドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインと、(b) ヒンジと、(c) 膜貫通ドメインと、(d) 共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含み、前記抗原結合ドメインが、配列番号 3 または配列番号 19 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 1 と、配列番号 4 または配列番号 20 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 または配列番号 21 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 または配列番号 22 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S、配列番号 23、または配列番号 24 を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む、前記キメラ抗原受容体。

20

【請求項 29】

配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) 及び配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) を含む、請求項 28 に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 30】

前記抗原結合ドメインが、s c F v である、請求項 28 または 29 に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 31】

前記共刺激ドメインが、4-1 B B 共刺激ドメイン、C D 28 共刺激ドメイン、または O X 40 共刺激ドメインからなる群から選択される、請求項 28 ～ 30 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体。

30

【請求項 32】

前記ヒンジ、前記膜貫通ドメイン、またはその両方が、C D 8 α ポリペプチドからのものである、請求項 28 ～ 31 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 33】

前記シグナル伝達ドメインが、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメインを含む、請求項 28 ～ 32 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体。

【請求項 34】

キメラ抗原受容体を含む操作されたヒト T 細胞であって、前記キメラ抗原受容体が、N 末端から C 末端に、(a) C D 9 4 に結合することができる s c F v ドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインであって、前記 s c F v ドメインが、V L 及び V H を含む、前記細胞外リガンド結合ドメインと、(b) ヒンジと、(c) 膜貫通ドメインと、(d) 共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含み、前記 V H が、配列番号 3 または配列番号 19 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 1 と、配列番号 4 または配列番号 20 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 または配列番号 21 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、を含み、前記 V L が、配列番号 6 または配列番号 22 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S または配列番号 23 もしくは配列番号 24 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む、前記操作されたヒト T 細胞。

40

【請求項 35】

50

配列番号 9、56、または 57 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む、請求項 34 に記載の操作されたヒト T 細胞。

【請求項 36】

請求項 1～26 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片の前記 V H または前記重鎖をコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 37】

請求項 1～26 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片の前記 V L または前記軽鎖をコードする核酸分子をさらに含む、請求項 36 に記載の単離されたポリヌクレオチド。

10

【請求項 38】

請求項 1～26 のいずれか 1 項に記載の抗体またはその抗原結合断片の前記 V L または前記軽鎖をコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 39】

請求項 28～33 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体をコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 40】

請求項 36～39 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチドを含む、単離されたベクター。

20

【請求項 41】

請求項 33～39 のいずれか 1 項に記載のポリヌクレオチド、請求項 40 に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 42】

CHO、HEK-293T、HeLa、及び BHK 細胞からなる群から選択され、任意選択的に、前記 CHO 細胞が、CHO-K1SP 細胞である、請求項 41 に記載の宿主細胞。

【請求項 43】

CD94 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片を産生する方法であって、

30

(a) 前記抗体または前記その抗原結合断片の発現を可能にする条件下で、請求項 41 または 42 に記載の細胞を細胞培養物中で培養することと、

(b) 前記細胞培養物から前記抗体または前記その抗原結合断片を回収することと、を含む、前記方法。

【請求項 44】

請求項 43 に記載の方法によって得ることができる、抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 45】

請求項 1～26 もしくは 44 のいずれか 1 項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項 28～33 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体、請求項 34 もしくは 35 に記載の操作された T 細胞、または請求項 40 に記載のベクターと、薬学的に許容される賦形剤と、を含む、医薬組成物。

40

【請求項 46】

個体におけるがんを治療する方法であって、前記個体に対して、請求項 1～26 もしくは 44 のいずれか 1 項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項 28～33 のいずれか 1 項に記載のキメラ抗原受容体、請求項 34 もしくは 35 に記載の操作された T 細胞、または請求項 45 に記載の医薬組成物を治療有効量で投与することを含む、前記方法。

【請求項 47】

前記がんが、白血病である、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

50

前記白血病が、T細胞白血病、T細胞大顆粒白血病、ナチュラルキラー細胞大顆粒白血病、またはナチュラルキラー細胞白血病である、請求項47に記載の方法。

【請求項49】

前記がんが、リンパ腫である、請求項46に記載の方法。

【請求項50】

前記リンパ腫が、T細胞リンパ腫、節外ナチュラルキラー／T細胞リンパ腫、肝脾T細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性T細胞リンパ腫、または未分化大細胞型リンパ腫である、請求項49に記載の方法。

【請求項51】

前記がんが、CD94発現癌である、請求項46に記載の方法。

10

【請求項52】

患者における移植の移植片拒絶反応を治療または予防する方法であって、個体に対して、請求項1～26もしくは44のいずれか1項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項28～33のいずれか1項に記載のキメラ抗原受容体、請求項34もしくは35に記載の操作されたT細胞、または請求項45に記載の医薬組成物を治療有効量で投与することを含む、前記方法。

【請求項53】

前記移植が、同種移植である、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

前記移植が、臓器移植である、請求項52に記載の方法。

20

【請求項55】

前記移植が、造血細胞移植である、請求項52に記載の方法。

【請求項56】

前記移植が、誘導多能性細胞療法である、請求項52に記載の方法。

【請求項57】

対象における免疫応答を調節する方法であって、個体に対して、請求項1～26もしくは44のいずれか1項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、請求項28～33のいずれか1項に記載のキメラ抗原受容体、請求項34もしくは35に記載の操作されたT細胞、または請求項45に記載の医薬組成物を治療有効量で投与することを含む、前記方法。

【請求項58】

30

前記免疫応答が増強される、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

前記免疫応答が、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞によって媒介される、請求項57に記載の方法。

【請求項60】

前記ナチュラルキラー細胞及び／または前記T細胞が、自己免疫疾患の前記免疫応答を媒介する、請求項59に記載の方法。

【請求項61】

前記自己免疫疾患が、全身性自己免疫疾患である、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

40

前記全身性自己免疫疾患が、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群、全身性硬化症、関節リウマチ（RA）、多発性硬化症、1型真性糖尿病（T1DM）、または自己免疫性肝疾患（ALD）である、請求項61に記載の方法。

【請求項63】

個体におけるがんを治療する方法であって、前記個体に対して、請求項28～33のいずれか1項に記載のキメラ抗原受容体を発現するように操作された免疫細胞を治療有効量で投与することを含む、前記方法。

【請求項64】

前記免疫細胞が、ナチュラルキラー細胞、ナチュラルキラーT細胞、マクロファージ、または単球である、請求項63に記載の方法。

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本出願は、2022年1月11日に出願された米国仮出願第63／298,423号の優先権の利益を主張するものであり、これは、その全体が参照により本明細書に援用される。

## 【0002】

EFS-WEBを介して電子提出された配列表の参照

電子提出された配列表の内容（名称：4443\_\_010PC01\_\_Seqlisting\_\_ST26.xml、サイズ：73,637バイト、及び作成日：2023年1月5日）は、本出願とともに提出され、その全体が参照により本明細書に援用される。

10

## 【0003】

本開示は、概して、免疫学及びがん療法の分野に関する。例えば、本開示は、抗CD94抗体、抗CD94キメラ抗原受容体、及び抗CD94 CAR-T細胞、ならびにそれらを作製及び使用する方法を提供する。

## 【背景技術】

## 【0004】

キメラ抗原受容体（CAR）T細胞療法は、B細胞白血病及びリンパ腫において有効性を示している。しかしながら、ナチュラルキラー（NK）細胞及びT細胞リンパ球増殖性障害を標的とすることは、CAR-T細胞療法のための適切な抗原を特定することが困難であるため、課題となっている。

20

## 【0005】

CD94は、NK細胞上で発現したC型レクチン受容体であり、正常組織中のCD8+T細胞のサブセット（<5%）である。CD94は、それぞれ、NKG2CまたはNKG2Aとヘテロ二量体化する場合に、刺激性受容体または阻害性受容体として機能することができる。NK細胞欠損が主要な免疫学的欠陥である原発性免疫不全を有する患者における研究は、患者らが主にヘルペスウイルス感染症の再発リスクにあることを示しており、これは、ワクチン接種、予防、及び／または治療戦略の組み合わせによって制御され得る。総合的に、これらの報告は、CD94が、CD94発現NK/T細胞リンパ球増殖性障害におけるCAR T細胞療法のための安全かつ有効な標的であり得ることを示唆している。

30

## 【0006】

例えば、ナチュラルキラー細胞及びT細胞リンパ球増殖性障害の治療のために、抗体及びCAR-T細胞を開発する必要性がある。

## 【発明の概要】

## 【0007】

本開示は、CD94に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗CD94特異的抗体）を提供する。いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号3または配列番号19で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（CDR）H1と、配列番号4または配列番号20で表されるアミノ酸配列を含むCDR H2と、配列番号5または配列番号21で表されるアミノ酸配列を含むCDR H3と、配列番号6または配列番号22で表されるアミノ酸配列を含むCDR L1と、アミノ酸配列YTS、配列番号23、または配列番号24を含むCDR L2と、配列番号8で表されるアミノ酸配列を含むCDR L3と、を含む。

40

## 【0008】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域（VH）及び軽鎖可変領域（VL）を含む。いくつかの態様では、VHは、配列番号1に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくと

50

も 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、V L は、配列番号 2 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0009】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、i) 配列番号 1 の C D R H 1、C D R H 2、及び C D R H 3 アミノ酸配列を含む C D R H 1、C D R H 2、及び C D R H 3 と、i i) 配列番号 2 の C D R L 1、C D R L 2、及び C D R L 3 アミノ酸配列を含む C D R L 1、C D R L 2、及び C D R L 3 と、を含む。

10

【0010】

いくつかの態様では、C D R は、K a b a t で定義される C D R、C h o t h i a で定義される C D R、A b M で定義される C D R、または I M G T で定義される C D R である。

【0011】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0012】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。

20

【0013】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0014】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0015】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0016】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。

30

【0017】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。

【0018】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。

【0019】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。

40

【0020】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。

【0021】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト、ヒト化、またはキメラである。

【0022】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、I g G 抗体である。

【0023】

50

いくつかの態様では、I g G 抗体は、I g G 1 抗体または I g G 4 抗体である。

【0024】

いくつかの態様では、該抗体は、抗体の抗原結合断片である。

【0025】

いくつかの態様では、該断片は、F a b、F ( a b ' ) 2、F v、s c F v、s c F v - F c、d s F v、及び単一ドメイン分子からなる群から選択される。

【0026】

いくつかの態様では、該断片は、s c F v である。

【0027】

いくつかの態様では、該断片は、F a b である。

10

【0028】

いくつかの態様では、該断片は、イントラボディである。

【0029】

いくつかの態様では、抗原結合断片は、F c 領域を欠いている。

【0030】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、同じポリペプチド鎖上に V H 及び V L を含む。

【0031】

いくつかの態様では、V H 及び V L は、リンカーによって接続されている。

【0032】

20

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的応答修飾物質、医薬品、及び P E G からなる群から選択される薬剤にコンジュゲートしている。

【0033】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、二重特異性抗体である。

【0034】

いくつかの態様では、本明細書では、キメラ抗原受容体 ( C A R ) であって、N 末端から C 末端に、( a ) C D 9 4 に結合することができる抗原結合ドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインと、( b ) ヒンジと、( c ) 膜貫通ドメインと、( d ) 共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含む、キメラ抗原受容体 ( C A R ) が開示される。いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、配列番号 3 または配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 1 と、配列番号 4 または配列番号 2 0 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 または配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 または配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S または配列番号 2 3 もしくは配列番号 2 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

30

【0035】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 ( V H ) 及び配列番号 2 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 ( V L ) を含む。

40

【0036】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、s c F v である。

【0037】

いくつかの態様では、共刺激ドメインは、4 - 1 B B 共刺激ドメイン、C D 2 8 共刺激ドメイン、または O X 4 0 共刺激ドメインを含む。

【0038】

いくつかの態様では、ヒンジ、膜貫通ドメイン、またはその両方は、C D 8 α ポリペプチドからのものである。

【0039】

いくつかの態様では、シグナル伝達ドメインは、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメイン

50

を含む。

【0040】

いくつかの態様では、本明細書では、キメラ抗原受容体（CAR）を含む操作されたヒトT細胞であって、キメラ抗原受容体が、N末端からC末端に、（a）CD94に結合することができるscFvドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインであって、scFvドメインが、VL及びVHを含む、細胞外リガンド結合ドメインと、（b）ヒンジと、（c）膜貫通ドメインと、（d）共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含む、操作されたヒトT細胞が開示される。いくつかの態様では、VHは、配列番号3または配列番号19で表されるアミノ酸配列を含むCDRH1と、配列番号4または配列番号20で表されるアミノ酸配列を含むCDRH2と、配列番号5または配列番号21で表されるアミノ酸配列を含むCDRH3と、を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号6または配列番号22で表されるアミノ酸配列を含むCDRL1と、アミノ酸配列YTSまたは配列番号23もしくは配列番号24で表されるアミノ酸配列を含むCDRL2と、配列番号8で表されるアミノ酸配列を含むCDRL3と、を含む。

10

【0041】

いくつかの態様では、操作されたヒトT細胞は、配列番号9、56、または57に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体（CAR）を含む。

20

【0042】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のいずれかのVHまたは重鎖をコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチドが開示される。

【0043】

いくつかの態様では、単離されたポリヌクレオチドは、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のVLまたは軽鎖のいずれかをコードする核酸分子をさらに含む。

【0044】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のVLまたは軽鎖のいずれかをコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチドが開示される。

30

【0045】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体のいずれかをコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチドが開示される。

【0046】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドのいずれかを含む単離されたベクターが開示される。

【0047】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドのいずれか、または本明細書に開示されるベクターのいずれかを含む宿主細胞が開示される。

40

【0048】

いくつかの態様では、宿主細胞は、CHO、HEK-293T、HeLa、及びBHK細胞からなる群から選択され、任意選択的に、CHO細胞は、CHO-K1SP細胞である。

【0049】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94に結合することができる抗体またはその抗原結合断片を産生する方法が開示され、本方法は、（a）抗体またはその抗原結合断片の発現を可能にする条件下で、本明細書に開示される宿主細胞のいずれかを細胞培養物中で培養することと、（b）抗体またはその抗原結合断片を該細胞培養物から回収すること

50

と、を含む。

【0050】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される産生方法のいずれかによって得ることができる、抗体またはその抗原結合断片が開示される。

【0051】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のいずれか、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体のいずれか、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれか、または本明細書に開示されるベクターのいずれかを含む、医薬組成物が開示される。いくつかの態様では、医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤をさらに含む。

10

【0052】

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が開示され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片のいずれか、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体のいずれか、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれか、または本明細書に開示される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0053】

いくつかの態様では、がんは、白血病である。いくつかの態様では、がんは、CD94発現癌である。

【0054】

いくつかの態様では、白血病は、T細胞白血病、T細胞大顆粒白血病、ナチュラルキラー細胞大顆粒白血病、またはナチュラルキラー細胞白血病である。

20

【0055】

いくつかの態様では、がんは、リンパ腫である。

【0056】

いくつかの態様では、リンパ腫は、T細胞リンパ腫、節外ナチュラルキラー/T細胞リンパ腫、肝脾T細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性T細胞リンパ腫、または未分化大細胞型リンパ腫である。

【0057】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植の移植片拒絶反応を治療または予防する方法が記載され、本方法は、個体に対して、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合断片のいずれか、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体のいずれか、本明細書に記載される操作されたT細胞のいずれか、または本明細書に記載される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

30

【0058】

いくつかの態様では、移植は、同種移植である。

【0059】

いくつかの態様では、移植は、臓器移植である。

【0060】

いくつかの態様では、移植は、造血細胞移植である。

40

【0061】

いくつかの態様では、移植は、誘導多能性細胞療法である。

【0062】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が記載され、本方法は、個体に対して、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合断片のいずれか、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体のいずれか、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれか、または本明細書に開示される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0063】

いくつかの態様では、免疫応答が増強される。

50

## 【0064】

いくつかの態様では、免疫応答は、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞によって媒介される。いくつかの態様では、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞は、自己免疫疾患の免疫応答を媒介する。いくつかの態様では、自己免疫疾患は、全身性自己免疫疾患である。いくつかの態様では、全身性自己免疫疾患は、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群、全身性硬化症、関節リウマチ（RA）、多発性硬化症、1型真性糖尿病（T1DM）、または自己免疫性肝疾患（ALD）である。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0065】

【図1A】ナチュラルキラー（NK）細胞リンパ腫細胞株NK-92及び正常なヒト組織における、 $\beta$ -アクチンmRNAに対するCD94 mRNAの発現を示す。

10

【図1B】BioGPSからの高密度オリゴヌクレオチドアレイによる、79の正常なヒト組織及びリンパ腫サブタイプにおけるCD94 mRNAの発現を示す。

【図2】CD94（x軸）のための陽性染色を測定することによって、CD94-L細胞の生成を示すフローサイトメトリー分析を示す。

【図3A】ハイブリドーマ技術によって生成された精製抗CD94モノクローナル抗体（「UT-CD94」）の特異性を示す。AF647にコンジュゲートしたUT-CD94モノクローナル抗体によるCD94-L細胞（CD94-L）及びL細胞（L）の染色を示す。

【図3B】ハイブリドーマ技術によって生成された精製抗CD94モノクローナル抗体（「UT-CD94」）の特異性を示す。AF647にコンジュゲートしたUT-CD94モノクローナル抗体による、正常なドナー末梢血単核細胞からのCD56+NK細胞（NK細胞）、CD3+T細胞（T細胞）、CD19+B細胞（B細胞）、及びCD14+単球（単球）の染色を示す。

20

【図3C】ハイブリドーマ技術によって生成された精製抗CD94モノクローナル抗体（「UT-CD94」）の特異性を示す。AF647にコンジュゲートしたUT-CD94モノクローナル抗体によるNKリンパ腫または白血病株（NK-92、NKL、及びKHYG-1）ならびにB細胞リンパ腫株（SP53、Daudi、及びJeko-1）の染色を示す。

【図4A】抗CD94キメラ抗原受容体（「UT-CD94 CAR」）の例示的な設計を示す。UT-CD94 CARは、(i) VL及びVHドメインを含むCD94 scFvと、(ii) CD8 $\alpha$ ヒンジドメインと、(iii) CD8 $\alpha$ 膜貫通ドメインと、(iv) 4-1BB共刺激ドメインと、(v) CD3 zetaシグナル伝達ドメインと、を含む。

30

【図4B】Hisタグ付きCD94細胞外ドメイン（ECD）タンパク質及びAF647コンジュゲート抗His抗体で染色することによって決定した、レンチウイルス形質導入の72時間後のUT-CD94 CARの発現を示す。フローサイトメトリー分析は、X軸上にUT-CD94 CARのための陽性染色を示す。

【図5A】抗CD94 CAR-T細胞（「UT-CD94 CAR-T細胞」）の細胞傷害性を示す。図5A～5Bは、UT-CD94 CAR-T細胞（CD94 CAR-T）との共培養、形質導入されていないT細胞（対照T）との共培養、または共培養なし（腫瘍のみ）の後の、8:1、4:1、及び1:1のエフェクター：標的比でのCD94陽性NK細胞株NKL（図5A）またはNK-92（図5B）の溶解パーセンテージを示す。

40

【図5B】抗CD94 CAR-T細胞（「UT-CD94 CAR-T細胞」）の細胞傷害性を示す。図5A～5Bは、UT-CD94 CAR-T細胞（CD94 CAR-T）との共培養、形質導入されていないT細胞（対照T）との共培養、または共培養なし（腫瘍のみ）の後の、8:1、4:1、及び1:1のエフェクター：標的比でのCD94陽性NK細胞株NKL（図5A）またはNK-92（図5B）の溶解パーセンテージを示す。

50

【図5C】抗CD94 CAR-T細胞（「UT-CD94 CAR-T細胞」）の細胞傷害性を示す。図5C～Eは、UT-CD94 CAR-T細胞（CD94 CAR-T）との共培養、形質導入されていないT細胞（対照T）との共培養、または共培養なし（腫瘍のみ）の後の、CD94陽性NK細胞株NK L（図5C）、CD94陽性NK細胞株NK-92（図5D）、またはB細胞リンパ腫細胞株SP53（図5E）の対応する溶解パーセンテージを有する4日間の期間を示す。

【図5D】抗CD94 CAR-T細胞（「UT-CD94 CAR-T細胞」）の細胞傷害性を示す。図5C～Eは、UT-CD94 CAR-T細胞（CD94 CAR-T）との共培養、形質導入されていないT細胞（対照T）との共培養、または共培養なし（腫瘍のみ）の後の、CD94陽性NK細胞株NK L（図5C）、CD94陽性NK細胞株NK-92（図5D）、またはB細胞リンパ腫細胞株SP53（図5E）の対応する溶解パーセンテージを有する4日間の期間を示す。

【図5E】抗CD94 CAR-T細胞（「UT-CD94 CAR-T細胞」）の細胞傷害性を示す。図5C～Eは、UT-CD94 CAR-T細胞（CD94 CAR-T）との共培養、形質導入されていないT細胞（対照T）との共培養、または共培養なし（腫瘍のみ）の後の、CD94陽性NK細胞株NK L（図5C）、CD94陽性NK細胞株NK-92（図5D）、またはB細胞リンパ腫細胞株SP53（図5E）の対応する溶解パーセンテージを有する4日間の期間を示す。

【図5F】抗CD94 CAR-T細胞（「UT-CD94 CAR-T細胞」）の細胞傷害性を示す。6：1のエフェクター：標的比で24時間、単独で、または形質導入されていないT細胞、抗CD94 CAR-T細胞、もしくは抗CD19 CAR-T細胞と組み合わせて培養した場合の、L細胞、ヒトCD94-トランスフェクトL細胞、B細胞リンパ腫細胞株SP53、及びNK92細胞株における死んだ標的細胞のパーセンテージを示す。

【図6】HLA-E四量体の染色に対するキメラ抗CD94抗体（「cUT-CD94」）またはアイソタイプ抗体の効果を測定するフローサイトメトリー分析（蛍光強度中央値によって測定した）を示す。

【図7】HLA-E発現SP-53マントル細胞リンパ腫細胞とインキュベーションし、マウス抗ヒトCD94抗体（BiolegendからのUT-CD94/mCD94及びDX22）、cUT-CD94抗体（cCD94）、ならびに関連するアイソタイプ対照（BiolegendからのmIgG1及びhIgG1）で処理した後のCD137+NK細胞を測定するフローサイトメトリー分析を示す。

【図8】HLA-E発現SP-53マントル細胞リンパ腫細胞とインキュベーションし、マウス抗ヒトCD94抗体（BiolegendからのUT-CD94/mCD94及びDX22）、cUT-CD94抗体（cCD94）、ならびに関連するアイソタイプ対照（BiolegendからのmIgG1及びhIgG1）で処理した後のCD107a+NK細胞を測定するフローサイトメトリー分析を示す。

【図9A】CD94（KL RD1）mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織（図9A）にわたり、25の全ての組織（図9B）、心臓（図9C）、肺（図9D）、肝臓（図9E）、及び腎臓（図9F）からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した（図9G）。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源：Human Protein Atlas。

【図9B】CD94（KL RD1）mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織（図9A）にわたり、25の全ての組織（図9B）、心臓（図9C）、肺（図9D）、肝臓（図9E）、及び腎臓（図9F）からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した（図9G）。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源：Human Protein Atlas。

S。

【図9C】CD94 (KLRD1) mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織(図9A)にわたり、25の全ての組織(図9B)、心臓(図9C)、肺(図9D)、肝臓(図9E)、及び腎臓(図9F)からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した(図9G)。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源: Human Protein Atlas。

【図9D】CD94 (KLRD1) mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織(図9A)にわたり、25の全ての組織(図9B)、心臓(図9C)、肺(図9D)、肝臓(図9E)、及び腎臓(図9F)からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した(図9G)。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源: Human Protein Atlas。

【図9E】CD94 (KLRD1) mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織(図9A)にわたり、25の全ての組織(図9B)、心臓(図9C)、肺(図9D)、肝臓(図9E)、及び腎臓(図9F)からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した(図9G)。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源: Human Protein Atlas。

【図9F】CD94 (KLRD1) mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織(図9A)にわたり、25の全ての組織(図9B)、心臓(図9C)、肺(図9D)、肝臓(図9E)、及び腎臓(図9F)からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した(図9G)。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源: Human Protein Atlas。

【図9G】CD94 (KLRD1) mRNA発現のscRNAseq分析を示す。CD94 mRNA発現の概要は、25の正常なヒト組織(図9A)にわたり、25の全ての組織(図9B)、心臓(図9C)、肺(図9D)、肝臓(図9E)、及び腎臓(図9F)からの単一の細胞型におけるscRNAseq分析に基づいた。加えて、正常なドナー末梢血からの29の免疫細胞型におけるCD94 mRNA発現を分析した(図9G)。nTPM-100万当たりの正規化転写物。供給源: Human Protein Atlas。

【図10A】正常なドナー組織アレイ(図10A)、正常な扁桃腺(図10B)、及びNK/T細胞リンパ腫を有する対象からの腫瘍生検(図10C)におけるCD94の発現についての免疫組織化学アッセイを示す。

【図10B】正常なドナー組織アレイ(図10A)、正常な扁桃腺(図10B)、及びNK/T細胞リンパ腫を有する対象からの腫瘍生検(図10C)におけるCD94の発現についての免疫組織化学アッセイを示す。

【図10C】正常なドナー組織アレイ(図10A)、正常な扁桃腺(図10B)、及びNK/T細胞リンパ腫を有する対象からの腫瘍生検(図10C)におけるCD94の発現についての免疫組織化学アッセイを示す。

【図11】野生型及びCD94ノックアウトNK細胞白血病細胞株における抗CD94抗体の結合を示す。抗CD94抗体の結合特異性は、野生型KHYG-1及びNK92細胞株、ならびにCD94ノックアウト(KO)を有するそれらのアイソジェニック細胞株に対するフローサイトメトリーによって評価された。

【図12A】例示的なCD94標的化CAR構築物及びインビトロでのそれらの細胞傷害

性活性を示す。3つの異なるCD94標的化CARの設計を示す。

【図12B】例示的なCD94標的化CAR構築物及びインビトロでのそれらの細胞傷害性活性を示す。正常なドナーT細胞にレンチウイルス形質導入されたCD94標的化CARのフローサイトメトリー評価を示す。

【図12C】例示的なCD94標的化CAR構築物及びインビトロでのそれらの細胞傷害性活性を示す。図12C～12Eは、Incucyte Live-Cell Analysis Systemを使用する連続イメージングによってモニタリングされた溶解または成長を受けた細胞のパーセンテージを示す。NK細胞白血病細胞株（NKL-図12C、KHYG-1-図12D、及びNK92-図12E）は、赤色蛍光タンパク質（RFP）で安定的に形質導入された。次いで、腫瘍細胞は、0.5：1のエフェクター：標的比で、CD94標的化CAR T細胞または形質導入されていないT細胞の存在下または不在下で培養された。

【図12D】例示的なCD94標的化CAR構築物及びインビトロでのそれらの細胞傷害性活性を示す。図12C～12Eは、Incucyte Live-Cell Analysis Systemを使用する連続イメージングによってモニタリングされた溶解または成長を受けた細胞のパーセンテージを示す。NK細胞白血病細胞株（NKL-図12C、KHYG-1-図12D、及びNK92-図12E）は、赤色蛍光タンパク質（RFP）で安定的に形質導入された。次いで、腫瘍細胞は、0.5：1のエフェクター：標的比で、CD94標的化CAR T細胞または形質導入されていないT細胞の存在下または不在下で培養された。

【図12E】例示的なCD94標的化CAR構築物及びインビトロでのそれらの細胞傷害性活性を示す。図12C～12Eは、Incucyte Live-Cell Analysis Systemを使用する連続イメージングによってモニタリングされた溶解または成長を受けた細胞のパーセンテージを示す。NK細胞白血病細胞株（NKL-図12C、KHYG-1-図12D、及びNK92-図12E）は、赤色蛍光タンパク質（RFP）で安定的に形質導入された。次いで、腫瘍細胞は、0.5：1のエフェクター：標的比で、CD94標的化CAR T細胞または形質導入されていないT細胞の存在下または不在下で培養された。

【図13A】肝脾T細胞リンパ腫におけるCD94の発現及びPDX腫瘍細胞に対する抗CD94の細胞傷害性を示す。肝脾T細胞リンパ腫（TCL）PDX細胞（ $1 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞／マウス）を静脈内注射したNSGマウスの剖検における肝臓及び脾臓の画像を示す。

【図13B】肝脾T細胞リンパ腫におけるCD94の発現及びPDX腫瘍細胞に対する抗CD94の細胞傷害性を示す。hCD3+hCD45+細胞対hCD3-hCD45-細胞の間でフローサイトメトリーによって測定した、肝臓、脾臓、骨髄、及び血液におけるCD3（hCD3）、CD94（hCD94）、及びCD45（hCD45）の発現を示す。腫瘍を注射していないNSGマウスを対照として使用した。

【図13C】肝脾T細胞リンパ腫におけるCD94の発現及びPDX腫瘍細胞に対する抗CD94の細胞傷害性を示す。5つの異なるマウスコホート：1）腫瘍のみ、2）形質導入されていないT細胞、3） $10 \times 10^6$ 個の抗CD94標的化CAR+T細胞（CD94／CD28）を投与したマウス、4） $10 \times 10^6$ 個の抗CD94標的化CAR+T細胞（CD94／4-1BB）を投与したマウス、5） $10 \times 10^6$ 個の抗CD94標的化CAR+T細胞（CD94／OX40）を投与したマウスにおける生存を示す。CAR T細胞の抗腫瘍効果は、生存についてマウスをモニタリングすることによって評価された。ログランク検定が、治療群間の生存の差を評価するために使用された。

【発明を実施するための形態】

【0066】

本開示の特定の態様は、抗CD94抗体、抗CD94キメラ抗原受容体、及び抗CD94 CAR-T細胞、ならびにそれらを作製及び使用方法を対象とする。いくつかの態様では、本明細書では、CD94に結合することができる抗体またはその抗原結合断片

が開示される。いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 3 または配列番号 19 で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域 (CDR) H1 と、配列番号 4 または配列番号 20 で表されるアミノ酸配列を含む CDR H2 と、配列番号 5 または配列番号 21 で表されるアミノ酸配列を含む CDR H3 と、を含む重鎖可変領域 (VH)、及び配列番号 6 または配列番号 22 で表されるアミノ酸配列を含む CDR L1 と、アミノ酸配列 YTS または配列番号 23 もしくは配列番号 24 で表されるアミノ酸配列を含む CDR L2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む CDR L3 と、を含む軽鎖可変領域 (VL) を含む。いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 1 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (VH) と、配列番号 2 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (VL) と、を含む。いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、VL 及び VH ドメインを含む抗 CD94 s c F v を含む。いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗 CD94 抗体またはその抗原結合断片 (例えば、抗 CD94 s c F v) を含む、キメラ抗原受容体 (CAR) または CAR T 細胞が開示される。

10

20

【0067】

#### I. 定義

他に定義されない限り、本明細書中で使用する全ての技術用語及び科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。矛盾する場合は、定義も含めて、本出願が優先する。さらに、文脈によって別段に要求されない限り、単数形の用語は複数形を含むものとし、複数形の用語は単数形を含むものとする。本明細書で述べられる全ての刊行物、特許及び他の参照文献は、それぞれ個々の刊行物または特許出願が参照により援用されることが具体的かつ個々に示されるかのように、その全体が参照により本明細書に援用される。

30

【0068】

本明細書に開示される方法及び材料と類似または同等の方法及び材料が、本開示の実施または試験において使用され得るものの、好適な方法及び材料を以下に開示する。材料、方法、及び実施例は単なる例示であり、限定することを意図するものではない。本開示の他の特徴及び利点は、詳細な説明から、ならびに特許請求の範囲から明らかになる。

【0069】

本開示をさらに定義するために、以下の用語及び定義を提供する。

【0070】

文脈による明確な別段の定めがない限り、単数形「a」、「an」、及び「the」には複数の指示対象が含まれる。用語「a」(または「an」)、「1つ以上」、及び「少なくとも1つ」は、本明細書では同じ意味で使用される。特定の態様では、用語「a」または「an」は、「単一」を意味する。他の態様では、用語「a」または「an」は、「2つ以上」または「複数」を含む。

40

【0071】

用語「約」は、本明細書において、およそ、大まかに、ほぼ、またはほとんどを意味するために使用される。用語「約」が数値範囲と併せて使用される場合、この用語は、示されている数値の前後まで、その境界を広げることによって、その範囲を修飾する。一般に、用語「約」は、本明細書において、10パーセント上または下の(高いまたは低い)変動によって明記された値を上回る、及び下回る数値を修飾するために使用される。

【0072】

本開示の全体を通して、本開示の様々な態様は、範囲の形式で提示される。数値範囲は

50

、その範囲を定義する数を含むものとする。値の範囲が列举される場合、その範囲について列举される上限値と下限値との間の介在する各整数値、及びそれらの各小数部も、そのような値の間の各部分範囲とともに、明確に開示されると理解されたい。あらゆる範囲の上限値及び下限値が、独立して範囲に含まれ得るか、または範囲から除外され得、上限値及び下限値のいずれかが含まれる各範囲、いずれも含まれない各範囲、または両方が含まれる各範囲も本開示に包含される。したがって、本明細書において列举される範囲は、列举される端点を含む範囲内の値の全ての省略表現であると理解される。例えば、1～10の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び10からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、または部分範囲を含むものとして理解される。

【0073】

値が明示的に記載されている場合、記載されている値とほぼ同じ数または量である値もまた、本開示の範囲内に含まれる点を理解されたい。ある組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素の部分的な組み合わせのそれぞれも具体的に開示され、本開示の範囲内に含まれる。反対に、異なる要素または要素群が個別に開示される場合、それらの組み合わせも開示される。ある開示の任意の要素が複数の代替例を有すると開示される場合、各代替例が単独で、または他の代替例との任意の組み合わせで除外される、その開示の例も本明細書に開示され、ある開示の2つ以上の要素が、そのような除外を有し得、そのような除外を有する要素の全ての組み合わせが本明細書に開示される。

【0074】

本明細書で使用される場合、用語「及び／または」は、他の有無にかかわらず、2つの指定された特徴または構成要素のそれぞれの特定の開示とみなされるべきである。したがって、本明細書で「A及び／またはB」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、「A及びB」、「AまたはB」、「A」（単独）、及び「B」（単独）を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び／またはC」などの語句で使用される「及び／または」という用語は、以下の態様の各々を包含することが意図される。A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；ならびにC（単独）。

【0075】

本明細書で使用される用語「薬学的に許容される」とは、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症のないヒト及び動物の組織と接触させて使用するのに適した、安全な医学的判断の範囲内にあり、妥当なベネフィット／リスク比に見合う、化合物、材料、組成物、製剤、及び／または剤形を指す。

【0076】

用語「賦形剤」とは、それ自体は治療剤ではなく、その取扱いもしくは保管特性を改善するか、または組成物の用量単位の形成（例えば、ヒドロゲルの形成、次いで、任意選択的にパッチに組み込むことができる）を可能に、もしくは容易にするために、活性治療剤を対象に送達するための組成物に使用され得るか、または活性治療剤と組み合わせて（例えば、医薬組成物を作製するために）使用され得る任意の物質を指す。賦形剤としては、これらに限定されないが、溶媒、浸透促進剤、湿潤剤、抗酸化剤、潤滑剤、軟化剤、組成物の外観または質感を改善するために添加される物質、及びヒドロゲルを形成するために使用される物質が挙げられる。任意のそのような賦形剤は、本開示による任意の剤形で使用され得る。賦形剤の前述のクラスは、網羅的であることを意味するものではなく、当業者が、薬物の送達のための所望の目標を達成するために追加のタイプ及び組み合わせの賦形剤を使用することができることを認識するように、単に例示的であることを意味する。賦形剤は、不活性物質、非活性物質、及び／または非医薬活性物質であり得る。賦形剤は、様々な目的に役立てることができる。当業者は、過度の負担をかけることなく、日常的な実験により、特定の所望の特性に関して1つ以上の賦形剤を選択することができる。使用される各賦形剤の量は、当該技術分野で従来の範囲内で変化し得る。剤形を製剤化するために使用され得る技術及び賦形剤は、Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th edition, Rowe et al.,

10

20

30

40

50

Eds., American Pharmaceuticals Association and the Pharmaceutical Press, publications department of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain (2009)、及び Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 21st edition, Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2005) に記載されている。

【0077】

本明細書で使用される用語「有効量」または「薬学的有効量」または「治療有効量」とは、必要なまたは所望の治療応答を誘発するのに十分である薬物または薬学的活性物質の量または含量を指すか、あるいは換言すれば、この量は、患者に投与した場合にかなりの生物学的応答を誘発するのに十分な量である。

10

【0078】

本明細書で使用される用語「治療する」または「治療」とは、治療目的で対象に組成物を投与することを指す。

【0079】

「抗体」という用語は、標的、例えば、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、またはこれらの組み合わせを、免疫グロブリン分子の可変領域内の少なくとも1つの抗原認識部位を介して認識しこれに結合する免疫グロブリン分子を意味する。本明細書で使用される、「抗体」という用語は、無傷のポリクローナル抗体、無傷のモノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体を含む融合タンパク質、及び抗体が所望の生物活性を示すということであれば任意の他の修飾免疫グロブリン分子を包含する。抗体は、それぞれ、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、及びミューと称される重鎖定常ドメインの同一性に基づいて、任意の5つの主要なクラスの免疫グロブリン：IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgM、またはそれらのサブクラス（アイソタイプ）（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2）のものであり得る。異なるクラスの免疫グロブリンは、異なる周知のサブユニット構造及び三次元構造を有する。抗体は、ネイキッドであり得るか、または例えば、毒素、放射性同位体などの他の分子とコンジュゲートされ得る。

20

【0080】

「抗体断片」という用語は、無傷の抗体の一部を指す。「抗原結合断片」、「抗原結合ドメイン」、または「抗原結合領域」とは、抗原に結合する無傷の抗体の一部を指す。抗原結合断片は、無傷の抗体の抗原認識部位（例えば、抗原に結合するのに十分な相補性決定領域（CDR））を含有することができる。抗体の抗原結合断片の例としては、これらに限定されないが、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、及びFv断片、線状抗体、及び一本鎖抗体が挙げられる。抗体の抗原結合断片は、げっ歯類（例えば、マウス、ラット、またはハムスター）及びヒトなどの任意の動物種に由来し得るか、または人工的に産生され得る。

30

【0081】

本明細書で使用される場合、用語「可変領域」または「可変ドメイン」とは、交換可能に使用され、当該技術分野で一般的である。可変領域は、典型的には、抗体の一部、一般に、軽鎖または重鎖の一部、典型的には、成熟重鎖における約アミノ末端110～120アミノ酸または110～125アミノ酸、及び成熟軽鎖における約90～115アミノ酸を指し、これらは、抗体間の配列が異なり、その特定の抗原に対する特定の抗体の結合及び特異性において使用される。配列の変動性は、相補性決定領域（CDR）と呼ばれるそれらの領域に集中し、一方、可変ドメイン内のより高度に保存された領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。いかなる特定のメカニズムまたは理論に拘束されることを望まないが、軽鎖及び重鎖のCDRは、抗原との抗体の相互作用及び特異性に主に関与すると考えられている。

40

【0082】

50

用語「VH」及び「VHドメイン」とは、抗体またはその抗原結合断片の重鎖可変領域を指すために交換可能に使用される。

【0083】

用語「VL」及び「VLドメイン」とは、抗体またはその抗原結合断片の軽鎖可変領域を指すために交換可能に使用される。

【0084】

各鎖における「超可変領域」は、FRにより近接して一緒に保持され、他の鎖からの超可変領域とともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 1992を参照されたい)。本明細書で使用される用語「超可変領域」とは、抗原結合を担う抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は一般に、「相補性決定領域」または「CDR」からのアミノ酸残基を含み、後者は配列変化が最も高く、及び／または抗原認識に関与している。多数のCDR定義が使用されており、本明細書に包含される。Kabatの定義は、配列変化に基づいており、最も一般的に使用されている (Kabat EA et al., (前掲のKabat))。代わりに、Chothiaは、構造的ループの位置を指す (Chothia C & LeskAM (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917)。AbMの定義は、Kabatの定義とChothiaの定義との間の折衷物であり、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用される (Martin AC R et al., (1989) Proc. Natl Acad. Sci. USA, 86:9268-72, Martin AC R et al., (1991) Methods Enzymol. 203:121-153, Pedersen J T et al., (1992) Immunomethods, 1:126-136, Rees AR et al., (1996) In Sternberg M. J. E. (ed.), Protein Structure Prediction. Oxford University Press, Oxford, 141-172)。接触定義は、最近導入されており (Maccalum RM et al., (1996) J. Mol. Biol. 262:732-745)、タンパク質データベースで利用可能な複合体構造の分析に基づく。IMGT (登録商標)、international ImmunoGenetics information System (登録商標) (<http://www.imgt.org>) によるCDRの定義は、全ての種の全ての免疫グロブリン及びT細胞受容体V-REGIONについてのIMGTナンバリングに基づく (IMGT (登録商標)、international ImmunoGenetics information System (登録商標)、Lefranc MP et al., (1991) Nucleic Acids Res. 27 (1):209-12, Ruiz M et al., (2000) Nucleic Acids Res. 28 (1):219-21, Lefranc M P (2001) Nucleic Acids Res. 29 (1):207-9, Lefranc M P (2003) Nucleic Acids Res. 31 (1):307-10, Lefranc M P et al., (2005) Dev. Comp. Immunol. 29 (3):185-203, Kaas Q et al., (2007) Briefings in Functional Genomics & Proteomics, 6 (4):253-64)。

【0085】

いくつかの態様では、本明細書に開示される相補性決定領域 (CDR) は、IMGT (登録商標) に従って定義される。いくつかの態様では、CDRは、Chothiaに従って定義される。いくつかの態様では、CDRは、Kabatに従って定義される。例えば、軽鎖について、CDRの各々についての可変ドメイン残基は、(Kabat EA, et al., 上記に従うナンバリング): LCDR1:27-32、LCDR2:50-52、LCDR3:89-97であり得る。本明細書で使用される、VL領域の「非CDR領域」は、アミノ酸配列:1-26 (FR1)、33-49 (FR2)、53-88

10

20

30

40

50

(FR3)、及び98-およそ107 (FR4)を含む。重鎖について、3つのCDRの各々についての可変ドメイン残基は、HCDR1:26-35、HCDR2:51-57、及びHCDR3:93-102であり得る。本明細書で使用される、VH領域の「非CDR領域」は、アミノ酸配列:1-25 (FR1)、36-50 (FR2)、58-92 (FR3)、及び103-およそ113 (FR4)を含むことができる。

【0086】

本開示のCDRは、前述した定義に基づいており、以下のような可変ドメイン残基を有することができる「拡張CDR」を含むことができる。LCDR1:24-36、LCDR2:46-56、LCDR3:89-97、HCDR1:26-36、HCDR2:47-65、HCDR3:93-102。これらの拡張CDRは、Kabata et al. 10  
上記に従ってもナンバリングされる。

【0087】

いくつかの態様では、可変領域の同じフレームワークアミノ酸配列について、代替のCDR配列が提供される。いくつかの態様では、代替のCDR配列は、ソフトウェアプログラムを使用して生成される。いくつかの態様では、異なるソフトウェアを使用して、異なるソフトウェアプログラムの使用から生じる異なるCDR配列を有する可変領域のフレームワーク配列についての代替のCDR配列を生成することができる。いくつかの態様では、代替のCDR配列の使用は、少なくとも1つの抗原に対する二重特異性抗体の結合親和性を改善することができる。いくつかの態様では、代替のCDR配列は、本発明による二重特異性抗体の1つまたはその両方の抗原結合部位の親和性最適化のために使用される。 20  
いくつかの態様では、代替のCDRは、Kabata、Chothia、Paratome、AbM、接触、及び／またはIMGTアノテーションに従って定義される。いくつかの態様では、CDRは、2つ以上のアノテーションに従って定義される。

【0088】

VL領域の「非拡張CDR領域」は、アミノ酸配列:1-23 (FR1)、37-45 (FR2)、57-88 (FR3)、及び98-およそ107 (FR4)を含むことができる。VH領域の「非拡張CDR領域」は、アミノ酸配列:1-25 (FR1)、37-46 (FR2)、66-92 (FR3)、及び103-およそ113 (FR4)を含むことができる。

【0089】

本明細書で使用される場合、用語「Fab領域」とは、免疫グロブリンの重鎖（「Fab重鎖」）のVH及びCHIドメイン、または軽鎖（「Fab軽鎖」）のVL及びCLIドメインを指す。 30

【0090】

本明細書で使用される場合、用語「scFv」または「一本鎖抗体断片」とは、抗原への特異的結合を示すリンカー（例えば、10~25アミノ酸の短いペプチド）によって一緒に直鎖状に連結されている抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域からなる一本鎖を指す。

【0091】

本明細書で使用される場合、用語「定常領域」及び「定常ドメイン」とは、交換可能であり、当該技術分野で共通の意味を有する。定常領域は、抗体部分、例えば、抗体の抗原への結合に直接関与しないが、Fc受容体との相互作用などの様々なエフェクター機能を示すことができる軽鎖及び／または重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は、一般に、免疫グロブリン可変ドメインに対してより保存されたアミノ酸配列を有する。 40

【0092】

本明細書で使用される場合、用語「重鎖」とは、抗体に関して使用される場合、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の異なるタイプ、例えば、アルファ（a）、デルタ（d）、イプシロン（e）、ガンマ（g）、及びミュー（m）を指すことができ、これは、それぞれ、IgGのサブクラス、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、及びIg 50

G 4を含む、I g A、I g D、I g E、I g G、及びI g Mクラスの抗体を生じる。重鎖アミノ酸配列は当該技術分野で周知である。いくつかの態様では、重鎖は、ヒト重鎖である。

【0093】

本明細書で使用される場合、用語「軽鎖」とは、抗体に関して使用される場合、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の異なるタイプ、例えば、カップ（K）またはラムダ（L）を指すことができる。軽鎖アミノ酸配列は当該技術分野で周知である。いくつかの態様では、軽鎖は、ヒト軽鎖である。

【0094】

用語「キメラ」抗体またはその抗原結合断片とは、アミノ酸配列が2つ以上の種に由来する抗体またはその抗原結合断片を指す。典型的には、軽鎖及び重鎖の両方の可変領域は、所望の特異性、親和性、及び機能を有する哺乳類の一種（例えば、マウス、ラット、ウサギなど）に由来する抗体またはその抗原結合断片の可変領域に対応し、一方、定常領域は、別の種（通常はヒト）に由来する抗体またはその抗原結合断片における配列に対して相同であり、その種での免疫応答の誘発を回避する。

【0095】

用語「ヒト化」抗体またはその抗原結合断片とは、最小限の非ヒト（例えば、マウス）配列を含有する特定の免疫グロブリン鎖、キメラ免疫グロブリン、またはそれらの断片である非ヒト（例えば、マウス）抗体または抗原結合断片の形態を指す。典型的には、ヒト化抗体またはその抗原結合断片は、ヒト免疫グロブリンであり、その相補性決定領域（CDR）からの残基が、所望の特異性、親和性、及び機能を有する非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、ハムスター）のCDRからの残基で置き換えられる（「CDRグラフト」）（Jones et al., Nature 321: 522-525 (1986)、Riechmann et al., Nature 332: 323-327 (1988)、Verhoeyen et al., Science 239: 1534-1536 (1988)）。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域（FR）は、所望の特異性、親和性、及び機能を有する非ヒト種由来の抗体または断片における対応する残基で置き換えられる。ヒト化抗体またはその抗原結合断片は、抗体またはその抗原結合断片の特異性、親和性、及び／または機能を精密化及び最適化するために、Fvフレームワーク領域内及び／または非ヒトCDR残基内のいずれかの追加の残基を置換することによってさらに修飾され得る。一般に、ヒト化抗体またはその抗原結合断片は、非ヒト免疫グロブリンに対応するCDR領域の全てまたは実質的に全てを含む、少なくとも1つ、典型的には2つまたは3つの可変ドメインの実質的に全てを含むが、FR領域の全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体またはその抗原結合断片は、典型的にはヒト免疫グロブリンのものである免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Fc）の少なくとも一部も含むことができる。ヒト化抗体を生成するために使用される方法の例は、米国特許第5,225,539号、Roguska et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 91(3): 969-973 (1994)、及びRoguska et al., Protein Eng. 9(10): 895-904 (1996)に記載されている。いくつかの態様では、「ヒト化抗体」は、表面再形成抗体である。

【0096】

用語「ヒト」抗体またはその抗原結合断片とは、ヒト免疫グロブリン遺伝子遺伝子座に由来するアミノ酸配列を有する抗体またはその抗原結合断片を意味し、そのような抗体または抗原結合断片は、当該技術分野で既知の任意の技術を使用して作製される。ヒト抗体またはその抗原結合断片のこの定義は、無傷または完全長の抗体及びその断片を含む。

【0097】

「結合親和性」は、一般に、分子（例えば、抗体またはその抗原結合断片）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合的相互作用の合計の強度を指す。別段の指示がない限り、本明細書で使用される「結合親和性」とは、結合対のメ

10

20

30

40

50

ンバー（例えば、抗体またはその抗原結合断片、及び抗原）の間の1：1の相互作用を反映する、固有結合親和性を指す。分子Xの、そのパートナーYに対する親和性は、一般に、解離定数（KD）によって表すことができる。親和性は、これらに限定されないが、平衡解離定数（KD）、及び平衡会合定数（KA）を含む、当該技術分野で既知の多数の方法で測定及び／または発現することができる。KDは、 $k_{off}/k_{on}$ の商から計算されるのに対し、KAは、 $k_{on}/k_{off}$ の商から計算される。 $k_{on}$ は、例えば、抗体またはその抗原結合断片の抗原に対する会合速度定数を指し、 $k_{off}$ は、例えば、抗体またはその抗原結合断片の抗原からの解離を指す。 $k_{on}$ 及び $k_{off}$ は、BIAcore（登録商標）またはKinExAなどの、当業者に既知の技術によって決定することができる。

10

#### 【0098】

本明細書で使用される場合、「エピトープ」とは、当該技術分野における用語であり、抗体またはその抗原結合断片が特異的に結合することができる抗原の局所領域を指す。エピトープは、例えば、ポリペプチドの連続したアミノ酸（線状もしくは連続したエピトープ）であり得るか、またはエピトープは、例えば、ポリペプチドもしくはポリペプチドの2つ以上の不連続領域から一緒になり得る（コンフォメーション、非線状、非連続、または不連続エピトープ）。特定の態様では、抗体またはその抗原結合断片が結合するエピトープは、例えば、NMR分光法、X線回折結晶学研究、ELISAアッセイ、質量分析法（例えば、液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析法）と連結した水素／重水素交換、アレイベースのオリゴペプチドスクニングアッセイ、及び／または変異誘発マッピング（例えば、部位特異的変異誘発マッピング）によって決定することができる。X線結晶学のために、結晶化は、当該技術分野で既知の方法のいずれかを使用して達成され得る（例えば、Giege R et al, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50 (Pt 4): 339-350、McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23、Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274、McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303）。抗原結晶は、周知のX線回折技術を使用して研究され得、X-PLOR (Yale University, 1992, distributed by Molecular Simulations, Inc、例えば、Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW et al., , U.S. 2004/0014194を参照されたい)、及びBUSTER (Bricogne G (1993) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 49 (Pt 1): 37-60、Bricogne G (1997) Meth Enzymol 276A: 361-423, ed Carter CW、Roversi P et al, (2000) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 56 (Pt 10): 1316-1323)などのコンピュータソフトウェアを使用して精密化され得る。変異誘発マッピング研究は、当業者に既知の任意の方法を使用して達成され得る。例えば、アラニンスクニング変異誘発技術を含む変異誘発技術の説明については、Champe M et al, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394、及びCunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085を参照されたい。

20

30

40

#### 【0099】

抗体は、参照抗体がエピトープに結合するのをある程度ブロックする程度まで、そのエピトープ、または重複エピトープに優先的に結合する場合、所与のエピトープに対する参照抗体の結合を「競合的に阻害する」といわれる。競合的阻害は、当該技術分野で既知の任意の方法、例えば、競合ELISAアッセイによって決定することができる。抗体は、所与のエピトープに対する参照抗体の結合を、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%競合的に阻害するといわれ得る。

50

## 【0100】

「単離された」ポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、天然には見られない形態であるポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物を指す。単離されたポリペプチド、抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物には、もはやそれらが天然に見られる形態ではない程度まで精製されたものが含まれる。いくつかの態様では、単離された抗体、ポリヌクレオチド、ベクター、細胞、または組成物は、実質的に純粋である。本明細書で使用される、「実質的に純粋」とは、少なくとも50%純粋（すなわち、汚染物質を含まない）、少なくとも90%純粋、少なくとも95%純粋、少なくとも98%純粋、または少なくとも99%純粋である材料を指す。

10

## 【0101】

用語「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」とは、本明細書では、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために交換可能に使用される。このポリマーは、直鎖状または分岐状であり得、修飾アミノ酸を含むことができ、非アミノ酸によって中断され得る。これらの用語は、自然にまたは介入、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作もしくは修飾、例えば、標識構成成分とのコンジュゲーションによって修飾されているアミノ酸ポリマーも包含する。例えば、アミノ酸（例えば、非天然アミノ酸などを含む）の1つ以上の類似体を含むポリペプチド、及び当該技術分野で既知の他の修飾もこの定義内に含まれる。本開示のポリペプチドが抗体に基づくため、特定の態様では、ポリペプチドは、一本鎖または会合鎖として生じ得ることが理解される。

20

## 【0102】

「同一性パーセント」とは、2つの配列（例えば、アミノ酸配列または核酸配列）間の同一性の程度を指す。同一性パーセントは、2つの配列をアライメントし、配列間の同一性を最大化するためにギャップを導入することによって決定することができる。アライメントは、当該技術分野で既知のプログラムを使用して生成することができる。本明細書の目的のために、ヌクレオチド配列のアライメントは、デフォルトパラメータで設定されたblastnプログラムで行うことができ、アミノ酸配列のアライメントは、デフォルトパラメータで設定されたblastpプログラムで行うことができる（ワールドワイドウェブ、ncbi.nlm.nih.gov上のNational Center for Biotechnology Information (NCBI)を参照されたい）。

30

## 【0103】

本明細書で使用される場合、用語「宿主細胞」とは、任意のタイプの細胞、例えば、初代細胞、培養物中の細胞、または細胞株からの細胞であり得る。特定の態様では、用語「宿主細胞」とは、核酸分子でトランスフェクトされた細胞及びそのような細胞の子孫または潜在的子孫を指す。そのような細胞の子孫は、例えば、宿主細胞ゲノムへの核酸分子の後続の生成または統合で生じ得る変異または環境影響により、核酸分子でトランスフェクトされた親細胞に対して同一ではない場合がある。

## 【0104】

用語「医薬組成物」とは、活性成分の生物活性が有効になるような形態にあり、かつ組成物が投与される対象に許容できない程度に毒性である追加の構成成分を含有しない調製物を指す。組成物は、無菌であり得る。

40

## 【0105】

本明細書で使用される「投与する」、「投与すること」、「投与」などの用語は、薬物、例えば、抗CD94抗体またはその抗原結合断片を、生物学的作用の所望の部位（複数可）に送達すること（例えば、静脈内投与）を可能にするために使用され得る方法を指す。本明細書に記載される薬剤及び方法とともに用いられ得る投与技術は、例えば、Goodman and Gilman, The Pharmacological Basis of Therapeutics, current edition, Pergamon、及びRemington's, Pharmaceutical Sciences

50

, current edition, Mack Publishing Co., Easton, Paに見出される。

【0106】

本明細書で使用される場合、用語「対象」及び「患者」は、交換可能に使用される。対象は、動物であり得る。いくつかの態様では、対象は、非ヒト動物（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、サル、または他の霊長類など）などの哺乳類である。いくつかの態様では、対象は、ヒトである。

【0107】

本明細書で使用される場合、用語「核酸」または「ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチド及び／またはポリヌクレオチド、例えば、デオキシリボ核酸（DNA）またはリボ核酸（RNA）、オリゴヌクレオチド、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって生成された断片、ならびにライゲーション、切断、エンドヌクレアーゼ作用、及びエキソヌクレアーゼ作用のいずれかによって生成された断片を指す。核酸分子は、天然に存在するヌクレオチド（DNA及びRNAなど）、もしくは天然に存在するヌクレオチドの類似体（例えば、天然に存在するヌクレオチドのエナンチオマー形態）、またはそれらの両方の組み合わせであるモノマーで構成され得る。修飾ヌクレオチドは、糖部分及び／またはピリミジンもしくはプリン塩基部分において変化を有し得る。糖修飾は、例えば、ハロゲン、アルキル基、アミン、及びアジド基による1つ以上のヒドロキシル基の置き換えを含むか、または糖は、エーテルもしくはエステルとして官能化され得る。さらに、糖部分全体は、アザ糖及び炭素環式糖類似体などの立体的及び電子的に類似した構造により置き換えられ得る。塩基部分における修飾の例としては、アルキル化プリン及びピリミジン、アシル化プリンもしくはピリミジン、または他の周知の複素環式置換基が挙げられる。核酸モノマーは、ホスホジエステル結合またはそのような連結の類似体によって連結され得る。核酸は、一本鎖または二本鎖のいずれかであり得る。

【0108】

用語「キメラ抗原受容体」（CAR）とは、標的細胞上に存在する構成成分（例えば、リガンド）に結合する結合ドメイン（例えば、結合ドメインは、所望の抗原（例えば、CD94）に特異的な抗体またはその抗原結合断片を含み得る）、及びT細胞受容体活性化細胞内ドメインを含むキメラ分子を指す。いくつかの態様では、CARは、特異的な抗標的細胞免疫活性を示す。特定の態様では、CARは、T細胞抗原受容体複合体ゼータ鎖の細胞内シグナル伝達ドメインに融合した細胞外リガンド結合ドメイン（例えば、一本鎖抗体結合ドメイン（scFv））を含み得る。いくつかの態様では、CARは、細胞外リガンド結合ドメインと、ヒンジと、膜貫通ドメインと、細胞質ドメインと、を含み得る。いくつかの態様では、細胞質ドメインは、共刺激ドメイン（例えば、4-1BB、CD28、またはOX40）及びシグナル伝達ドメイン（例えば、CD3ζeta）を含む。いくつかの態様では、CARは、T細胞で発現した場合、抗体の特異性に基づいて抗原認識を再指向することができる。

【0109】

本明細書で使用される用語「ベクター」とは、これらに限定されないが、ウイルスベクター、プラスミド、RNAベクター、または染色体、非染色体、半合成、もしくは合成核酸を含み得る線状もしくは環状のDNAもしくはRNA分子を含む。ある場合では、ベクターは、自己複製（エピソームベクター）及び／またはそれらが連結されている核酸の発現（発現ベクター）が可能なのである。多数の好適なベクターが当業者に既知であり、市販されている。ウイルスベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、パルボウイルス（例えば、アデノ随伴ウイルス）、コロナウイルス、オルトミクソウイルス（例えば、インフルエンザウイルス）などのマイナス鎖RNAウイルス、ラブドウイルス（例えば、狂犬病及び水胞性口内炎ウイルス）、パラミクソウイルス（例えば、はしか及びセンダイ）、ピコルナウイルス及びアルファウイルスなどのプラス鎖RNAウイルス、ならびにアデノウイルス、ヘルペスウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス1型及び2型、エプスタインバーウイルス、サイトメガロウイルス）、及びポックスウイルス（例えば、

ワクシニア、鶏痘、及びカナリア痘）を含む二本鎖DNAウイルスが挙げられる。他のウイルスとしては、例えば、ノーウォークウイルス、トガウイルス、フラビウイルス、レオウイルス、パポバウイルス、ヘパドナウイルス、及び肝炎ウイルスが挙げられる。レトロウイルスの例としては、トリ白血病肉腫、哺乳類のC型、B型ウイルス、D型ウイルス、HTLV-BLV群、及びレンチウイルスが挙げられる。

#### 【0110】

「共刺激ドメイン」または「共刺激分子」は、共刺激リガンドと特異的に結合し、それによって細胞による共刺激応答（例えば、増殖応答）を媒介する、T細胞上の同族結合パートナーを指す。共刺激分子としては、これらに限定されないが、MHCクラスI分子、BTLA、及びTollリガンド受容体が挙げられる。共刺激分子の例としては、CD27、CD28、CD8、4-1BB（CD137）、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、及びCD83と特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。いくつかの態様では、共刺激分子は、効率的な免疫応答を促進する抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子である。

10

#### 【0111】

「共刺激リガンド」とは、T細胞上の同族の共刺激分子に特異的に結合する、抗原提示細胞上の分子を指す。いくつかの態様では、共刺激リガンドは、例えば、ペプチドを載せたMHC分子とのTCR/CD3複合体の結合によって提供される一次シグナルに加えて、T細胞応答を媒介するシグナルを提供する。いくつかの態様では、T細胞応答としては、これらに限定されないが、増殖活性化、分化などが挙げられる。共刺激リガンドとしては、これらに限定されないが、CD7、B7-1（CD80）、B7-2（CD86）、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、誘導性共刺激リガンド（ICOS-L）、細胞間接着分子（ICAM）、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、リンホトキシンベータ受容体、3/TR6、ILT3、ILT4、Tollリガンド受容体及びB7-H3と特異的に結合するリガンドに結合するアゴニストまたは抗体が挙げられ得る。

20

#### 【0112】

「共刺激シグナル」とは、TCR/CD3ライゲーションなどの一次シグナルと組み合わせて、T細胞増殖及び／または分子の上方制御もしくは下方制御をもたらすシグナルを指す。

30

#### 【0113】

本明細書で使用される用語「細胞外リガンド結合ドメイン」とは、リガンド、例えば、細胞表面分子に結合することができるオリゴまたはポリペプチドを指す。例えば、細胞外リガンド結合ドメインは、特定の疾患状態（例えば、がん）に関連する標的細胞上の細胞表面マーカーとして作用するリガンドを認識するように選択され得る。リガンドとして作用することができる細胞表面マーカーの例としては、ウイルス、細菌及び寄生虫感染症、自己免疫疾患、ならびにがん細胞に関連するものが挙げられる。

#### 【0114】

CARに関して本明細書で使用される「シグナル伝達ドメイン（*signal transducing domain*）」または「シグナル伝達ドメイン（*signaling domain*）」は、標的への細胞外リガンド結合ドメインの結合後の細胞内シグナル伝達を担う。いくつかの態様では、CARで使用されるシグナル伝達ドメインは、免疫細胞の活性化及び免疫応答をもたらす。換言すれば、シグナル伝達ドメインは、CARが発現する免疫細胞の正常なエフェクター機能のうちの少なくとも1つの活性化を担うことができる。例えば、T細胞のエフェクター機能は、サイトカインの分泌を含む細胞溶解活性またはヘルパー活性であり得る。したがって、シグナル伝達ドメインとは、エフェクター機能シグナルを形質導入し、細胞に特殊化機能を行うように指向するタンパク質の一部を指すことができる。CARでの使用のためのシグナル伝達ドメインの例は、同時に作用して、抗原受容体結合後にシグナル伝達を開始するT細胞受容体及び共受容体の細胞質配

40

50

列、ならびにこれらの配列の任意の誘導体またはバリエーション、及び同じ機能を有する任意の合成配列であり得る。ある場合では、シグナル伝達ドメインは、抗原依存性の一次活性化を開始するものと、抗原非依存性様式で作用して二次または共刺激シグナルを提供するものとの、細胞質シグナル伝達配列の2つの異なるクラスを含む。一次細胞質シグナル伝達配列は、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ITAM）として既知であるシグナル伝達モチーフを含むことができる。

#### 【0115】

「ITAM」とは、syk／zap70クラスのチロシンキナーゼのための結合部位として機能する、種々の受容体の細胞質内尾部に見出されるシグナル伝達モチーフを指す。例示的なITAMとしては、TCRzeta、FcRgamma、FcRbeta、FcRepsilon、CD3gamma、CD3delta、CD3epsilon、CD3zeta、CD5、CD22、CD79a、CD79b、及びCD66dに由来するものが挙げられる。いくつかの態様では、CARのシグナル伝達ドメインは、CD3zetaシグナル伝達ドメインを含むことができる。

10

#### 【0116】

本明細書で使用される「膜貫通領域」または「膜貫通ドメイン」は、細胞外結合部分を免疫エフェクター細胞の形質膜にアンカーし、結合ドメインの標的抗原への結合を促進するCARの一部である。いくつかの態様では、膜貫通ドメインは、CD3zeta膜貫通ドメインであり得るが、用いられ得る他の膜貫通ドメインとしては、CD8α、CD4、CD28、CD45、CD9、CD16、CD22、CD33、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、またはCD154から得られるものが挙げられる。

20

#### 【0117】

CARの結合ドメインには、「スペーサー」または「ヒンジ」が続くことができ、これは、抗原結合ドメインをエフェクター細胞表面から離れるように分離または移動させる領域を指す。いくつかの態様では、ヒンジは、細胞／細胞接触、抗原結合、及び活性化を可能にする（Patel et al., Gene Therapy, 1999; 6: 412-419）。CARにおけるヒンジ領域は、膜貫通（TM）ドメインと結合ドメインとの間にあり得る。いくつかの態様では、ヒンジ領域は、免疫グロブリンヒンジ領域であり、野生型免疫グロブリンヒンジ領域または変化した野生型免疫グロブリンヒンジ領域であり得る。本明細書に開示されるCARで使用される他の例示的なヒンジ領域としては、CD8α、CD4、CD28、及びCD7などの1型膜タンパク質の細胞外領域に由来するヒンジ領域が挙げられ得、これらは、これらの分子からの野生型ヒンジ領域であってもよく、または変化していてもよい。いくつかの態様では、ヒンジ領域は、CD8αヒンジを含む。

30

#### 【0118】

態様が、言語「含む」とともに本明細書に開示される場合は常に、別途「からなる」及び／または「から本質的になる」の観点から開示される同様の態様もまた提供されることが理解される。

#### 【0119】

以下の例は例示的なものであり、特許請求される態様の範囲を限定するものではない。

40

#### 【0120】

##### II. 抗CD94抗体及びその抗原結合断片

いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合する抗体（例えば、モノクローナル抗体）及びその抗原結合断片が提供される。いくつかの態様では、ヒトCD94のアミノ酸配列は、配列番号31を含む（RefSeq受託番号NP\_001107868.2を参照されたい）。

#### 【0121】

いくつかの態様では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片は、CD94に結合し、6つのCDR（例えば、CDR H1、CDR H2、CDR H3、CDR L1、CDR L2、及びCDR L3）を含む。CDRは、IMGT（表1）、ア

50

ビシス（表２）、及びKabat（表３）などの当該技術分野の多数のアルゴリズムによって決定することができる。

【０１２２】

例えば、international ImmunoGenetics information System（登録商標）（<http://www.imgt.org>）は、全ての種の全ての免疫グロブリン及びＴ細胞受容体V-REGIONについてのIMGTナンバリングに基づく（IMGT（登録商標）、international ImmunoGenetics information System（登録商標）、Lefranc MP et al., (1991) Nucleic Acids Res. 27 (1): 209-12、Ruiz M et al., (2000) Nucleic Acids Res. 28 (1): 219-21、Lefranc M P (2001) Nucleic Acids Res. 29 (1): 207-9、Lefranc M P (2003) Nucleic Acids Res. 31 (1): 307-10、Lefranc M P et al., (2005) Dev. Comp. Immunol. 29 (3): 185-203、Kaas Q et al., (2007) Briefings in Functional Genomics & Proteomics, 6 (4): 253-64）。

10

【０１２３】

アビシスアルゴリズムは、EMBL-ENAデータバンク、Kabatコレクション、及びタンパク質データバンクから抽出した抗体情報を含むEMBLIGからの抗体タンパク質配列をコンパイルする（Swindells MB et al., (2017) J Mol Biol. 2017 Feb 3; 429 (3): 356-364）。

20

【０１２４】

Kabatの定義は、配列変化に基づいており、一般的に使用されている（Kabat EA et al., 上記）。

【表１】

表１－IMGT CDRアミノ酸配列

| CDR    | アルゴリズム | 配列          | 配列番号 |
|--------|--------|-------------|------|
| CDR H1 | IMGT   | GFNIKDTY    | 3    |
| CDR H2 | IMGT   | IDPANGNT    | 4    |
| CDR H3 | IMGT   | VYGRGSAWFAF | 5    |
| CDR L1 | IMGT   | QDISNY      | 6    |
| CDR L2 | IMGT   | YTS         | -    |
| CDR L3 | IMGT   | QQGNTLPWT   | 8    |

30

40

50

【表 2】

表 2ーアビシス C D R アミノ酸配列

| CDR    | アルゴリズム | 配列                | 配列番号 |
|--------|--------|-------------------|------|
| CDR H1 | アビシス   | DTYMH             | 19   |
| CDR H2 | アビシス   | RIDPANGNTQYDPKFQG | 20   |
| CDR H3 | アビシス   | GRGSAWFAF         | 21   |
| CDR L1 | アビシス   | RASQDISNYLN       | 22   |
| CDR L2 | アビシス   | YTSLHS            | 23   |
| CDR L3 | アビシス   | QQGNTLPWT         | 8    |

10

【表 3】

表 3ーK a b a t C D R アミノ酸配列

| CDR    | アルゴリズム | 配列                | 配列番号 |
|--------|--------|-------------------|------|
| CDR H1 | Kabat  | DTYMH             | 19   |
| CDR H2 | Kabat  | RIDPANGNTQYDPKFQG | 20   |
| CDR H3 | Kabat  | GRGSAWFAF         | 21   |
| CDR L1 | Kabat  | RASQDISNYLN       | 22   |
| CDR L2 | Kabat  | YTSLH             | 24   |
| CDR L3 | Kabat  | QQGNTLPWT         | 8    |

20

## 【0125】

いくつかの態様では、本明細書では、C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗 C D 9 4 特異的抗体）が提供され、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 3 または配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（C D R）H 1 と、配列番号 4 または配列番号 2 0 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 または配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 または配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S または配列番号 2 3 もしくは配列番号 2 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

30

## 【0126】

いくつかの態様では、C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗 C D 9 4 特異的抗体）は、配列番号 3 で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（C D R）H 1 と、配列番号 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

40

## 【0127】

いくつかの態様では、C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗 C D 9 4 特異的抗体）は、配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（C D R）H 1 と、配列番号 2 0 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、配列番号 2 3 で表されるアミノ酸配列を含む C D R

50

L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

【0128】

いくつかの態様では、C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗 C D 9 4 特異的抗体）は、配列番号 19 で表されるアミノ酸配列を含む相補性決定領域（C D R）H 1 と、配列番号 20 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 21 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 22 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、配列番号 24 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

【0129】

いくつかの態様では、C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗 C D 9 4 特異的抗体）は、重鎖可変領域（V H）及び軽鎖可変領域（V L）を含む。いくつかの態様では、V H は、配列番号 1 に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、V L は、配列番号 2 に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0130】

いくつかの態様では、C D 9 4 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗 C D 9 4 特異的抗体）は、重鎖可変領域（V H）及び軽鎖可変領域（V L）を含む。いくつかの態様では、V H は、配列番号 1 に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、V L は、配列番号 2 に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0131】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 85 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 95 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号 1 に対して少なくとも 99 % 同一のアミノ酸配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0132】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85 % 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90 % 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95 % 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98 % 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99 % 同一のアミノ酸配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む V L を含む。

## 【0133】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号1に対して約85%同一のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号1に対して約90%同一のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号1に対して約95%同一のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号1に対して約98%同一のアミノ酸配列を含むVHを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、アミノ酸配列配列番号1に対して約99%同一のアミノ酸配列を含むVHを含む。

## 【0134】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列に対して約85%同一のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列に対して約90%同一のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列に対して約95%同一のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列に対して約98%同一のアミノ酸配列を含むVLを含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号2のアミノ酸配列に対して約99%同一のアミノ酸配列を含むVLを含む。

## 【0135】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94に結合することができる抗体またはその抗原結合断片（例えば、抗CD94特異的抗体）が提供され、本抗体またはその抗原結合断片は、i) 配列番号1のCDRH1、CDRH2、及びCDRH3アミノ酸配列を含むCDRH1、CDRH2、及びCDRH3と、ii) 配列番号2のCDRL1、CDRL2、及びCDRL3アミノ酸配列を含むCDRL1、CDRL2、及びCDRL3と、を含む。

## 【0136】

いくつかの態様では、CDRは、Kabatで定義されるCDR、Chothiaで定義されるCDR、AbMで定義されるCDR、またはIMGTで定義されるCDRである。

## 【0137】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、ヒト、ヒト化、またはキメラである。

## 【0138】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、IgG抗体である。

## 【0139】

いくつかの態様では、IgG抗体は、IgG1抗体またはIgG4抗体である。

## 【0140】

いくつかの態様では、抗体は、抗体の抗原結合断片である。

## 【0141】

いくつかの態様では、該断片は、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv、scFv-Fc、dsFv、及び単一ドメイン分子からなる群から選択される。

## 【0142】

いくつかの態様では、該断片は、scFvである。

## 【0143】

いくつかの態様では、該断片は、Fabである。

## 【0144】

いくつかの態様では、該断片は、イントラボディである。

## 【0145】

いくつかの態様では、抗原結合断片は、Fc領域を欠いている。

## 【0146】

10

20

30

40

50

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、同じポリペプチド鎖上にVH及びVLを含む。

【0147】

いくつかの態様では、VH及びVLは、リンカーによって接続されている。

【0148】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、治療剤、プロドラッグ、ペプチド、タンパク質、酵素、ウイルス、脂質、生物学的応答修飾物質、医薬品、及びPEGからなる群から選択される薬剤にコンジュゲートしている。

【0149】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片は、二重特異性抗体である。抗体は、CD94発現標的細胞に対するT、NK、またはマクロファージ免疫細胞を介するエフェクター応答を媒介するために、抗CD3抗体、抗CD16抗体、または他の分子とコンジュゲートしたscFv、Fab、F(ab)2、またはIgGの形態であり得る。

【0150】

いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、そのVLDメイン単独またはそのVHドメイン単独によって記載され得る。例えば、Rader C et al., (1998) PNAS 95:8910-8915を参照されたく、これは、その全体が参照により本明細書に援用されており、ヒト軽鎖または重鎖ライブラリからそれぞれ相補的な軽鎖または重鎖を特定することによって、元の抗体の親和性と同等程度またはそれより高い親和性を有するヒト化抗体バリエーションをもたらす、マウス抗αvβ3抗体のヒト化を記載している。また、Clackson T et al., (1991) Nature 352:624-628も参照されたく、これは、その全体が参照により本明細書に援用されており、特異的VLDメイン（またはVHドメイン）を使用し、相補的な可変ドメインについてライブラリをスクリーニングすることによって特異的抗原に結合する抗体を産生する方法を記載している。また、Kim SJ & Hong HJ, (2007) J Microbiol 45:572-577も参照されたく、これは、その全体が参照により本明細書に援用されており、特異的VHドメインを使用し、相補的なVLDメインについてライブラリ（例えば、ヒトVLライブラリ）をスクリーニングすることによって特異的抗原に結合する抗体を産生する方法を記載している。選択されたVLDメインは、順次、追加の相補的な（例えば、ヒト）VHドメインの選択をガイドするために使用され得る。

【0151】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片のCDRは、免疫グロブリンの構造的ループの位置を指すChothiaナンバリングスキームに従って決定することができる（例えば、Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196:901-917、Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:927-948、Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227:799-817、Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1):175-82、及び米国特許第7,709,226号を参照されたい）。典型的には、Kabattナンバリング規則を使用する場合、Chothia CDR-H1ループは、重鎖アミノ酸26～32、33、または34に存在し、Chothia CDR-H2ループは、重鎖アミノ酸52～56に存在し、Chothia CDR-H3ループは、重鎖アミノ酸95～102に存在し、Chothia CDR-L1ループは、軽鎖アミノ酸24～34に存在し、Chothia CDR-L2ループは、軽鎖アミノ酸50～56に存在し、Chothia CDR-L3ループは、軽鎖アミノ酸89～97に存在する。Kabattナンバリング規則を用いてナンバリングした場合、Chothia CDR-H1ループの末端は、ループの長さに応じてH32とH34の間で異なる（これは、KabattナンバリングスキームがH35AとH35Bに挿入を置くためであり、35Aも35Bも存在しない場合、このループは32で終わり、35Aのみが存在する場合、このループは3

10

20

30

40

50

3で終わり、35A及び35Bの両方が存在する場合、このループは34で終わる）。

【0152】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合し、抗体のChothia VH及びVL CDRを含む、抗体及びその抗原結合断片が提供される。いくつかの態様では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、1つ以上のCDRを含み、ここで、Chothia及びKabata CDRは、同じアミノ酸配列を有する。いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合し、Kabata CDR及びChothia CDRの組み合わせを含む、抗体及びその抗原結合断片が提供される。

【0153】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片のCDRは、Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7:132-136、及びLefranc M-P et al., (1999) Nucleic Acids Res 27:209-212に記載されているようなIMGTナンバリングシステムに従って決定することができる。IMGTナンバリングスキームによれば、CDR H1は位置26～35にあり、CDR H2は位置51～57にあり、CDR H3は位置93～102にあり、CDR L1は位置27～32にあり、CDR L2は位置50～52にあり、CDR L3は位置89～97にある。いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合し、例えば、上記のLefranc M-P (1999) 及び上記のLefranc M-P et al., (1999)に記載されているように、表3及び4にリストされる抗体のIMGT VH及びVL CDRを含む、抗体及びその抗原結合断片が提供される。

【0154】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片のCDRは、MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 262:732-745に従って決定することができる。また、例えば、Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in Antibody Engineering, Kontermann and Dubel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001) も参照されたい。いくつかの態様では、本明細書では、MacCallum RM et al. における方法によって決定されるCD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片が提供される。

【0155】

いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合断片のCDRは、AbMナンバリングスキームに従って決定することができ、これは、Kabata CDRとChothia構造的ループとの間の折衷物を表すAbM超可変領域を指し、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェア（Oxford Molecular Group, Inc.）によって使用されている。いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片は、AbMナンバリングスキームによって決定される。

【0156】

いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、単離された抗体またはその抗原結合断片である。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片である。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、ポリクローナル抗体またはその抗原結合断片ではない。

【0157】

いくつかの態様では、CD94（例えば、ヒトCD94）に免疫特異的に結合する本明細書に開示される抗原結合断片は、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、及びscFvから

10

20

30

40

50

なる群から選択され、F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>、またはs c F vは、本明細書に開示される抗C D 9 4抗体またはその抗原結合断片の重鎖可変領域配列及び軽鎖可変領域配列を含む。F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>、またはs c F vは、当業者に既知の任意の技術によって産生され得る。いくつかの態様では、F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>、またはs c F vは、インビボで抗体の半減期を延長する部分をさらに含む。この部分は「半減期延長部分」とも称される。F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>、またはs c F vのインビボでの半減期を延長するための当業者に既知の任意の部分が使用され得る。例えば、半減期延長部分は、F c領域、ポリマー、アルブミン、またはアルブミン結合タンパク質もしくは化合物を含み得る。ポリマーは、天然または合成の、任意選択的に置換された直鎖または分岐鎖のポリアルキレン、ポリアルケニレン、ポリオキシアルキレン、多糖、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、メトキシポリエチレングリコール、ラクトース、アミロース、デキストラン、グリコーゲン、またはそれらの誘導体を含み得る。置換基は、1つ以上のヒドロキシ基、メチル基、またはメトキシ基を含み得る。いくつかの態様では、F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>、またはs c F vは、半減期延長部分の結合のための1つ以上のC末端アミノ酸の付加によって修飾され得る。いくつかの態様では、半減期延長部位は、ポリエチレングリコールまたはヒト血清アルブミンである。いくつかの態様では、F a b、F a b'、F (a b')<sub>2</sub>、またはs c F vは、F c領域に融合されている。

10

【0158】

いくつかの態様では、本明細書に開示される抗C D 9 4抗体またはその抗原結合断片は、二重特異性抗体またはその抗原結合断片である。

20

【0159】

抗C D 9 4抗体またはその抗原結合断片は、検出可能な標識または物質に融合またはコンジュゲート（例えば、共有結合または非共有結合）され得る。検出可能な標識または物質の例としては、グルコースオキシダーゼなどの酵素標識、ヨウ素（<sup>125</sup>I、<sup>121</sup>I）、炭素（<sup>14</sup>C）、硫黄（<sup>35</sup>S）、トリチウム（<sup>3</sup>H）、インジウム（<sup>121</sup>In）、及びテクネチウム（<sup>99</sup>Tc）などの放射性同位体、ルミノールなどの発光標識、ならびにフルオレセイン及びローダミン、ならびにビオチンなどの蛍光標識が挙げられる。そのような標識抗体またはその抗原結合断片が、C D 9 4（例えば、ヒトC D 9 4）タンパク質を検出するために使用され得る。

30

【0160】

III. 抗C D 9 4キメラ抗原受容体

キメラ抗原受容体（CAR）は、細胞（例えば、がん細胞）の表面上に発現した抗体認識抗原に対してT細胞特異性を再指向する。

【0161】

いくつかの態様では、本開示は、C D 9 4に特異的であるキメラ抗原受容体（CAR）を含む。いくつかの態様では、本明細書に開示されるCARは、細胞外標的特異的結合ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内シグナル伝達ドメイン（C D 3 z e t aもしくはF c R g a m m aに由来するシグナル伝達ドメインなど）、及び／または共刺激分子に由来する1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、これらに限定されないが、4-1 B B、C D 2 8、もしくはO X 4 0を含む。いくつかの態様では、CARは、C D 8 αヒンジなどの、細胞外結合ドメインと膜貫通ドメインとの間のヒンジまたはスペーサー領域を含む。

40

【0162】

いくつかの態様では、本明細書では、キメラ抗原受容体であって、N末端からC末端に、（a）C D 9 4に結合することができる抗原結合ドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインと、（b）ヒンジと、（c）膜貫通ドメインと、（d）共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含む、キメラ抗原受容体が提供される。いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、配列番号3または配列番号19で表されるアミノ酸配列を含むC D R H 1と、配列番号4または配列番号20で表されるアミノ酸配列を

50

含む C D R H 2 と、配列番号 5 または配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 または配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S または配列番号 2 3 もしくは配列番号 2 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

【0163】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、配列番号 3 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 1 と、配列番号 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 5 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 6 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、アミノ酸配列 Y T S を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

10

【0164】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 1 と、配列番号 2 0 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、配列番号 2 3 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

【0165】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、配列番号 1 9 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 1 と、配列番号 2 0 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 2 と、配列番号 2 1 で表されるアミノ酸配列を含む C D R H 3 と、配列番号 2 2 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 1 と、配列番号 2 4 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 2 と、配列番号 8 で表されるアミノ酸配列を含む C D R L 3 と、を含む。

20

【0166】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 9 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0167】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 9 に対して約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 %、または約 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【0168】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 5 6 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0169】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 5 6 に対して約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 %、または約 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

40

【0170】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 5 7 に対して少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、少なくとも 9 9 %、または 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0171】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 5 7 に対して約 8 5 %、約 9 0 %、約 9 1 %、約 9 2 %、約 9 3 %、約 9 4 %、約 9 5 %、約 9 6 %、約 9 7 %、約 9 8 %、約 9 9 %、または約 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

50

## 【0172】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号1のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（VH）及び配列番号2のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（VL）を含む。

## 【0173】

いくつかの態様では、VHは、配列番号1に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

## 【0174】

いくつかの態様では、VHは、配列番号1に対して約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2に対して約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

## 【0175】

いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、配列番号1のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。

20

## 【0176】

いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。

30

## 【0177】

いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して約85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して約90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して約95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して約98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VHは、アミノ酸配列配列番号1に対して約99%同一のアミノ酸配列を含む。

40

## 【0178】

いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して約85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して約90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して約95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、VLは、配列番号2のアミノ酸配列に対して約98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、V

50

L は、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して約 99% 同一のアミノ酸配列を含む。

【0179】

いくつかの態様では、抗原結合ドメインは、scFv である。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0180】

いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 33 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、アミノ酸配列配列番号 33 に対して約 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、アミノ酸配列配列番号 33 に対して約 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、アミノ酸配列配列番号 33 に対して約 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、アミノ酸配列配列番号 33 に対して約 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、アミノ酸配列配列番号 33 に対して約 99% 同一のアミノ酸配列を含む。

20

【0181】

いくつかの態様では、共刺激ドメインは、4-1BB 共刺激ドメインを含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

40

【0182】

いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 37 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のア

50

ミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号37のアミノ酸配列に対して少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号37のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号37に対して約85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号37に対して約90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号37に対して約95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号37に対して約98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号37に対して約99%同一のアミノ酸配列を含む。

10

#### 【0183】

いくつかの態様では、共刺激ドメインは、CD28共刺激ドメインを含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52に対して少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52に対して約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

#### 【0184】

いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列に対して少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列に対して少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列に対して少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列に対して少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列に対して少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、配列番号52のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号52に対して約85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号52に対して約90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号52に対して約95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号52に対して約98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD28共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号52に対して約99%同一のアミノ酸配列を含む。

30

40

#### 【0185】

いくつかの態様では、共刺激ドメインは、OX40共刺激ドメインを含む。いくつかの態様では、OX40共刺激ドメインは、配列番号53に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40共刺激ドメインは、配列番号53に対して少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なく

50

とも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0186】

いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、配列番号 53 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号 53 に対して約 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号 53 に対して約 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号 53 に対して約 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号 53 に対して約 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、OX40 共刺激ドメインは、アミノ酸配列配列番号 53 に対して約 99% 同一のアミノ酸配列を含む。

10

20

【0187】

いくつかの態様では、ヒンジ、膜貫通ドメイン、またはその両方は、CD8 $\alpha$  ポリペプチドからのものである。

【0188】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

【0189】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 35 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、アミノ酸配列配列番号 35 に対して約 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、アミノ酸配列配列番号 35 に対して約 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C

40

50

D 8  $\alpha$  ヒンジドメインは、アミノ酸配列配列番号 35 に対して約 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  ヒンジドメインは、アミノ酸配列配列番号 35 に対して約 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  ヒンジドメインは、アミノ酸配列配列番号 35 に対して約 99% 同一のアミノ酸配列を含む。

#### 【0190】

いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

#### 【0191】

いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 36 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、アミノ酸配列配列番号 36 に対して約 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、アミノ酸配列配列番号 36 に対して約 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、アミノ酸配列配列番号 36 に対して約 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、アミノ酸配列配列番号 36 に対して約 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 8  $\alpha$  膜貫通ドメインは、アミノ酸配列配列番号 36 に対して約 99% 同一のアミノ酸配列を含む。

#### 【0192】

いくつかの態様では、シグナル伝達ドメインは、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの態様では、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 91%、少なくとも 92%、少なくとも 93%、少なくとも 94%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

#### 【0193】

いくつかの態様では、C D 3 z e t a シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 のアミノ

酸配列に対して少なくとも 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対して少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、配列番号 38 のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列配列番号 38 に対して約 85% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列配列番号 38 に対して約 90% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列配列番号 38 に対して約 95% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列配列番号 38 に対して約 98% 同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD3ζeta シグナル伝達ドメインは、アミノ酸配列配列番号 38 に対して約 99% 同一のアミノ酸配列を含む。

10

【0194】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、表 4 に示されるアミノ酸配列のいずれかまたはそれらの組み合わせを含む。

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4 - 例示的なキメラ抗原受容体アミノ酸配列

| 配列番号 | 名称                      | アミノ酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | キメラ VH AA               | EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMH<br>WVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTQYDPKFQ GKATIP<br>ADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCVYGRGSAWFAF<br>WGQGTLVTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 2    | キメラ VL AA               | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQ<br>QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTI<br>SNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 9    | キメラ抗原受容体<br>AA#1(4-1BB) | MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQTTSSLSASLG<br>DRVTISCRASQDISNYLNWYQKPDGTVKLLIYYTSR<br>LHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQG<br>NTLPWTFGGGKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQL<br>QQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHVVKQ<br>RPEQGLEWIGRIDPANGNTQYDPKFQ GKATIPADTSS<br>NTAYLQLSSLTSEDTAVYYCVYGRGSAWFAFWGQG<br>TLVTVSATTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA<br>GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY<br>CKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEE<br>EGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRR<br>EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQK<br>DKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHDGLYQGLSTATKD<br>TYDALHMQALPPR |
| 32   | CD8 アルファシグナ<br>ルペプチド AA | MALPVTALLLPLALLLHAARP                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| 33   | scFv AA                 | DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQ<br>QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTI<br>SNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIKGGGG<br>SGGGGSGGGGSEVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTAS<br>GFNIKDTYMHVVKQRPEQGLEWIGRIDPANGNTQY<br>DPKFQ GKATIPADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYYCV<br>YGRGSAWFAFWGQGTLVTVSA                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 34   | リンカーAA                  | GGGGSGGGGSGGGGS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 35   | CD8 アルファヒンジ<br>ドメイン AA  | TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAAGGAVHTR<br>GLDFACD                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| 36   | CD8 アルファ膜貫通<br>ドメイン AA  | IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

|    |                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|----|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 37 | 4-1BB 共刺激ドメイン AA       | KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG<br>GCEL                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 38 | CD3zeta 共刺激ドメイン AA     | RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD<br>KRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS<br>EIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA<br>LPPR                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| 52 | CD28 共刺激ドメイン AA        | KRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAA<br>Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 53 | OX40 共刺激ドメイン AA        | RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 56 | キメラ抗原受容体<br>AA#2(CD28) | MALPVTALLLPLALLHAARPDIQMTQTSSLSASLGD<br>RVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLH<br>SGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTL<br>PWTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSEVQLQQSG<br>AELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHVVKQRPEQG<br>LEWIGRIDPANGNTQYDPKFQGKATIPADTSSNTAYLQ<br>LSSLTSEDYAVYYCVYGRGSAWFAFWGQGLTVTSA<br>TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG<br>LDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRSRLLHS<br>DYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRVKFSRS<br>ADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE<br>RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR |
| 57 | キメラ抗原受容体<br>AA#3(OX40) | MALPVTALLLPLALLHAARPDIQMTQTSSLSASLGD<br>RVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLH<br>SGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTL<br>PWTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSEVQLQQSG<br>AELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHVVKQRPEQG<br>LEWIGRIDPANGNTQYDPKFQGKATIPADTSSNTAYLQ<br>LSSLTSEDYAVYYCVYGRGSAWFAFWGQGLTVTSA<br>TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRG<br>LDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCRRDQRLPP<br>DAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKIRVKFSRSAD<br>APAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP<br>EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR<br>RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR |

10

20

30

40

## 【0195】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、表 5 に示される核酸配列のいずれかまたはそれらの組み合わせを含む。

【表 5 - 1】

表 5 - 例示的なキメラ抗原受容体核酸配列

| 配列番号 | 名称          | 核酸配列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 10   | VH DNA(CAR) | GAGGTGCAGCTGCAACAAAGCGGCGCCGAGCTGGT<br>GAAGCCCGGCGCCAGCGTGAAACTGAGCTGTACCG<br>CTAGCGGATTTAACATCAAGGACACATATATGCACT<br>GGGTCAAACAGCGGCCCGAGCAGGGCCTCGAATGG<br>ATCGGCCGGATCGACCCTGCCAACGGCAATACTCAA<br>TACGACCCCAAGTTCCAGGGCAAGGCCACAATTCCT<br>GCTGATACATCTTCTAATAACCGCCTATCTGCAGCTG<br>AGCAGCCTGACCTCCGAGGATAACCGCCGTGTACTAC<br>TCGGTGTACGGCAGAGGCTCTGCCTGGTTTCGCCTTT<br>TGGGGCCAGGGAACCCTGGTTACGGTGTCCGCC |
| 11   | VL DNA(CAR) | GACATCCAGATGACACAGACCACCAGCAGCCTGTC<br>AGCTTCTCTGGGAGATAGAGTGACCATCAGCTGCAG<br>AGCCAGCCAGGACATCAGCAACTACCTGAACTGGT<br>ATCAGCAGAAGCCTGATGGCACAGTGAAGCTGCTG<br>ATCTACTACACCAGCCGGCTGCACAGCGGCGTGCCA<br>TCTAGATTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTA<br>CAGCCTCACAATCAGCAACCTGGAACAGGAGGACA<br>TCGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGGCAACACACTGC<br>CTTGGACCTTCGGCGGGCGGCACCAAGCTGGAAATCA<br>AG                                    |

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

|    |                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 18 | キメラ抗原受容体<br>DNA#1(4-1BB) | ATGGCCCTGCCTGTGACCGCCCTGCTGCTGCCACTG<br>GCCCTGCTGCTGCACGCCGCTAGACCTGACATCCAG<br>ATGACACAGACCACCAGCAGCCTGTCAGCTTCTCTG<br>GGAGATAGAGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCA<br>GGACATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGA<br>AGCCTGATGGCACAGTGAAGCTGCTGATCTACTACA<br>CCAGCCGGCTGCACAGCGGCGTGCCATCTAGATTCA<br>GCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTACAGCCTCACA<br>ATCAGCAACCTGGAACAGGAGGACATCGCCACCTA<br>CTTCTGCCAGCAGGGCAACACACTGCCTTGGACCTT<br>CGGCGGGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAGGGCGGAG<br>GCGGCAGCGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGCGGAGGT<br>TCCGAGGTGCAGCTGCAACAAAGCGGCGCCGAGCT<br>GGTGAAGCCCGGCGCCAGCGTGAAACTGAGCTGTA<br>CCGCTAGCGGATTTAACATCAAGGACACATATATGC<br>ACTGGGTCAAACAGCGGCCCGAGCAGGGCCTCGAA<br>TGGATCGGCCGGATCGACCCTGCCAACGGCAATACT<br>CAATACGACCCCAAGTTCCAGGGCAAGGCCACAATT<br>CCTGCTGATACATCTTCTAATACCGCCTATCTGCAGC<br>TGAGCAGCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGTACT<br>ACTGCGTGTACGGCAGAGGCTCTGCCTGGTTTCGCCT<br>TTTGGGGCCAGGGAACCCTGGTTACGGTGTCCGCCA<br>CAACCACCCCTGCCCCTAGACCTCCTACCCCTGCTC<br>CAACCATCGCCAGCCAGCCCCTGTCTCTGCGGCCTG<br>AAGCTTGCAGACCCGCTGCTGGCGGGCGCCGTGCACA<br>CGAGGGGACTGGACTTCGCCTGCGACATCTACATTT<br>GGGCCCTCTGGCC |
|----|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

|    |                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|----|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    |                                         | GGCACCTGCGGCGTGCTGCTGCTGAGCCTGGTCATCACACTGTA<br>CTGCAAGAGAGGCAGAAAAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAG<br>CCTTTTATGCGGCCCCGTGCAGACCACACAGGAGGAAGATGGCT<br>GCTCTTGTAGATTCCCCGAGGAAGAGGAAGGCGGATGTGAACT<br>GAGAGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGATGCCCCGCTACCAG<br>CAGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGAC<br>GGGAAGAGTACGACGTGCTGGATAAGCGGCGGGGTCTGGGACC<br>CCGAGATGGGAGGCAAGCCTAGAAGGAAGAACCCCAAGAGG<br>GCCTTTATAATGAGCTGCAGAAAGATAAGATGGCCGAAGCCTA<br>CAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGACGCAGAGGCAAAGG<br>CCACGACGGCCTGTACCAAGGCCTCTCCACCGCCACAAAGGAC<br>ACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCTCCAAGATGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 39 | CD8 ア<br>ルファ<br>シグナ<br>ルペプ<br>チド<br>DNA | ATGGCCCTGCCTGTGACCGCCCTGCTGCTGCCACTGGCCCTGCT<br>GCTGCACGCCGCTAGACCT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| 40 | scFv<br>DNA                             | GACATCCAGATGACACAGACCACCAGCAGCCTGTCAGCTTCTC<br>TGGGAGATAGAGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACAT<br>CAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGATGGCACA<br>GTGAAGCTGCTGATCTACTACACCAGCCGGCTGCACAGCGGCG<br>TGCCATCTAGATTGAGCGGAAGCGGCAGCGGCACCGACTACAG<br>CCTCACAATCAGCAACCTGGAACAGGAGGACATCGCCACCTAC<br>TTCTGCCAGCAGGGCAACACACTGCCTTGGACCTTCGGCGGCG<br>GCACCAAGCTGGAATCAAGGGCGGAGGCGGCAGCGGCGGCG<br><u>GAGGCTCTGGCGGCGGAGGTTCCGAGGTGCAGCTGCAACAAAG</u><br><u>CGGCGCCGAGCTGGTGAAGCCCGGCGCCAGCGTGAAACTGAGC</u><br><u>TGTACCGCTAGCGGATTTAATCAAGGACACATATATGCACT</u><br><u>GGGTCAAACAGCGGCCCGAGCAGGGCCTCGAATGGATCGGCCG</u><br><u>GATCGACCCTGCCAACGGCAATACTCAATACGACCCCAAGTTC</u><br><u>CAGGGCAAGGCCACAATTCCTGCTGATACATCTTCTAATACCGC</u><br><u>CTATCTGCAGCTGAGCAGCCTGACCTCCGAGGATACCGCCGTGT</u><br><u>ACTACTGCGTGTACGGCAGAGGCTCTGCCTGGTTCGCCTTTTGG</u><br><u>GGCCAGGGAACCCTGGTTACGGTGTCCGCC</u> |
| 41 | リンカ<br>ーDNA                             | GGCGGAGGCGGCAGCGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGCGGAGGT<br>TCC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| 42 | CD8 ア<br>ルファ<br>ヒンジ<br>ドメイ<br>ン DNA     | ACAACCACCCCTGCCCCCTAGACCTCCTACCCCTGCTCCAACCAT<br>CGCCAGCCAGCCCCTGTCTCTGCGGCCCTGAAGCTTGACAGCCCG<br>CTGCTGGCGGCGCCGTGCACACGAGGGGACTGGACTTCGCCTG<br>CGAC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

10

20

30

40

50

【表 5 - 4】

|    |                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 43 | CD8 アルファ膜貫通<br>ドメイン DNA | ATCTACATTTGGGCCCCCTCTGGCCGGCACCTGCGGC<br>GTGCTGCTGCTGAGCCTGGTCATCACACTGTACTGC                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 44 | 4-1BB 共刺激ドメイ<br>ン DNA   | AAGAGAGGCAGAAAAAAGCTGCTGTACATCTTCAA<br>GCAGCCTTTTATGCGGCCCGTGCAGACCACACAGGA<br>GGAAGATGGCTGCTCTTGTAGATTCCCCGAGGAAGA<br>GGAAGGCGGATGTGAACTG                                                                                                                                                                                                                                                |
| 45 | CD3zeta 共刺激ドメ<br>イン DNA | AGAGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGATGCCCCCTGC<br>CTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTGTACAACGAGC<br>TGAACCTGGGCAGACGGGAAGAGTACGACGTGCTG<br>GATAAGCGGCGGGGTCTGGGACCCCGAGATGGGAGG<br>CAAGCCTAGAAGGAAGAACCCCCAAGAGGGCCTTT<br>ATAATGAGCTGCAGAAAGATAAGATGGCCGAAGCC<br>TACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGACGCAG<br>AGGCAAAGGCCACGACGGCCTGTACCAAGGCCTCT<br>CCACCGCCACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCAC<br>ATGCAGGCCCTGCCTCCAAGATGA |
| 54 | CD28 共刺激ドメイ<br>ン DNA    | AAACGCAGCCGCCTGCTGCATAGCGATTATATGAAC<br>ATGACCCCGCGCCGCCCGGGCCCGACCCGAAACAT<br>TATCAGCCGTATGCGCCGCCGCGCGATTTTGCGGCG<br>TAT                                                                                                                                                                                                                                                                |
| 55 | OX40 共刺激ドメイ<br>ン DNA    | CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCGATGCCCACAA<br>GCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCATCCA<br>AGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCA<br>AGATC                                                                                                                                                                                                                                                                 |

10

20

30

40

50

【表 5 - 5】

|    |                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 58 | キメラ抗原受容<br>体 DNA#2(CD28) | ATGGCCCTGCCTGTGACCGCCCTGCTGCTGCCACTGGCC<br>CTGCTGCTGCACGCCGCTAGACCTGACATCCAGATGACA<br>CAGACCACCAGCAGCCTGTCAGCTTCTCTGGGAGATAG<br>AGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCA<br>ACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGATGGCACA<br>GTGAAGCTGCTGATCTACTACACCAGCCGGCTGCACAGC<br>GGCGTGCCATCTAGATTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCAC<br>CGACTACAGCCTCACAATCAGCAACCTGGAACAGGAGG<br>ACATCGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGGCAACACACTGC<br>CTTGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGGAATCAAG<br>GGCGGAGGCGGCAGCGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGCGG<br>AGGTTCCGAGGTGCAGCTGCAACAAAGCGGCGCCGAGC<br>TGGTGAAGCCCGGCGCCAGCGTGAACTGAGCTGTACC<br>GCTAGCGGATTTAACATCAAGGACACATATATGCACTGG<br>GTCAAACAGCGGCCCGAGCAGGGCCTCGAATGGATCGG<br>CCGGATCGACCTGCCAACGGCAATACTCAATACGACC<br>CCAAGTTCCAGGGCAAGGCCACAATTCCTGCTGATACAT<br>CTTCTAATACCGCCTATCTGCAGCTGAGCAGCCTGACCT<br>CCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGTGTACGGCAGA<br>GGCTCTGCCTGGTTCGCCTTTTGGGGCCAGGGAACCCCTG<br>GTTACGGTGTCCGCCACAACCACCCCTGCCCCCTAGACCT<br>CCTACCCCTGCTCCAACCATCGCCAGCCAGCCCCTGTCT<br>CTGCGGCCTGAAGCTTGCAGACCCGCTGCTGGCGGCGCC<br>GTGCACACGAGGGGACTGGACTTCGCCTGCGACATCTA<br>CATTTGGGCCCCCTCTGGCCGGCACCTGCGGCGTGCTGCT<br>GCTGAGCCTGGTCATCACACTGTACTGCAAACGCAGCCG<br>CCTGCTGCATAGCGATTATATGAACATGACCCCGCGCCG<br>CCCGGGCCCGACCCGCAAACATTATCAGCCGTATGCGCC<br>GCCGCGCGATTTTGCGGCGTATAGAGTGAAGTTCAGCAG<br>AAGC<br>GCCGATGCCCCTGCCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCT<br>GTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGGGAAGAGTACG<br>ACGTGCTGGATAAGCGGCGGGGTTCGGGACCCCGAGATG<br>GGAGGCAAGCCTAGAAGGAAGAACCCCAAGAGGGCCT<br>TTATAATGAGCTGCAGAAAGATAAGATGGCCGAAGCCT<br>ACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGACGCAGAGG<br>CAAAGGCCACGACGGCCTGTACCAAGGCCTCTCCACCG<br>CCACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCC<br>CTGCCTCCAAGATGA |
|----|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

10

20

30

40

50

【表 5 - 6】

|    |                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|----|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 59 | キメラ抗原受容体 DNA#3(OX40) | ATGGCCCTGCCTGTGACCGCCCTGCTGCTGCCACTGGCC<br>CTGCTGCTGCACGCCGCTAGACCTGACATCCAGATGACA<br>CAGACCACCAGCAGCCTGTCAGCTTCTCTGGGAGATAG<br>AGTGACCATCAGCTGCAGAGCCAGCCAGGACATCAGCA<br>ACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCTGATGGCACA<br>GTGAAGCTGCTGATCTACTACACCAGCCGGCTGCACAGC<br>GGCGTGCCATCTAGATTTCAGCGGAAGCGGCAGCGGCAC<br>CGACTACAGCCTCACAATCAGCAACCTGGAACAGGAGG<br>ACATCGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGGCAACACACTGC<br>CTTGACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGGAAATCAAG<br>GGCGGAGGCGGCAGCGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGCGG<br>AGGTTCCGAGGTGCAGCTGCAACAAAGCGGCGCCGAGC<br>TGGTGAAGCCCGGCGCCAGCGTGAAACTGAGCTGTACC<br>GCTAGCGGATTTAACATCAAGGACACATATATGCACTGG<br>GTCAAACAGCGGCCCGAGCAGGGCCTCGAATGGATCGG<br>CCGGATCGACCCTGCCAACGGCAATACTCAATACGACC<br>CCAAGTTCAGGGCAAGGCCACAATTCCTGCTGATACAT<br>CTTCTAATACCGCCTATCTGCAGCTGAGCAGCCTGACCT<br>CCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGTGTACGGCAGA<br>GGCTCTGCCTGGTTCGCCTTTTGGGGCCAGGGAACCCTG<br>GTTACGGTGTCCGCCACAACCACCCCTGCCCTAGACCT<br>CCTACCCCTGCTCCAACCATCGCCAGCCAGCCCCCTGTCT<br>CTGCGGCCTGAAGCTTGCAGACCCGCTGCTGGCGGCGCC<br>GTGCACACGAGGGGACTGGACTTCGCCTGCGACATCTA<br>CATTTGGGCCCCCTCTGGCCGGCACCTGCGGCGTGCTGCT<br>GCTGAGCCTGGTCATCACACTGTACTGCCGGAGGGACC<br>AGAGGCTGCCCCC<br>GATGCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGAC<br>CCCCATCCAAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCC<br>TGGCCAAGATCAGAGTGAAGTTCAGCAGAAGCGCCGAT<br>GCCCCTGCTACCAGCAGGGACAGAACCAGCTGTACAA<br>CGAGCTGAACCTGGGCAGACGGGAAGAGTACGACGTGC<br>TGGATAAGCGGCGGGGTCGGGACCCCGAGATGGGAGGC<br>AAGCCTAGAAGGAAGAACCCCCAAGAGGGCCTTTATAA<br>TGAGCTGCAGAAAGATAAGATGGCCGAAGCCTACAGCG<br>AGATCGGCATGAAGGGCGAGAGACGCAGAGGCAAAGG<br>CCACGACGGCCTGTACCAAGGCCTCTCCACCGCCACAA<br>AGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCTC<br>CAAGATGA |
|----|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

10

20

30

40

## 【0196】

いくつかの態様では、CARの結合ドメインまたは細胞外ドメインは、CARに、目的の標的抗原に結合する能力を提供する。結合ドメイン（例えば、リガンド結合ドメインまたは抗原結合ドメイン）は、生物学的分子（例えば、細胞表面受容体もしくは腫瘍タンパク質、またはその構成成分）を特異的に認識し、それに結合する能力を保有する任意のタンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、またはペプチドであり得る。結合ドメインは、目的の生物学的分子のための、任意の天然に存在する、合成、半合成、または組換え産生した結合パートナーを含み得る。例えば、本明細書にさらに開示されるように、結合ドメインは、抗体軽鎖及び重鎖可変領域であり得るか、または軽鎖及び重鎖可変領域は、一

50

本鎖において及びいずれかの方向（例えば、V L－V HもしくはV H－V L）で一緒に連結され得る。ウエスタンブロット、E L I S A、フローサイトメトリー、または表面プラズモン共鳴分析（例えば、B I A C O R E分析を使用する）を含む、特定の標的と特異的に結合する本開示の結合ドメインを特定するための種々のアッセイが既知である。標的は、腫瘍死滅をもたらすエフェクター免疫応答を誘発することが望ましい臨床的目的の抗原であり得る。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体の結合ドメインの標的抗原は、C D 9 4タンパク質である。

【0197】

例示的なリガンド結合ドメインとしては、s c F vなどの抗体の抗原結合断片などの抗原結合タンパク質、受容体の細胞外ドメイン、細胞表面分子／受容体に対するリガンド、またはその受容体結合ドメイン、及び腫瘍結合タンパク質が挙げられる。いくつかの態様では、本開示のC A Rに含まれる抗原結合ドメインは、可変領域（F v）、C D R、F a b、s c F v、V H、V L、ドメイン抗体バリエーション（d A b）、ラクダ科抗体（V H H）、及び他のタンパク質足場に由来する他の抗原特異的結合ドメインであり得る。

【0198】

いくつかの態様では、C A Rの結合ドメインは、抗C D 9 4一本鎖抗体（s c F v）であり、マウス、キメラ、ヒト、またはヒト化s c F vであり得る。所望の標的に特異的なハイブリドーマのV領域遺伝子から一本鎖抗体をクローニングすることができる。可変領域重鎖（V H）及び可変領域軽鎖（V L）をクローニングするために使用され得る技術は、例えば、O r l a n d i e t a l . , P N A S , 1 9 8 9 ; 8 6 : 3 8 3 3 - 3 8 3 7に開示されている。したがって、いくつかの態様では、結合ドメインは、抗体由来の結合ドメインを含むが、非抗体由来の結合ドメインであり得る。抗体由来の結合ドメインは、抗体の断片または抗体の1つ以上の断片の遺伝子操作された産物であり得、その断片は抗原との結合に関与している。

【0199】

いくつかの態様では、本開示のC A Rは、例えば、分子の適切な間隔及びコンフォメーションのために付与された、1つ以上のドメイン間のリンカーを含むことができる。例えば、いくつかの態様では、結合ドメインのV HまたはV Lの間にリンカーが存在してもよい。いくつかの態様では、リンカーは、1～10アミノ酸長であり得る。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体のドメインのいずれかの間のリンカーは、1～20アミノ酸長または20アミノ酸長であり得る。これに関して、リンカーは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20アミノ酸長であり得る。いくつかの態様では、リンカーは、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30アミノ酸長であり得る。本明細書に記載される数を含む範囲、例えば、リンカー10～30アミノ酸長は、本明細書にも含まれる。

【0200】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるC A Rでの使用に好適なリンカーは、可撓性リンカーである。好適なリンカーは、容易に選択され得、4アミノ酸～10アミノ酸、5アミノ酸～9アミノ酸、6アミノ酸～8アミノ酸、または7アミノ酸～8アミノ酸を含む、1アミノ酸（例えば、G l y）～20アミノ酸、2アミノ酸～15アミノ酸、3アミノ酸～12アミノ酸などの異なる長さの好適なもののいずれかのものであり得、1、2、3、4、5、6、または7アミノ酸であり得る。

【0201】

例示的な可撓性リンカーとしては、nが少なくとも1つの整数である、グリシンポリマー（G）<sub>n</sub>、グリシン-セリンポリマー、グリシン-アラニンポリマー、アラニン-セリンポリマー、及び当該技術分野で既知の他の可撓性リンカーが挙げられ得る。グリシン及びグリシン-セリンポリマーは、比較的構造化されていないため、本明細書に開示されるC A Rなどの融合タンパク質のドメイン間の中性テザーとして機能することができる可能性がある。グリシンは、アラニンよりもなおいっそうファーフサイ空間に有意にアクセスし、より長い側鎖を有する残基よりも制限がはるかに小さい（例えば、S c h e r a g

10

20

30

40

50

a, Rev. Computational Chem. 11173-142 (1992) を参照されたい)。当業者であれば、リンカーが、所望のCAR構造を提供するために、可撓性リンカー及び可撓性のより低い構造を付与する1つ以上の部分を含み得るように、CARの設計が全てまたは部分的に可撓性であるリンカーを含み得ることを認識するであろう。特定のリンカーとしては、(G4S)<sub>n</sub>リンカーが挙げられ、n=1~3である。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34に対して少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34に対して約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

20

30

40

50

#### 【0202】

いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34のアミノ酸配列に対して少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34のアミノ酸配列に対して少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34のアミノ酸配列に対して少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34のアミノ酸配列に対して少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34のアミノ酸配列に対して少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号34のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、アミノ酸配列配列番号34に対して約85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、アミノ酸配列配列番号34に対して約90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、アミノ酸配列配列番号34に対して約95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、アミノ酸配列配列番号34に対して約98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、アミノ酸配列配列番号34に対して約99%同一のアミノ酸配列を含む。

#### 【0203】

いくつかの態様では、膜貫通領域またはドメインは、細胞外結合部分を免疫エフェクター細胞の形質膜にアンカーし、結合ドメインの標的抗原への結合を促進するCARの一部である。膜貫通ドメインは、CD3ze $\eta$ 膜貫通ドメインであり得るが、用いられ得る他の膜貫通ドメインとしては、CD8 $\alpha$ 、CD4、CD28、CD45、CD9、CD16、CD22、CD33、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、及びCD154から得られるものが挙げられる。いくつかの態様では、膜貫通ドメインは、CD8 $\alpha$ の膜貫通ドメインである。いくつかの態様では、膜貫通ドメインは、合成であり、その場合、ロイシン及びバリンなどの主に疎水性の残基を含むであろう。

#### 【0204】

T細胞受容体単独を通して生成されたシグナルは、T細胞の完全な活性化には不十分である。共刺激シグナルまたはシグナル伝達ドメインもまた、T細胞を活性化するために存在すべきである。

#### 【0205】

CARでの使用のためのシグナル伝達ドメインの例は、同時に作用して、抗原受容体結合後にシグナル伝達を開始するT細胞受容体及び共受容体の細胞質配列、ならびにこれらの配列の任意の誘導体またはバリエーション、及び同じ機能を有する任意の合成配列であり得る。ある場合では、シグナル伝達ドメインは、抗原依存性の一次活性化を開始するものと、抗原非依存性様式で作用して二次または共刺激シグナルを提供するものとの、細胞質シ

グナル伝達配列の2つの異なるクラスを含む。一次細胞質シグナル伝達配列は、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ITAM）として既知であるシグナル伝達モチーフを含むことができる。ITAMは、syk/zap70クラスのチロシンキナーゼのための結合部位として機能する、種々の受容体の細胞質内尾部に見出され得る。

【0206】

例示的なITAMとしては、TCRzeta、FcRgamma、FcRbeta、FcRepsilon、CD3gamma、CD3delta、CD3epsilon、CD3zeta、CD5、CD22、CD79a、CD79b、及びCD66dに由来するものが挙げられ得る。いくつかの態様では、CARのシグナル伝達ドメインは、CD3zetaシグナル伝達ドメインを含むことができる。

10

【0207】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるCARは、例えば、共刺激分子に由来する共刺激ドメインを含むことができる。共刺激分子としては、これらに限定されないが、MHCクラスI分子、BTLA、及びTollリガンド受容体が挙げられ得る。共刺激分子の例としては、例えば、CD27、CD28、CD8、4-1BB（CD137）、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、及びCD83と特異的に結合するリガンドなどが挙げられる。共刺激分子は、効率的な免疫応答に寄与することができる抗原受容体またはそのリガンド以外の細胞表面分子であり得る。したがって、本開示は、4-1BBに由来する例示的な共刺激ドメインを提供するが、他の共刺激ドメインは、本明細書に開示されるCARとともに使用することが企図される。1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメインを含めることで、本明細書に開示されるCAR受容体を発現するT細胞の有効性及び拡大を増強することができる。細胞内シグナル伝達及び共刺激シグナル伝達ドメインは、膜貫通ドメインのカルボキシル末端に任意の順序でタンデムに連結することができる。

20

【0208】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるCARは、シグナルペプチドを含むことができる。いくつかの態様では、シグナルペプチドは、CD8αシグナルペプチドである。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32に対して少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32に対して少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32に対して約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

30

40

【0209】

いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32のアミノ酸配列に対して少なくとも99%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8αシグナルペプチドは、配列番号32のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を

50

含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、アミノ酸配列配列番号32に対して約85%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、アミノ酸配列配列番号32に対して約90%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、アミノ酸配列配列番号32に対して約95%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、アミノ酸配列配列番号32に対して約98%同一のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、アミノ酸配列配列番号32に対して約99%同一のアミノ酸配列を含む。

#### 【0210】

CD3またはFcRgammaからのシグナル伝達ドメインを含有するように操作されたscFvベースのCARは、T細胞活性化及びエフェクター機能のための効力のあるシグナルを送達することが示されているが、それらは、付随する共刺激シグナルの不在下でT細胞の生存及び拡大を促進するシグナルを誘発するのに十分ではない。結合ドメイン、ヒンジ、膜貫通、及びCD3zetaまたはFcRgammaに由来するシグナル伝達ドメインを、1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメイン（例えば、CD28、CD137、CD134、及びCD278に由来する細胞内共刺激ドメイン）と一緒に含有する他のCARは、インビトロでのCAR発現T細胞において、ならびに動物モデル及びがん患者において、抗腫瘍活性、ならびにサイトカイン分泌、溶解活性、生存、及び増殖の増加をより効果的に指向することができる（Milone et al., Molecular Therapy, 2009; 17: 1453-1464、Zhong et al., Molecular Therapy, 2010; 18: 413-420、Carpenito et al., PNAS, 2009; 106: 3360-3365）。

#### 【0211】

いくつかの態様では、本開示のCD94結合CARは、(a)結合ドメインとしての抗CD94 scFv（例えば、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片からの結合領域（例えば、CDRまたは可変ドメイン）を有するscFv）と、(b)ヒンジ領域（例えば、ヒトCD8 $\alpha$ に由来する）と、(c)膜貫通ドメイン（例えば、ヒトCD8 $\alpha$ 膜貫通ドメイン）と、(d)シグナル伝達ドメイン（例えば、ヒトT細胞受容体CD3zeta鎖シグナル伝達ドメイン）と、任意選択的に1つ以上の共刺激シグナル伝達ドメイン、例えば、4-1BB共刺激ドメイン、CD28共刺激ドメイン、またはOX40共刺激ドメインと、を含む。いくつかの態様では、異なるタンパク質ドメインは、アミノからカルボキシル末端まで、以下の順序、結合ドメイン、ヒンジ、及び膜貫通ドメインで配置される。細胞内シグナル伝達ドメイン及び任意選択的な共刺激シグナル伝達ドメインは、膜貫通カルボキシル末端に任意の順序でタンデムに連結されて、一本鎖キメラポリペプチドを形成する。

#### 【0212】

いくつかの態様では、CD94結合CARをコードする核酸構築物は、異なるコード配列、例えば、(5'から3'に)ヒト抗CD94 scFv、ヒトCD8 $\alpha$ ヒンジ領域、ヒトCD8 $\alpha$ 膜貫通ドメイン、及びCD3zetaシグナル伝達ドメインのコード配列を含むキメラ核酸分子である。いくつかの態様では、CD94結合CARをコードする核酸構築物は、異なるコード配列、例えば、(5'から3'に)ヒト抗CD94 scFv、ヒトCD8 $\alpha$ ヒンジ、ヒトCD8 $\alpha$ 膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激ドメイン、及びCD3zetaシグナル伝達ドメインのコード配列を含むキメラ核酸分子である。

#### 【0213】

いくつかの態様では、本明細書に開示されるCARをコードするポリヌクレオチドは、ベクターに挿入されている。いくつかの態様では、本明細書で使用されるベクターは、タンパク質をコードするポリヌクレオチドがそのタンパク質の発現及び／またはポリヌクレオチドのクローニングをもたらすように共有結合的に挿入され得るビヒクルである。単離されたポリヌクレオチドは、当該技術分野で既知の任意の好適な方法を使用してベクターに挿入され得、例えば、限定されないが、ベクターは、適切な制限酵素を使用して消化さ

れ得、次いで、一致する制限末端を有する単離されたポリヌクレオチドとライゲーションされ得る。いくつかの態様では、発現ベクターは、細胞内で転写することができる遺伝子産物の少なくとも一部をコードする異種または修飾核酸配列を組み込み、かつ発現する能力を有する。ほとんどの場合、RNA分子は、次いで、タンパク質に翻訳される。発現ベクターは、特定の宿主生物における作動可能に連結されたコード配列の転写及び場合によっては翻訳のための核酸配列を指す、種々の制御配列を含有することができる。転写及び翻訳を支配する制御配列に加えて、ベクター及び発現ベクターは、他の機能も果たす核酸配列を含有することができ、それらは以下で考察される。発現ベクターは、追加の要素を含むことができ、例えば、発現ベクターは、2つの複製系を有することができ、したがって、2つの生物、例えば、発現のためのヒト細胞、ならびにクローニング及び増幅のための原核宿主に、発現ベクターが維持されることを可能にする。

10

#### 【0214】

発現ベクターは、そのそれぞれの宿主細胞における効率的な遺伝子転写及び翻訳のために、プロモーター配列（例えば、CMV、PGK、またはEF1アルファプロモーター）、リボソーム認識及び結合TATAボックス、ならびに3'UTR AAUAAA転写配列などの5'上流及び3'下流調節エレメントを有することができる。他の好適なプロモーターとしては、シミアンウイルス40（SV40）早期プロモーター、マウス乳房腫瘍ウイルス（MMTV）、HIV LTRプロモーター、MoMuLVプロモーター、トリ白血病毒プロモーター、EBV即時早期プロモーター、及びラウス肉腫ウイルスプロモーターの構成的プロモーターが挙げられ得る。ヒト遺伝子プロモーターも使用することができ、これらに限定されないが、アクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、ヘモグロビンプロモーター、及びクレアチンキナーゼプロモーターが挙げられる。いくつかの態様では、誘導性プロモーターは、キメラ抗原受容体を発現するベクターの一部としても企図される。これは、目的のポリヌクレオチド配列の発現をオンにするか、または発現をオフにすることができる分子スイッチを提供する。誘導性プロモーターの例としては、これらに限定されないが、メタロチオニンプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター、またはテトラサイクリンプロモーターが挙げられる。

20

#### 【0215】

発現ベクターは、発現したCARに組み込まれる6x-ヒスチジン、c-Myc、及びFLAGタグなどの追加の配列を有することができる。したがって、発現ベクターは、5'及び3'非翻訳調節配列を含有するように操作することができ、これらは時に、発現ベクター上に担持される目的の核酸（複数可）の効率的な転写を促進または増強することができるエンハンサー配列、プロモーター領域、及び／またはターミネーター配列として機能することができる。発現ベクターはまた、特定の細胞型、細胞位置、または組織型における複製及び／または発現機能性（例えば、転写及び翻訳）のために操作することができる。発現ベクターは、宿主またはレシピエント細胞におけるベクターの維持のための選択可能マーカーを含むことができる。

30

#### 【0216】

いくつかの態様では、ベクターは、プラスミド、自己複製配列、及び転位可能な要素である。追加の例示的なベクターとしては、限定されないが、プラスミド、ファージミド、コスミド、人工染色体、例えば、酵母人工染色体（YAC）、細菌人工染色体（BAC）、またはP1由来人工染色体（PAC）、バクテリオファージ、例えば、ラムダファージまたはM13ファージ、及び動物ウイルスが挙げられる。ベクターとして有用な動物ウイルスのカテゴリーの例としては、限定されないが、レトロウイルス（レンチウイルスを含む）、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス（例えば、単純ヘルペスウイルス）、ボックスウイルス、バキュロウイルス、パピローマウイルス、及びパポバウイルス（例えば、SV40）が挙げられる。発現ベクターの例は、哺乳類細胞における発現のためのLentiviral（商標）Bicistronic Expression System（Neo）ベクター（Clontech）、pCneoベクター（Promega）、哺乳類細胞におけるレンチウイルス媒介遺伝子移入及び発現のためのpLe

40

50

n t i 4 / V 5 - D E S T (商標)、p L e n t i 6 / V 5 - D E S T (商標)、及び p L e n t i 6 . 2 N 5 - G W / l a c Z (I n v i t r o g e n)である。本明細書に開示されるC A Rのコード配列は、哺乳類細胞におけるキメラタンパク質の発現のために、そのような発現ベクターにライゲーションされ得る。

【0217】

いくつかの態様では、C D 9 4 結合C A Rの発現のために、ベクターは、宿主細胞内でポリペプチドの発現を可能にするように宿主細胞に導入され得る。発現ベクターは、発現を制御するための種々の要素を含有することができ、要素としては、限定されないが、プロモーター配列、転写開始配列、エンハンサー配列、選択可能マーカー、及びシグナル配列が挙げられる。これらの要素は、本明細書に開示されるように、当業者によって適切に選択され得る。例えば、プロモーター配列は、ベクターにおけるポリヌクレオチドの転写を促進するために選択され得る。好適なプロモーター配列としては、限定されないが、T 7プロモーター、T 3プロモーター、S P 6プロモーター、ベクターアクチンプロモーター、E F 1 aプロモーター、C M Vプロモーター、及びS V 4 0プロモーターが挙げられる。エンハンサー配列は、ポリヌクレオチドの転写を増強するために選択され得る。選択可能マーカーは、ベクターが挿入された宿主細胞を、そうでない宿主細胞から選択することを可能にするために選択され得、例えば、選択可能マーカーは、抗生物質耐性を付与する遺伝子であり得る。シグナル配列は、発現したポリペプチドを宿主細胞の外に輸送することを可能にするために選択され得る。

10

【0218】

ポリヌクレオチドのクローニングのために、ベクターを宿主細胞（単離された宿主細胞）に導入して、ベクター自体の複製を可能にし、それによってそれに含有されるポリヌクレオチドのコピーを増幅することができる。クローニングベクターは、配列構成成分を含有することができ、一般に、配列構成成分としては、限定されないが、複製起点、プロモーター配列、転写開始配列、エンハンサー配列、及び選択可能マーカーが挙げられる。これらの要素は、当業者によって適切に選択され得る。例えば、複製起点は、宿主細胞におけるベクターの自己複製を促進するために選択され得る。

20

【0219】

いくつかの態様では、本開示は、本明細書で提供されるベクターを含有する単離された宿主細胞を提供する。ベクターを含有する宿主細胞は、ベクターに含有されるポリヌクレオチドの発現またはクローニングにおいて有用であり得る。好適な宿主細胞としては、限定されないが、原核細胞、真菌細胞、酵母細胞、または哺乳類細胞などの高等真核細胞が挙げられ得る。この目的のために好適な原核細胞としては、限定されないが、グラム陰性またはグラム陽性生物などの真正細菌、例えば、E s c h e r i c h i aなどのE n t e r o b a c t e r i a c e a e、例えば、E . c o l i、E n t e r o b a c t e r、E r w i n i a、K l e b s i e l l a、P r o t e u s、S a l m o n e l l a、例えば、S a l m o n e l l a t y p h i m u r i u m、S e r r a t i a、例えば、S e r r a t i a m a r c e s c a n s、及びS h i g e l l a、ならびにB . s u b t i l i s及びB . l i c h e n i f o r m i sなどのB a c i l l i、P . a e r u g i n o s a及びS t r e p t o m y c e sなどのP s e u d o m o n a sが挙げられる。

30

【0220】

本開示のC A Rは、当該技術分野で既知のトランスフェクション及び／または形質導入技術を使用して宿主細胞に導入され得る。本明細書で使用される場合、用語「トランスフェクション」及び「形質導入」とは、外因性核酸配列が宿主細胞に導入されるプロセスを指す。核酸は、宿主細胞D N Aに統合され得るか、または染色体外で維持され得る。核酸は、一過性に維持され得るか、または安定的な導入であり得る。トランスフェクションは、当該技術分野で既知の種々の手段によって達成され得、手段としては、これらに限定されないが、リン酸カルシウム-D N A共沈殿、D E A E -デキストラン-媒介トランスフェクション、ポリブレン媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、リボソーム融合、リポフェクション、プロトプラスト融合、レトロウ

40

50

ウイルス感染、及びバイオリスティックが挙げられる。形質導入は、トランスフェクションではなくむしろ、ウイルス感染の手段によるウイルスベクターまたはレトロウイルスベクターを使用する遺伝子（複数可）の送達を指す。いくつかの態様では、レトロウイルスベクターは、細胞と接触する前に、ベクターをビリオンにパッケージングすることによって形質導入される。例えば、レトロウイルスベクターによって担持されたCD94 CARをコードする核酸は、感染及びプロウイルス統合を通じて細胞に形質導入され得る。

#### 【0221】

いくつかの態様では、本開示のCARは、それらの特異性を目的の標的抗原に再指向するように、免疫エフェクター細胞に導入及び発現される。

#### 【0222】

本開示は、本明細書に開示されるCARを発現する免疫エフェクター細胞を作製するための方法を提供する。いくつかの態様では、免疫エフェクター細胞は、個体から単離され、さらにインビトロで操作することなく遺伝子修飾される。次いで、そのような細胞は、個体に直接再投与され得る。いくつかの態様では、免疫エフェクター細胞は、CARを発現するように遺伝子修飾される前に、最初に活性化され、インビトロで増殖するように刺激される。これに関して、免疫エフェクター細胞は、遺伝子修飾される（すなわち、本明細書に開示されるCARを発現するように形質導入またはトランスフェクトされる）前または後に培養され得る。

#### 【0223】

本明細書に開示される免疫エフェクター細胞のインビトロでの操作または遺伝子修飾の前に、細胞供給源は対象から得ることができる。特に、本明細書に開示されるCARとともに使用するための免疫エフェクター細胞は、T細胞を含む。T細胞は、末梢血単核細胞、骨髓、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染症の部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含む多数の供給源から得ることができる。いくつかの態様では、T細胞は、FICOLL分離などの当業者に既知の任意の数の技術を使用して対象から収集される血液単位から得ることができる。いくつかの態様では、個体の循環血液からの細胞は、アフエーシスによって得られる。アフエーシス産物は、典型的には、T細胞、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球細胞、赤血球細胞、及び血小板を含むリンパ球を含有する。いくつかの態様では、アフエーシスによって収集された細胞は、洗浄されて血漿画分を除去し、細胞をその後の処理に適切な緩衝液または培地中に置くことができる。いくつかの態様では、細胞は、PBSで洗浄される。いくつかの態様では、洗浄溶液は、カルシウムを欠き、かつマグネシウムを欠き得るか、または全てではないが多くの二価陽イオンを欠き得る。当業者によって認識されるように、洗浄ステップは、例えば、半自動フロースルー遠心分離器を使用することによって、当業者に既知の方法によって達成され得る。洗浄後、細胞は、種々の生体適合性緩衝液、または緩衝液の有無にかかわらず他の生理食塩水溶液に再懸濁され得る。いくつかの態様では、アフエーシス試料の望ましくない構成成分は、細胞を直接再懸濁した培養培地中で除去され得る。

#### 【0224】

いくつかの態様では、T細胞は、赤血球細胞を溶解し、例えば、PERCOLL（商標）勾配による遠心分離によって単球を枯渇させることによって、末梢血単核細胞（PBMC）から単離される。CD28+、CD4+、CD8+、CD45RA+、及びCD45RO+ T細胞などのT細胞の特定の下位集団は、陽性または陰性選択技術によってさらに単離され得る。例えば、陰性選択によるT細胞集団の富化は、陰性選択された細胞に特有の表面マーカーに指向された抗体の組み合わせを用いて達成され得る。本明細書で使用するための1つの方法は、陰性選択された細胞上に存在する細胞表面マーカーに指向されたモノクローナル抗体のカクテルを使用する、陰性磁気免疫付着またはフローサイトメトリーを介する細胞選別及び／または選択である。例えば、陰性選択によりCD4+細胞を富化するために、モノクローナル抗体のカクテルは、典型的には、CD14、CD20、CD1b、CD16、HLA-DR、及びCD8に対する抗体を含む。フローサイトメトリー及び細胞選別はまた、本開示で使用するための目的の細胞集団を単離するために使用さ

10

20

30

40

50

れ得る。

【0225】

P B M C は、本明細書に開示される方法を使用して、C A R による遺伝子修飾のために直接使用され得る。いくつかの態様では、P B M C の単離後、T リンパ球はさらに単離され、いくつかの態様では、細胞傷害性及びヘルパー T リンパ球の両方が、遺伝子修飾及び／または拡大の前または後のいずれかで、ナイーブ、メモリ、及びエフェクター T 細胞下位集団に選別され得る。C D 8 + 細胞は、標準的な方法を使用することによって得ることができる。いくつかの態様では、C D 8 + 細胞は、それらのタイプの C D 8 + 細胞の各々に関連している細胞表面抗原を特定することによって、ナイーブ、セントラルメモリ、及びエフェクター細胞にさらに選別される。いくつかの態様では、メモリ T 細胞は、C D 8 + 末梢血リンパ球の C D 6 2 L + 及び C D 6 2 L - サブセットの両方に存在する。抗 C D 8 及び抗 C D 6 2 L 抗体で染色した後、P B M C は、C D 6 2 L - C D 8 + 及び C D 6 2 L + C D 8 + 画分に選別される。いくつかの態様では、セントラルメモリ T C M の表現型マーカーの発現は、C D 4 5 R O、C D 6 2 L、C C R 7、C D 2 8、C D 3、及び C D 1 2 7 を含み、グランザイム B について陰性である。いくつかの態様では、セントラルメモリ T 細胞は、C D 4 5 R O +、C D 6 2 L +、C D 8 + T 細胞である。いくつかの態様では、エフェクター T 細胞は、C D 6 2 L、C C R 7、C D 2 8、及び C D 1 2 7 について陰性であり、グランザイム B 及びパーフォリンについて陽性である。いくつかの態様では、ナイーブ C D 8 + T リンパ球は、C D 6 2 L、C C R 7、C D 2 8、C D 3、C D 1 2 7、及び C D 4 5 R A を含むナイーブ T 細胞の表現型マーカーの発現を特徴とする。

10

20

【0226】

いくつかの態様では、C D 4 + T 細胞は、下位集団にさらに選別される。例えば、C D 4 + T ヘルパー細胞は、細胞表面抗原を有する細胞集団を特定することによって、ナイーブ、セントラルメモリ、及びエフェクター細胞に選別され得る。C D 4 + リンパ球は、標準的な方法によって得ることができる。

【0227】

T 細胞などの免疫エフェクター細胞は、既知の方法を使用する単離後に遺伝子修飾され得るか、または免疫エフェクター細胞は、遺伝子修飾される前にインビトロで活性化及び拡大（または前駆細胞の場合には分化）され得る。別の実施形態では、T 細胞などの免疫エフェクター細胞は、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体で遺伝子修飾され（例えば、C A R をコードする核酸を含むウイルスベクターで形質導入され）、次いで、インビトロで活性化及び拡大される。T 細胞を活性化及び拡大するための方法は、当該技術分野で既知であり、例えば、米国特許第 6, 905, 874 号、同第 6, 867, 041 号、同第 6, 797, 514 号、W O 2 0 1 2 0 7 9 0 0 0 に開示されている。一般に、そのような方法は、P B M C または単離された T 細胞を、一般にビーズまたは他の表面に結合した刺激剤及び共刺激剤、例えば、抗 C D 3 及び抗 C D 2 8 抗体と、I L - 2 などの適切なサイトカインを有する培地中で接触させることを含む。同じビーズに結合した抗 C D 3 及び抗 C D 2 8 抗体は、「代理」抗原提示細胞（A P C）として機能する。いくつかの態様では、T 細胞は、米国特許第 6, 040, 177 号、同第 5, 827, 642 号、及び W O 2 0 1 2 / 1 2 9 5 1 4 に開示される方法などの方法を使用して、フィーダー細胞及び適切な抗体及びサイトカインとともに増殖するように活性化及び刺激され得る。

30

40

【0228】

本明細書に開示されるように調製された C A R 発現免疫エフェクター細胞は、本開示に基づいて当業者には明らかであろう既知の技術またはその変形に従って、養子免疫療法のための方法及び組成物において利用され得る。例えば、G r u e n b e r g e t a l による米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 7 0 2 3 8 号を参照されたく、また、R o s e n b e r g による米国特許第 4, 690, 915 号も参照されたい。

【0229】

いくつかの態様では、細胞は、最初にそれらをその培養培地から採取し、次いで、細胞を洗浄し、投与に好適な培地及び容器系（「薬学的に許容される」担体）中で細胞を治療

50

有効量で濃縮することによって製剤化される。好適な注入媒体は、任意の等張媒体製剤、典型的には通常の生理食塩水、Normosol R (Abbott) または Plasma-Lyte A (Baxter) であり得るが、水中の5%デキストロースまたは乳酸リンゲル液も利用され得る。注入媒体は、ヒト血清アルブミンで補充され得る。

#### 【0230】

細胞は、療法を受ける患者に対して自己由来または異種であり得る。所望される場合、治療はまた、免疫応答の誘導を増強するために、本明細書に開示されるマイトジェン（例えば、PHA）もしくはリンホカイン、サイトカイン、及び／またはケモカイン（例えば、IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12、TNF- $\alpha$ 、IL-18、及びTNF- $\beta$ 、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 $\alpha$ など）の投与を含み得る。

10

#### 【0231】

本開示のCAR発現免疫エフェクター細胞集団は、単独で、あるいは希釈剤及び／またはIL-2もしくは他のサイトカインもしくは細胞集団などの他の構成成分と組み合わせた医薬組成物としてのいずれかで投与され得る。簡単に説明すると、本開示の医薬組成物は、本明細書に開示されるT細胞などのCAR発現免疫エフェクター細胞集団を、1つ以上の薬学的または生理学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と組み合わせて含むことができる。そのような組成物は、例えば、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース、またはデキストラン、マンニトールなどの炭水化物；タンパク質；グリシンなどのポリペプチドまたはアミノ酸；抗酸化剤；EDTAまたはグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）；及び保存剤を含む。本開示の組成物は、好ましくは、静脈内投与のために製剤化される。

20

#### 【0232】

B細胞を活性化し、それによって抗体産生をもたらすことができるヘルパーT細胞によって主に媒介される体液性免疫応答もまた誘導されてもよい。種々の技術が、本開示の組成物によって誘導される免疫応答のタイプを分析するために使用されてもよく、当該技術分野では、例えば、Current Protocols in Immunology, Edited by: John E. Coligan, Ada M. Kruisbeek, David H. Margulies, Ethan M. Shevach, Warren Strober (2001) John Wiley & Sons, N.Y., N.Y. で十分に開示されている。

30

#### 【0233】

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書で提供されるキメラ抗原受容体のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

#### 【0234】

いくつかの態様では、がんは、白血病である。いくつかの態様では、がんは、CD94発現癌である。

#### 【0235】

いくつかの態様では、白血病は、T細胞白血病、T細胞大顆粒白血病、ナチュラルキラー細胞大顆粒白血病、またはナチュラルキラー細胞白血病である。

40

#### 【0236】

いくつかの態様では、がんは、リンパ腫である。

#### 【0237】

いくつかの態様では、リンパ腫は、T細胞リンパ腫、節外ナチュラルキラー／T細胞リンパ腫、肝脾T細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性T細胞リンパ腫、または未分化大細胞型リンパ腫である。

#### 【0238】

いくつかの態様では、がんは、肺癌、膀胱癌、または黒色腫である。

50

## 【0239】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植片の移植片拒絶反応を治療または予防する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に提供するキメラ抗原受容体のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

## 【0240】

いくつかの態様では、移植は、同種移植である。

## 【0241】

いくつかの態様では、移植は、臓器移植である。

## 【0242】

いくつかの態様では、移植は、造血細胞移植である。

10

## 【0243】

いくつかの態様では、移植は、誘導多能性細胞療法である。

## 【0244】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書で提供されるキメラ抗原受容体のいずれかの抗体またはその抗原結合断片を治療有効量で投与することを含む。

## 【0245】

いくつかの態様では、免疫応答が増強される。

## 【0246】

いくつかの態様では、免疫応答は、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞によって媒介される。

20

## 【0247】

本明細書に開示される細胞組成物を投与するための方法は、対象において本開示のCARを直接発現するエキスピボで遺伝子修飾された免疫エフェクター細胞の再導入をもたらすか、または対象への導入時にCARを発現する成熟免疫エフェクター細胞に分化する免疫エフェクター細胞の遺伝子修飾された前駆細胞の再導入をもたらすのに有効である任意の方法を含む。1つの方法は、本開示に従う核酸構築物を用いて末梢血T細胞をエキスピボで形質導入し、形質導入された細胞を対象に戻すことを含む。

## 【0248】

本開示は、免疫療法のための免疫細胞を調製する方法であって、本明細書に開示されるCD94特異的キメラ抗原受容体のうちの1つをコードするポリヌクレオチドまたはペクターをそのような免疫細胞にエキスピボで導入することを含む、方法を包含する。

30

## 【0249】

本開示はまた、本明細書に開示されるCD94特異的キメラ抗原受容体のうちの1つをコードするポリヌクレオチドまたはレンチウイルスベクターを含む免疫細胞を包含する。いくつかの態様では、これらの免疫細胞は、免疫療法（例えば、がんの治療）のために使用される。

## 【0250】

本開示はまた、免疫細胞を遺伝子修飾して、それらを同種移植により好適なものにする方法を包含する。第1の態様によれば、免疫細胞は、例えば、WO2013/176915に開示されているように、T細胞受容体(TCR)の1つ以上の構成成分を発現する少なくとも1つの遺伝子を不活性化することによって、同種(allogeneic)にすることができ、これは、HLAまたはβ2mタンパク質の発現をコードまたは調節する遺伝子の不活性化と組み合わせることができる。したがって、移植片対宿主症候群及び移植片拒絶反応のリスクは、有意に低減される。

40

## 【0251】

いくつかの態様では、本明細書では、本開示のキメラ抗原受容体を含む免疫細胞が提供される。いくつかの態様では、免疫細胞は、免疫エフェクター細胞である。いくつかの態様では、免疫細胞は、T細胞である。いくつかの態様では、免疫細胞は、炎症性Tリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、制御性Tリンパ球、またはヘルパーTリンパ球から選択され

50

るＴリンパ球である。ある場合では、免疫細胞は、ＣＤ８＋細胞傷害性Ｔリンパ球である。

【０２５２】

いくつかの態様では、操作されたヒトＴ細胞は、キメラ抗原受容体を含み、キメラ抗原受容体は、Ｎ末端からＣ末端に、（ａ）ＣＤ９４に結合することができるｓｃＦｖドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインと、（ｂ）ヒンジと、（ｃ）膜貫通ドメインと、（ｄ）共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含む。いくつかの態様では、ＶＨは、配列番号３または配列番号１９で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ１と、配列番号４または配列番号２０で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ２と、配列番号５または配列番号２１で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ３と、を含む。いくつかの態様では、ＶＬは、配列番号６または配列番号２２で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ１と、アミノ酸配列ＹＴＳまたは配列番号２３もしくは配列番号２４で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ２と、配列番号８で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ３と、を含む。いくつかの態様では、ｓｃＦｖドメインは、ＶＨ及びＶＬを含む。

10

【０２５３】

いくつかの態様では、ＶＨは、配列番号３で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ１と、配列番号４で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ２と、配列番号５で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ３と、を含む。いくつかの態様では、ＶＬは、配列番号６で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ１と、アミノ酸配列ＹＴＳを含むＣＤＲ Ｌ２と、配列番号８で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ３と、を含む。

20

【０２５４】

いくつかの態様では、ＶＨは、配列番号１９で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ１と、配列番号２０で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ２と、配列番号２１で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｈ３と、を含む。いくつかの態様では、ＶＬは、配列番号２２で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ１と、配列番号２３で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ２と、配列番号８で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ３と、を含む。いくつかの態様では、ＶＬは、配列番号２２で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ１と、配列番号２４で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ２と、配列番号８で表されるアミノ酸配列を含むＣＤＲ Ｌ３と、を含む。

30

【０２５５】

いくつかの態様では、操作されたヒトＴ細胞は、配列番号９に対する少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む。

【０２５６】

いくつかの態様では、操作されたヒトＴ細胞は、配列番号９に対して約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９８％、約９９％、または約１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む。

40

【０２５７】

いくつかの態様では、操作されたヒトＴ細胞は、配列番号５６に対する少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む。

【０２５８】

いくつかの態様では、操作されたヒトＴ細胞は、配列番号５６に対して約８５％、約９０％、約９１％、約９２％、約９３％、約９４％、約９５％、約９６％、約９７％、約９

50

8 %、約 99 %、または約 100 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む。

【0259】

いくつかの態様では、操作されたヒト T 細胞は、配列番号 57 に対する少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む。

【0260】

いくつかの態様では、操作されたヒト T 細胞は、配列番号 57 に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 %の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むキメラ抗原受容体を含む。

【0261】

操作された細胞（例えば、T 細胞）の遺伝子修飾の前後にかかわらず、本開示の遺伝子修飾された免疫細胞が、抗原結合メカニズムとは独立して活性化及び増殖される場合であっても、本開示の免疫細胞、特に T 細胞は、一般に、例えば、米国特許第 6,352,694 号、同第 6,534,055 号、同第 6,905,680 号、同第 6,692,964 号、同第 5,858,358 号、同第 6,887,466 号、同第 6,905,681 号、同第 7,144,575 号、同第 7,067,318 号、同第 7,172,869 号、同第 7,232,566 号、同第 7,175,843 号、同第 5,883,223 号、同第 6,905,874 号、同第 6,797,514 号、同第 6,867,041 号、及び米国特許出願公開第 2006/0121005 号に開示される方法を使用して、さらに活性化及び拡大され得る。T 細胞は、インビトロまたはインビボで拡大され得る。

【0262】

いくつかの態様では、本開示の T 細胞は、CD3 TCR 複合体、及び T 細胞のための活性化シグナルを生成する T 細胞の表面上の共刺激分子を刺激する薬剤との接触によって拡大される。例えば、カルシウムイオノフォア A23187、ホルボール 12-ミリステート 13-アセテート (PMA)、またはフィトヘマグルチニン (PHA) のような分裂促進性レクチンなどの化学物質が、T 細胞のための活性化シグナルを生成するために使用され得る。

【0263】

非限定的な例として、T 細胞集団は、例えば、抗 CD3 抗体もしくはその抗原結合断片、または表面上に固定化された抗 CD2 抗体との接触によって、あるいはカルシウムイオノフォアと併せたタンパク質キナーゼ C 活性化因子（例えば、プリオスタチン）との接触によってインビトロで刺激され得る。T 細胞の表面上のアクセサリー分子の共刺激のために、アクセサリー分子に結合するリガンドが使用される。例えば、T 細胞集団は、T 細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で抗 CD3 抗体及び抗 CD28 抗体と接触し得る。T 細胞培養に適切な条件は、血清（例えば、ウシ胎仔もしくはヒト血清）、インターロイキン-2 (IL-2)、インスリン、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-2、IL-15、TGF $\beta$ 、及び TNF- $\alpha$ 、または当業者に既知の細胞成長のための任意の他の添加物を含む増殖及び生存に必要な因子を含有することができる適切な培地（例えば、最小必須培地または RPMI 培地 1640 または X-vivo 5 (Lonza)）を含む。細胞成長のための他の添加物としては、界面活性剤、ブラスマネート、ならびに還元剤、例えば、N-アセチル-L-システイン及び 2-メルカプトエタノールが挙げられるが、これらに限定されない。培地は、アミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、及びビタミンが添加され、無血清であるか、または適切な量の血清（もしくは血漿）または定義された組のホルモン、及び／または T 細胞の成長及び拡大に十分な量のサイトカイン（複数可）を補充しているかのいずれかの RPMI 1640、A1M-V、DMEM、MEM、 $\alpha$ -MEM、F-12、X-Vivo 1、及び X-Vivo 20、O

ptimizerを含み得る。抗生物質、例えば、ペニシリン及びストレプトマイシンは、実験培養物にのみ含まれ、対象に注入される細胞の培養物には含まれない。標的細胞は、成長を支援するのに必要な条件下、例えば、適切な温度（例えば、37℃）及び雰囲気（例えば、空気+5%O<sub>2</sub>）で維持される。様々な刺激時間に曝露されているT細胞は、異なる特徴を示すことができる。

【0264】

いくつかの態様では、細胞は、組織または細胞との共培養によって拡大され得る。細胞はまた、インビボで、例えば、対象に該細胞を投与した後、対象の血液中で拡大され得る。

【0265】

10

#### IV. 抗体産生

CD94（例えば、ヒトCD94）に免疫特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片は、抗体及びその抗原結合断片の合成のための当該技術分野で既知の任意の方法によって、例えば、化学合成によって、または組換え発現技術によって産生され得る。本明細書に開示される方法は、別段の指示がない限り、当該技術分野の技能の範囲内で、分子生物学、微生物学、遺伝子分析、組換えDNA、有機化学、生化学、PCR、オリゴヌクレオチドの合成及び修飾、核酸ハイブリダイゼーション、ならびに関連分野における従来の技術を用いる。これらの技術は、例えば、本明細書で引用される参考文献に開示されており、文献で完全に説明されている。例えば、Sambrook J et al., (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, Ausubel FM et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987 and annual updates), Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (1987 and annual updates) Gait (ed.) (1984) Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press, Eckstein (ed.) (1991) Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press, Birren B et al., (eds.) (1999) Genome Analysis: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照されたい。

20

30

【0266】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に免疫特異的に結合する抗体または抗原結合断片を作製する方法であって、本明細書に開示される細胞または宿主細胞を培養することを含む、方法が提供される。いくつかの態様では、本明細書では、CD94（例えば、ヒトCD94）に免疫特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片を作製する方法であって、本明細書に開示される細胞または宿主細胞（例えば、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドを含む細胞または宿主細胞）を使用して、抗体またはその抗原結合断片を発現（例えば、組換え発現）することを含む、方法が提供される。いくつかの態様では、細胞は、単離された細胞である。いくつかの態様では、外因性ポリヌクレオチドは、細胞に導入されている。いくつかの態様では、本方法は、細胞または宿主細胞から得られた抗体または抗原結合断片を精製するステップをさらに含む。

40

【0267】

ポリクローナル抗体を産生するための方法は、当該技術分野で既知である（例えば、Chapter 11 in: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM et al., eds., John Wiley and Sons, New Yorkを参照され

50

たい)。

【0268】

モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、ハイブリドーマ、組換え、及びファージディスプレイ技術、酵母ベースの提示技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む、当該技術分野で既知の多種多様な技術を使用して調製され得る。例えば、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、当該技術分野で既知であり、例えば、Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988)、Hammerling GJ et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N. Y., 1981) で教示されているか、または Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495 に開示されているものを含む、ハイブリドーマ技術を使用して産生され得る。本明細書に開示される抗体を選択及び生成するために用いられ得る酵母ベースの提示方法の例としては、例えば、WO2009/036379A2、WO2010/105256、及びWO2012/009568 に開示されているものが挙げられ、これらの各々は、その全体が参照により本明細書に援用されている。

10

【0269】

特定の態様では、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、上述のように、Kohler et al., *Nature*, 256: 495 (1975) によって最初に開示されたハイブリドーマ法を使用して産生され得る。ハイブリドーマ法では、マウスまたは別の適切な宿主動物が上に開示されるように免疫化されて、免疫化に使用されるタンパク質、例えば、CD94 のバリエーション混合物に特異的に結合する抗体を産生するか、または産生することができるリンパ球を誘発する。次いで、リンパ球は、ポリエチレングリコールなどの好適な融合剤を使用して骨髄腫細胞で融合されて、ハイブリドーマ細胞を形成する (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103, Academic Press, 1986)。

20

【0270】

いくつかの態様では、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、クローン細胞 (例えば、組換え抗体または抗原結合断片を産生するハイブリドーマまたは宿主細胞) によって産生される抗体または抗原結合断片であり、抗体または抗原結合断片は、例えば、ELISA または当該技術分野もしくは本明細書に提供される実施例で既知の他の抗原結合アッセイによって決定されるように、CD94 (例えば、ヒトCD94) に免疫特異的に結合する。いくつかの態様では、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、げっ歯類もしくはマウス抗体またはその抗原結合断片であり得る。いくつかの態様では、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、キメラもしくはヒト化抗体またはその抗原結合断片であり得る。いくつかの態様では、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、Fab 断片または F(ab')<sub>2</sub> 断片であり得る。本明細書に開示されるモノクローナル抗体またはその抗原結合断片は、例えば、Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495 に開示されているハイブリドーマ法によって作製され得るか、または例えば、本明細書に開示される技術を使用して、例えば、ファージライブラリから単離され得る。クローン細胞株、ならびにそれによって発現したモノクローナル抗体及びその抗原結合断片の調製のための他の方法は、当該技術分野で周知である (例えば、Chapter 11 in: *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel F M et al. を参照されたい)。

30

40

【0271】

本明細書に開示される抗体の抗原結合断片は、当業者に既知の任意の技術によって生成することができる。例えば、本明細書に開示される Fab 及び F(ab')<sub>2</sub> 断片は、パ

50

パイン（F a b断片を産生するため）またはペプシン（F（a b'）2断片を産生するため）などの酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解切断によって産生され得る。F a b断片は、四量体抗体分子の2つの同一アームのうちの1つに対応し、重鎖のV H及びC H1ドメインと対合した完全な軽鎖を含有する。F（a b'）2断片は、ヒンジ領域内のジスルフィド結合によって連結された四量体抗体分子の2つの抗原結合アームを含有する。

#### 【0272】

さらに、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、当該技術分野で既知の様々なファージディスプレイ及び／または酵母ベースの提示方法を使用して生成することもできる。ファージディスプレイ法では、タンパク質は、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面上に提示される。特に、V H及びV LドメインをコードするDNA配列は、動物cDNAライブラリ（例えば、罹患した組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリ）から増幅される。V H及びV LドメインをコードするDNAは、PCRによってscFvリンカーと一緒に組換えられ、ファージミドベクターにクローニングされる。ベクターはE. coliにエレクトロポレーションされ、E. coliはヘルパーファージと感染させる。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、fd及びM13を含む線維状ファージであり、V H及びV Lドメインは、通常、ファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIのいずれかに組換え融合される。特定の抗原に結合する抗体またはその抗原結合断片を発現するファージは、例えば、固体表面またはビーズに結合または捕捉した標識抗原または抗原を使用して、抗原により選択または特定され得る。本明細書に開示される抗体または断片を作製するために使用され得るファージディスプレイ法の例としては、Brinkman U et al., (1995) J Immunol Methods 182:41-50、Ames RS et al., (1995) J Immunol Methods 184:177-186、Kettleborough CA et al., (1994) Eur J Immunol 24:952-958、Persic L et al., (1997) Gene 187:9-18、Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57:191-280、PCT出願第PCT/GB91/001134号、国際公開第WO90/02809号、同第WO91/10737号、同第WO92/01047号、同第WO92/18619号、同第WO93/11236号、同第WO95/15982号、同第WO95/20401号、及び同第WO97/13844号、ならびに米国特許第5,698,426号、同第5,223,409号、同第5,403,484号、同第5,580,717号、同第5,427,908号、同第5,750,753号、同第5,821,047号、同第5,571,698号、同第5,427,908号、同第5,516,637号、同第5,780,225号、同第5,658,727号、同第5,733,743号、及び同第5,969,108号に開示されるものが挙げられる。

#### 【0273】

抗体またはその抗原結合断片は、IgM、IgG、IgD、IgA、及びIgEを含む任意のクラスの免疫グロブリン、ならびにIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4を含む任意のアイソタイプから選択され得る。

#### 【0274】

##### a. ポリヌクレオチド

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片をコードするヌクレオチド配列、またはCD94（例えば、ヒトCD94）抗原に免疫特異的に結合するそのドメイン（例えば、可変軽鎖領域及び／または可変重鎖領域）を含むポリヌクレオチド、ならびにベクター、例えば、宿主細胞（例えば、E. coli及び哺乳類細胞）における組換え発現のためのそのようなポリヌクレオチドを含むベクターが提供される。

#### 【0275】

10

20

30

40

50

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体（CAR）をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0276】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94ポリペプチド（例えば、ヒトCD94）に免疫特異的に結合し、本明細書に開示されるアミノ酸配列を含む、抗体またはその抗原結合断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドが提供される。

【0277】

いくつかの態様では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片は、CD94に結合し、6つのCDR（例えば、CDR H1、CDR H2、CDR H3、CDR L1、CDR L2、及びCDR L3）を含む。CDRは、IMGT（表6）、アビシス（表7）、及びKabat（表8）などの当該技術分野の多数のアルゴリズムによって決定してもよい。

【0278】

例えば、international Immunogenetics information System（登録商標）（<http://www.imgt.org>）は、全ての種の全ての免疫グロブリン及びT細胞受容体V-REGIONについてのIMGTナンバリングに基づく（IMGT（登録商標）、international Immunogenetics information System（登録商標）、Lefranc MP et al., (1991) Nucleic Acids Res. 27 (1): 209-12、Ruiz M et al., (2000) Nucleic Acids Res. 28 (1): 219-21、Lefranc M P (2001) Nucleic Acids Res. 29 (1): 207-9、Lefranc M P (2003) Nucleic Acids Res. 31 (1): 307-10、Lefranc M P et al., (2005) Dev. Comp. Immunol. 29 (3): 185-203、Kaas Q et al., (2007) Briefings in Functional Genomics & Proteomics, 6 (4): 253-64）。

【0279】

アビシスアルゴリズムは、EMBL-ENAデータバンク、Kabatコレクション、及びタンパク質データバンクから抽出した抗体情報を含むEMBLIGからの抗体タンパク質配列をコンパイルする（Swindells MB et al., (2017) J Mol Biol. 2017 Feb 3; 429 (3): 356-364）。

【0280】

Kabatの定義は、配列変化に基づいており、最も一般的に使用されている（Kabat EA et al.（前掲のKabat））。

【表6】

表6-IMGT CDRヌクレオチド配列

| CDR    | アルゴリズム | 配列                                                | 配列番号 |
|--------|--------|---------------------------------------------------|------|
| CDR H1 | IMGT   | GGATTTAACATCAAGGACACATAT                          | 12   |
| CDR H2 | IMGT   | ATCGACCCTGCCAACGGCAATACT                          | 13   |
| CDR H3 | IMGT   | GTGTACTACTGCGTGTACGGCAGA<br>GGCTCTGCCTGGTTCGCCTTT | 14   |
| CDR L1 | IMGT   | CAGGACATCAGCAACTAC                                | 15   |
| CDR L2 | IMGT   | TACACCAGC                                         | -    |
| CDR L3 | IMGT   | CAGCAGGGCAACACACTGCCTTGGACC                       | 17   |

【表 7】

表 7ーアビシス CDRヌクレオチド配列

| CDR    | アルゴリズム | 配列                                                      | 配列番号 |
|--------|--------|---------------------------------------------------------|------|
| CDR H1 | アビシス   | GACACATATATGCAC                                         | 25   |
| CDR H2 | アビシス   | CGGATCGACCCTGCCAACGGCAA<br>TACTCAATACGACCCCAAGTTCCAGGGC | 26   |
| CDR H3 | アビシス   | TGCGTGTACGGCAGAGGCTCTGCC<br>TGGTTCGCCTTT                | 27   |
| CDR L1 | アビシス   | AGAGCCAGCCAGGACATCAGCAACTA<br>CCTGAAC                   | 28   |
| CDR L2 | アビシス   | TACACCAGCCGGCTGCACAGC                                   | 29   |
| CDR L3 | アビシス   | CAGCAGGGCAACACACTGCCTTGGACC                             | 17   |

10

【表 8】

表 8ーK a b a t CDRヌクレオチド配列

| CDR    | アルゴリズム | 配列                                                      | 配列番号 |
|--------|--------|---------------------------------------------------------|------|
| CDR H1 | Kabat  | GACACATATATGCAC                                         | 25   |
| CDR H2 | Kabat  | CGGATCGACCCTGCCAACGGCAA<br>TACTCAATACGACCCCAAGTTCCAGGGC | 26   |
| CDR H3 | Kabat  | TACTGCGTGTACGGCAGAGGCTCTGCC<br>TGGTTCGCCTTT             | 27   |
| CDR L1 | Kabat  | AGAGCCAGCCAGGACATCAGCAACTA<br>CCTGAA                    | 28   |
| CDR L2 | Kabat  | TACACCAGCCGGCTGCAC                                      | 30   |
| CDR L3 | Kabat  | CAGCAGGGCAACACACTGCCTTGGACC                             | 17   |

20

30

## 【0281】

いくつかの態様では、本明細書では、単離されたポリヌクレオチドが開示され、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片のVHまたは重鎖のいずれかをコードする核酸分子を含む。いくつかの態様では、VHは、配列番号10のポリヌクレオチド配列に対応する配列を含むポリヌクレオチド配列によってコードされる。

## 【0282】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片のVLまたは軽鎖のいずれかをコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチドが開示される。いくつかの態様では、VLは、配列番号11のポリヌクレオチド配列に対応する配列を含むポリヌクレオチド配列によってコードされる。

40

## 【0283】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94に結合することができる抗体またはその抗原結合断片が提供され、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12または配列番号25で表されるポリヌクレオチド配列を含む相補性決定領域(CDR)H1と、配列番号13または配列番号26で表されるポリヌクレオチド配列を含むCDRH2と、配列番号14または配列番号27で表されるポリヌクレオチド配列を含むCDRH3と、配列

50

番号 15 または配列番号 28 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L1 と、ポリヌクレオチド配列 TACACCAGC または配列番号 29 もしくは配列番号 30 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L2 と、配列番号 17 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L3 と、を含む。

【0284】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片が提供され、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 12 で表されるポリヌクレオチド配列を含む相補性決定領域 (CDR) H1 と、配列番号 13 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR H2 と、配列番号 14 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR H3 と、配列番号 15 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L1 と、ポリヌクレオチド配列 TACACCAGC を含む CDR L2 と、配列番号 17 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L3 と、を含む。

10

【0285】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片が提供され、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 25 で表されるポリヌクレオチド配列を含む相補性決定領域 (CDR) H1 と、配列番号 26 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR H2 と、配列番号 27 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR H3 と、配列番号 28 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L1 と、配列番号 29 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L2 と、配列番号 17 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L3 と、を含む。

20

【0286】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片が提供され、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 25 で表されるポリヌクレオチド配列を含む相補性決定領域 (CDR) H1 と、配列番号 26 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR H2 と、配列番号 27 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR H3 と、配列番号 28 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L1 と、配列番号 30 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L2 と、配列番号 17 で表されるポリヌクレオチド配列を含む CDR L3 と、を含む。

【0287】

いくつかの態様では、CD94 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (VH) 及び軽鎖可変領域 (VL) を含む。いくつかの態様では、VH は、配列番号 10 に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、VL は、配列番号 11 に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

30

【0288】

いくつかの態様では、CD94 に結合することができる抗体またはその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (VH) 及び軽鎖可変領域 (VL) を含む。いくつかの態様では、VH は、配列番号 10 に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、VL は、配列番号 11 に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 % の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

40

【0289】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10

50

に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して少なくとも 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 10 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。

10

#### 【0290】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。

20

#### 【0291】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、ポリヌクレオチド配列配列番号 10 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V H を含む。

30

#### 【0292】

いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。いくつかの態様では、抗体または抗原結合断片は、配列番号 11 のポリヌクレオチド配列に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む V L を含む。

40

#### 【0293】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体 (CAR) のいずれかをコードする核酸分子を含む、単離されたポリヌクレオチドが開示される。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 18 のポリヌクレオチド配列に対応する配列に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 18 のポリヌクレオチド配列に対応する配列に対して少なくとも 85%、少なくとも 90%

50

、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 18 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

【0294】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 58 のポリヌクレオチド配列に対応する配列に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 58 のポリヌクレオチド配列に対応する配列に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 58 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

【0295】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 59 のポリヌクレオチド配列に対応する配列に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 59 のポリヌクレオチド配列に対応する配列に対して少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 91 %、少なくとも 92 %、少なくとも 93 %、少なくとも 94 %、少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、少なくとも 99 %、または 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、配列番号 59 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

【0296】

いくつかの態様では、キメラ抗原受容体は、N末端からC末端に、(a) CD94に結合することができる scFvドメインを含む細胞外リガンド結合ドメインと、(b) ヒンジと、(c) 膜貫通ドメインと、(d) 共刺激ドメイン及びシグナル伝達ドメインを含む細胞質ドメインと、を含む。いくつかの態様では、シグナルペプチドは、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドを含む。いくつかの態様では、scFvは、リンカーを含む。いくつかの態様では、ヒンジは、CD8 $\alpha$ ヒンジドメインを含む。いくつかの態様では、膜貫通ドメインはCD8 $\alpha$ の膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様では、共刺激ドメインは、4-1BB共刺激ドメインを含む。いくつかの態様では、シグナル伝達ドメインは、CD3 $\zeta$ etaシグナル伝達ドメインを含む。

【0297】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 に対して約 85 %、約 90 %、約 91 %、約 92 %、約 93 %、約 94 %、約 95 %、約 96 %、約 97 %、約 98 %、約 99 %、または約 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 に対して少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、少なくとも約 99 %、または 100 %の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【0298】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85 %同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 のポリヌクレオチド配列に対して少なくと

も 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、配列番号 39 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0299】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、ポリヌクレオチド配列配列番号 39 に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、ポリヌクレオチド配列配列番号 39 に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、ポリヌクレオチド配列配列番号 39 に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、ポリヌクレオチド配列配列番号 39 に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$ シグナルペプチドは、ポリヌクレオチド配列配列番号 39 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0300】

いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0301】

いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、配列番号 40 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0302】

いくつかの態様では、scFv は、ポリヌクレオチド配列配列番号 40 に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、ポリヌクレオチド配列配列番号 40 に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、ポリヌクレオチド配列配列番号 40 に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、ポリヌクレオチド配列配列番号 40 に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、scFv は、ポリヌクレオチド配列配列番号 40 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0303】

いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99

10

20

30

40

50

%、または約 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0304】

いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、配列番号 41 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

10

#### 【0305】

いくつかの態様では、リンカーは、ポリヌクレオチド配列配列番号 41 に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、ポリヌクレオチド配列配列番号 41 に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、ポリヌクレオチド配列配列番号 41 に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、ポリヌクレオチド配列配列番号 41 に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、リンカーは、ポリヌクレオチド配列配列番号 41 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。

20

#### 【0306】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

30

#### 【0307】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、配列番号 42 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

40

#### 【0308】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 42 に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒ

50

ンジドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 42 に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 42 に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 42 に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  ヒンジドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 42 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。

#### 【0309】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

10

#### 【0310】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、配列番号 43 のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

20

#### 【0311】

いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 43 に対して約 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 43 に対して約 90% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 43 に対して約 95% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 43 に対して約 98% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD8 $\alpha$  膜貫通ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号 43 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。

30

#### 【0312】

いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 44 に対して約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%、または約 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 44 に対して少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 91%、少なくとも約 92%、少なくとも約 93%、少なくとも約 94%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

40

#### 【0313】

いくつかの態様では、4-1BB 共刺激ドメインは、配列番号 44 のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも 85% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では

50

、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号44のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも90%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号44のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも95%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号44のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも98%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号44のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも99%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、配列番号44のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

【0314】

10

いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号44に対して約85%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号44に対して約90%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号44に対して約95%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号44に対して約98%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、4-1BB共刺激ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号44に対して約99%同一のポリヌクレオチド配列を含む。

【0315】

20

いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45に対して約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45に対して少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を含む。

【0316】

いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも85%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも90%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも95%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも98%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45のポリヌクレオチド配列に対して少なくとも99%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、配列番号45のポリヌクレオチド配列に対応するポリヌクレオチド配列を含む。

30

40

【0317】

いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号45に対して約85%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号45に対して約90%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号45に対して約95%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、ポリヌクレオチド配列配列番号45に対して約98%同一のポリヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、CD3zetasigナル伝達ドメインは、ポリヌクレオチド配列

50

配列番号 45 に対して約 99% 同一のポリヌクレオチド配列を含む。

【0318】

重鎖可変ドメインまたは重鎖をコードする核酸及び軽鎖可変ドメインまたは軽鎖をコードする核酸は、同じポリヌクレオチド内または異なるポリヌクレオチド内にあり得る。重鎖可変ドメインまたは重鎖をコードする核酸及び軽鎖可変ドメインまたは軽鎖をコードする核酸は、同じベクター内または異なるベクター内にあり得る。

【0319】

また、本明細書では、例えば、コドン／RNA最適化、異種シグナル配列による置き換え、及びmRNA不安定性要素の排除によって最適化される、本明細書に開示される抗CD94抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメインをコードするポリヌクレオチドも提供される。コドン変化（例えば、遺伝子コードの縮重により同じアミノ酸をコードするコドン変化）を導入し、及び／またはmRNAにおける阻害領域を排除することによる、組換え発現のための抗CD94抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメイン（例えば、重鎖、軽鎖、VHドメイン、またはVLドメイン）をコードする最適化核酸を生成する方法は、例えば、米国特許第5,965,726号、同第6,174,666号、同第6,291,664号、同第6,414,132号、及び同第6,794,498号に開示される最適化方法を適合させることによって実施することができる。

【0320】

本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメインをコードするポリヌクレオチドは、当該技術分野で周知の方法（例えば、PCR及び他の分子クローニング法）を使用して、好適な供給源（例えば、ハイブリドーマ）からの核酸から生成することができる。例えば、既知の配列の3'及び5'末端にハイブリダイゼーション可能な合成プライマーを使用するPCR増幅は、目的の抗体を産生するハイブリドーマ細胞から得られたゲノムDNAを使用して行うことができる。そのようなPCR増幅法は、抗体またはその抗原結合断片の軽鎖及び／または重鎖をコードする配列を含む核酸を得るために使用され得る。そのようなPCR増幅法は、抗体またはその抗原結合断片の可変軽鎖領域及び／または可変重鎖領域をコードする配列を含む核酸を得るために使用され得る。増幅された核酸は、宿主細胞内での発現のために、及びさらなるクローニングのためにベクターにクローニングし、例えば、キメラ及びヒト化抗体またはその抗原結合断片を生成することができる。

【0321】

本明細書で提供するポリヌクレオチドは、例えば、RNAの形態またはDNAの形態であり得る。DNAとしては、cDNA、ゲノムDNA、及び合成DNAが挙げられ、DNAは二本鎖または一本鎖であり得る。一本鎖の場合、DNAは、コード鎖または非コード（アンチセンス）鎖であり得る。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、1つ以上の内因性イントロンを欠くcDNAまたはDNAである。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、天然に存在しないポリヌクレオチドである。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、換え産生される。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、単離される。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、実質的に純粋である。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、天然構成成分から精製される。

【0322】

b. 細胞及びベクター

いくつかの態様では、本明細書では、宿主細胞、好ましくは哺乳類細胞内での組換え発現のための、抗CD94抗体及びその抗原結合断片またはそのドメインをコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを含む、ベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。また、本明細書では、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片を組換え発現するためのそのようなベクターを含む、細胞、例えば、宿主細胞が提供される。いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片を産生するための方法であって、宿主細胞内でそのような抗体またはその抗原結合断片を発現させることを含む、方法が提供される。

## 【0323】

いくつかの態様では、CD94（例えば、ヒトCD94）に特異的に結合する本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメイン（例えば、本明細書に開示される重鎖もしくは軽鎖）の組換え発現は、抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメインをコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を伴う。本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメイン（例えば、重鎖もしくは軽鎖可変ドメイン）をコードするポリヌクレオチドが得られると、抗体またはその抗原結合断片の産生のためのベクターは、当該技術分野で周知の技術を使用する組換えDNA技術によって産生され得る。したがって、抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメイン（例えば、軽鎖もしくは重鎖）をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドを発現させることによる、タンパク質を調製するための方法が本明細書に開示される。当業者に周知である方法が、抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのドメイン（例えば、軽鎖もしくは重鎖）コード配列、ならびに適切な転写及び翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターを構築するために使用され得る。これらの方法としては、例えば、インビトロ組換えDNA技術、合成技術、及びインビボ遺伝子組換えが挙げられる。また、プロモーターに作動可能に連結された、本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片をコードするヌクレオチド配列、重鎖もしくは軽鎖、重鎖もしくは軽鎖可変ドメイン、または重鎖もしくは軽鎖CDRを含む複製可能なベクターも提供される。そのようなベクターは、例えば、抗体またはその抗原結合断片の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含み得（例えば、国際公開第WO86/05807号及び同第WO89/01036号、ならびに米国特許第5,122,464号を参照されたい）、抗体またはその抗原結合断片の可変ドメインは、重鎖全体、軽鎖全体、または重鎖及び軽鎖全体の両方の発現のためにそのようなベクターにクローニングすることができる。

10

20

## 【0324】

発現ベクターは、従来の技術によって細胞（例えば、宿主細胞）に移すことができ、次いで、得られた細胞を、従来の技術によって培養して、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片、例えば、本明細書に開示される抗CD94抗体のいずれかを含む抗体またはその抗原結合断片を産生することができる。

## 【0325】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドのいずれかを含む単離されたベクターが開示される。

30

## 【0326】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるポリヌクレオチドのいずれかを含む宿主細胞が提供される。

## 【0327】

いくつかの態様では、宿主細胞は、CHO、HEK-293T、HeLa、及びBHK細胞からなる群から選択される。いくつかの態様では、CHO細胞は、CHO-K1SP細胞である。

## 【0328】

いくつかの態様では、本明細書では、CD94に結合することができる抗体またはその抗原結合断片を産生する方法が開示され、本方法は、（a）抗体またはその抗原結合断片の発現を可能にする条件下で、細胞培養物中で本明細書に開示される宿主細胞のいずれかを培養することと、（b）抗体またはその抗原結合断片を該細胞培養物から回収することと、を含む。いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される産生方法のいずれかによって得ることができる、抗体またはその抗原結合断片が開示される。

40

## 【0329】

いくつかの態様では、二本鎖抗体またはその抗原結合断片の発現のために、以下に詳述されるように、重鎖及び軽鎖の両方を個々にコードするベクターが、免疫グロブリン全体の発現のために宿主細胞内で共発現され得る。いくつかの態様では、宿主細胞は、本明細書に開示される抗体またはそのドメインの重鎖及び軽鎖の両方をコードするポリヌクレオ

50

チドを含むベクターを含有する。いくつかの態様では、宿主細胞は、2つの異なるベクター、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片の重鎖または重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第1のベクターと、本明細書に開示される抗体またはそのドメインの軽鎖または軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第2のベクターと、を含有する。いくつかの態様では、第1の宿主細胞は、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片の重鎖または重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第1のベクターを含み、第2の宿主細胞は、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片の軽鎖または軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第2のベクターを含む。いくつかの態様では、第1の細胞によって発現した重鎖／重鎖可変領域は、第2の細胞の軽鎖／軽鎖可変領域と会合して、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片を形成する。いくつかの態様では、本明細書では、そのような第1の宿主細胞及びそのような第2の宿主細胞を含む宿主細胞の集団が提供される。

10

#### 【0330】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片の軽鎖／軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第1のベクターと、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片の重鎖／重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを含む第2のベクターと、を含む、ベクターの集団が提供される。あるいは、重鎖ポリペプチド及び軽鎖ポリペプチドの両方をコードし、発現することができる単一のベクターを使用することができる。

#### 【0331】

種々の宿主発現ベクター系が、本明細書に開示される抗体及びその抗原結合断片を発現するために利用され得る（例えば、米国特許第5,807,715号を参照されたい）。そのような宿主発現系は、目的のコード配列を産生し、その後精製することができるビヒクルを表すが、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換またはトランスフェクトされた場合に、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片をインサイチュで発現することができる細胞も表す。これらとしては、これらに限定されないが、微生物、例えば、抗体コード配列を含有する、組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌（例えば、*E. coli*及び*B. subtilis*）；抗体コード配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、*Saccharomyces Pichia*）；抗体コード配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）に感染するか、または抗体コード配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞系（例えば、*Chlamydomonas reinhardtii*などの緑藻類）；あるいは哺乳類細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）または哺乳類ウイルスに由来するプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）を含有する組換え発現構築物を保有する哺乳類細胞系（例えば、COS（例えば、COS1またはCOS）、CHO、BHK、MDCK、HEK 293、NS0、PER.C6、VERO、CRL7030、HsS78Bst、HeLa、及びNIH 3T3、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、ならびにBMT10細胞）が挙げられる。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体及びその抗原結合断片を発現するための細胞は、CHO細胞、例えば、CHO GS System（商標）（Lonza）からのCHO細胞である。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体を発現するための細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒト細胞株である。いくつかの態様では、哺乳類発現ベクターは、pOptiVEC（商標）またはpcDNA3.3である。いくつかの態様では、*Escherichia coli*などの細菌細胞、または真核細胞（例えば、哺乳類細胞）が、特に全組換え抗体分子を発現させるために、組換え抗体分子の発現に使用される。例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞などの哺乳類細胞は

20

30

40

50

、ヒトサイトメガロウイルスからの主要中間初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターと併せて、抗体のための有効な発現系である (Foecking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45:101-105、及びCockett MI et al., (1990) Biotechnology 8:662-667)。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、CHO細胞またはNS0細胞によって産生される。

#### 【0332】

加えて、挿入された配列の発現を調節するか、または所望の特定の様式で遺伝子産物を修飾及び処理する宿主細胞株が選択され得る。タンパク質産物のそのような修飾（例えば、グリコシル化）及びプロセッシング（例えば、切断）は、タンパク質の機能に寄与することができる。このため、一次転写物の適切なプロセッシング、遺伝子産物のグリコシル化、及びリン酸化のための細胞機構を保有する真核宿主細胞が使用され得る。そのような哺乳類宿主細胞としては、これらに限定されないが、CHO、VERO、BHK、HeLa、MDCK、HEK 293、NIH 3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、及びT47D、NS0（任意の免疫グロブリン鎖を内因的に産生しないマウス骨髄腫細胞株）、CRL7030、COS（例えば、COS1またはCOS）、PER.C6、VERO、HsS78Bst、HEK-293T、HepG2、SP210、R1.1、B-W、L-M、BSC1、BSC40、YB/20、BMT10、ならびにHsS78Bst細胞が挙げられる。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗CD94抗体は、哺乳類細胞、例えば、CHO細胞、例えば、CHO-K1細胞において産生される。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗CD94抗体は、哺乳類細胞、例えば、HEK-293細胞において産生される。

#### 【0333】

いくつかの態様では、シグナルペプチドは、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片のVH及び／またはVL、または重鎖及び／または軽鎖を含有するベクターを構築する際に使用される。

#### 【0334】

本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片が組換え発現によって産生されると、それは、免疫グロブリン分子の精製のための当該技術分野で既知の任意の方法によって、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、特にタンパク質Aの後の特異的抗原に対する親和性による、及びサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、示差溶解度によって、またはタンパク質の精製のための任意の他の標準的な技術によって精製され得る。さらに、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、精製を容易にするために、本明細書に開示されるか、またはさもなければ、当該技術分野で既知の異種ポリペプチド配列に融合され得る。

#### 【0335】

いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片は、単離または精製される。一般に、単離された抗体またはその抗原結合断片は、単離された抗体またはその抗原結合断片とは異なる抗原特異性を有する他の抗体またはその抗原結合断片を実質的に含まないものである。例えば、いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片の調製物は、細胞物質及び／または化学前駆物質を実質的に含まない。

#### 【0336】

いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片、または本明細書に開示されるCARをコードする核酸は、ウイルスベクターにおいて提供される。いくつかの態様では、ウイルスベクターは、レトロウイルス、レンチウイルス、または泡沫状ウイルスである。

#### 【0337】

いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片、または本明細書に開示されるCARのためのコード配列を含有するウイルスベクターは、レトロウ

イルスベクターまたはレンチウイルスベクターである。用語「レトロウイルスベクター」とは、主にレトロウイルスに由来する構造的及び機能的遺伝子要素を含有するベクターを指す。用語「レンチウイルスベクター」とは、主にレンチウイルスに由来する、LTRの外側の構造的及び機能的遺伝子要素を含有するベクターを指す。

#### 【0338】

本明細書で使用するためのレトロウイルスベクターは、任意の既知のレトロウイルス（例えば、C型レトロウイルス、例えば、Moloneyマウス肉腫ウイルス（MoMSV）、Harveyマウス肉腫ウイルス（HaMuSV）、マウス乳房腫瘍ウイルス（MuMTV）、テナガザル白血病ウイルス（GaLV）、ネコ白血病ウイルス（FLV）、スプーマウイルス、Friend、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）、及びラウス肉腫ウイルス（RSV））に由来し得る。本開示の「レトロウイルス」はまた、ヒトT細胞白血病ウイルス、HTLV-1及びHTLV-2、ならびにヒト免疫不全ウイルス、HIV-1、HIV-2、サル免疫不全ウイルス（SIV）、ネコ免疫不全ウイルス（FIV）、ウマ免疫不全ウイルス（EIV）、ならびに他のクラスのレトロウイルスなどのレトロウイルスのレンチウイルスファミリーを含む。

#### 【0339】

本明細書で使用するためのレンチウイルスベクターとは、ゆっくりと発症する疾患を生じるレトロウイルスの群（または属）であるレンチウイルスに由来するベクターを指す。この群内に含まれるウイルスは、HIV（HIV 1型及びHIV 2型を含むヒト免疫不全ウイルス）、ビスナーマエディ、ヤギ関節炎脳炎ウイルス、ウマ感染性貧血ウイルス、ネコ免疫不全ウイルス（FIV）、ウシ免疫不全ウイルス（BIV）、ならびにサル免疫不全ウイルス（SIV）を含む。組換えレンチウイルスの調製は、Dull et al. 及び Zufferey et al. (Dull et al., J. Virol., 1998; 72: 8463-8471 及び Zufferey et al., J. Virol., 1998; 72: 9873-9880) に従う方法を使用して達成することができる。

#### 【0340】

本開示における使用のためのレトロウイルスベクター（すなわち、レンチウイルス及び非レンチウイルスの両方）は、本明細書に開示される順序及び方向で所望のDNA配列を組み合わせることによって、標準的なクローニング技術を使用して形成することができる (Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, F. M. et al. (eds.) Greene Publishing Associates, (1989), Sections 9.10-9.14、及び他の標準的な実験室マニュアル、Eglitis, et al. (1985) Science 230: 1395-1398、Danos and Mulligan (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 6460-6464、Wilson et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 3014-3018、Armentano et al. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 6141-6145、Huber et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 8039-8043、Ferry et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 8377-8381、Chowdhury et al. (1991) Science 254: 1802-1805、van Beusechem et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 7640-7644、Kay et al. (1992) Human Gene Therapy 3: 641-647、Dai et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10892-10895、Hwu et al. (1993) J. Immunol 150: 4104-4115、米国特許第4,868,116号、同第4,980,286号、PCT出願第WO89/07136号、PCT出願第WO89/02468号、PCT出願第WO89/05345号、ならびにPCT出願第WO9

2 / 0 7 5 7 3 号)。

【0341】

ベクターを形成するために使用するためのレトロウイルス（すなわち、レンチウイルス及び非レンチウイルスの両方）配列を得るために好適な供給源としては、例えば、Type Culture Collection (ATCC)、Rockville, Mdを含む市販の供給源から入手可能なゲノムRNA及びcDNAが挙げられる。配列はまた、化学的に合成され得る。

【0342】

V. 医薬組成物

本明細書では、本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体 (CAR)、または生理学的に許容される担体、賦形剤、もしくは安定剤において所望の程度の純度を有する本明細書に開示される操作されたT細胞を含む組成物が提供される (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA)。許容される担体、賦形剤、または安定剤は、用いる投薬量及び濃度でレシピエントに対して無毒である。

【0343】

様々な態様では、抗CD94抗体もしくはその抗原結合断片、抗CD94キメラ抗原受容体、またはCD94を標的とする操作されたT細胞を含む組成物は、薬学的に許容される担体を有する組成物において提供される（例えば、Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drug Facts Plus, 20th ed. (2003)、Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004)、Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000)を参照されたい)。

【0344】

本明細書に開示される医薬組成物は、一態様では、医薬として使用するためのものである。本明細書に開示される医薬組成物は、一態様では、例えば、患者（例えば、ヒト患者）から得られた試料中のCD94の存在を検出するための診断として使用するのためのものである。

【0345】

インビボでの投与に使用される組成物は、滅菌され得る。これは、例えば、滅菌濾過膜を通す濾過によって容易に達成される。

【0346】

いくつかの態様では、医薬組成物が提供され、医薬組成物は、本明細書に開示される抗CD94抗体もしくはその抗原結合断片、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体、または本明細書に開示される操作されたT細胞及び薬学的に許容される担体を含む。

【0347】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のいずれかを含む医薬組成物が開示される。

【0348】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体のいずれかを含む医薬組成物が開示される。

【0349】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれかを含む医薬組成物が開示される。いくつかの態様では、操作されたT細胞は、CAR-T細胞である。

## 【0350】

いくつかの態様では、本明細書では、本明細書に開示されるベクターのいずれかを含む医薬組成物が開示される。

## 【0351】

いくつかの態様では、医薬組成物は、薬学的に許容される賦形剤をさらに含む。

## 【0352】

## V I . 使用方法

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が提供され、本方法は、個体に対して、抗CD94抗体もしくはその抗原結合部分、キメラ抗原受容体（CAR）、操作されたT細胞、または本明細書に提供されるものと同じものを含む組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

10

## 【0353】

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

## 【0354】

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれかを治療有効量で投与することを含む。いくつかの態様では、本方法は、個体に対して、CARナチュラルキラー細胞、CARマクロファージ、またはCARナチュラルキラーT細胞を治療有効量で投与することを含む。いくつかの態様では、本方法は、個体に対して、操作された免疫細胞を治療有効量で投与することを含む。いくつかの態様では、操作された免疫細胞は、本明細書に開示されるキメラ抗原受容体のいずれかを含む。いくつかの態様では、操作された免疫細胞は、マクロファージである。いくつかの態様では、操作された免疫細胞は、単球である。

20

## 【0355】

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示されるベクターのいずれかを治療有効量で投与することを含む。

## 【0356】

いくつかの態様では、本明細書では、個体におけるがんを治療する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書で提供される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

30

## 【0357】

いくつかの態様では、がんは、白血病である。

## 【0358】

いくつかの態様では、白血病は、T細胞白血病、T細胞大顆粒白血病、ナチュラルキラー細胞大顆粒白血病、またはナチュラルキラー細胞白血病である。

## 【0359】

いくつかの態様では、がんは、リンパ腫である。

40

## 【0360】

いくつかの態様では、リンパ腫は、T細胞リンパ腫、節外ナチュラルキラー／T細胞リンパ腫、肝脾T細胞リンパ腫、血管免疫芽細胞性T細胞、または未分化大細胞型リンパ腫である。

## 【0361】

いくつかの態様では、がんは、CD94発現癌である。

## 【0362】

いくつかの態様では、がんは、肺癌、膀胱癌、または黒色腫である。

## 【0363】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植の移植片拒絶反応を治療または

50

予防する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0364】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植片の移植片拒絶反応を治療または予防する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に提供されるキメラ抗原受容体のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0365】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植の移植片拒絶反応を治療または予防する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

10

【0366】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植の移植片拒絶反応を治療または予防する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示されるベクターのいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0367】

いくつかの態様では、本明細書では、患者における移植の移植片拒絶反応を治療または予防する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書で提供される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0368】

いくつかの態様では、移植は、同種移植である。

20

【0369】

いくつかの態様では、移植は、臓器移植である。

【0370】

いくつかの態様では、移植は、造血細胞移植である。

【0371】

いくつかの態様では、移植は、誘導多能性細胞療法である。

【0372】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

30

【0373】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書で提供されるキメラ抗原受容体のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0374】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0375】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書に開示されるベクターのいずれかを治療有効量で投与することを含む。

40

【0376】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が提供され、本方法は、個体に対して、本明細書で提供される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0377】

いくつかの態様では、免疫応答が増強される。

【0378】

いくつかの態様では、免疫応答は、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞によって

50

媒介される。いくつかの態様では、本明細書に開示される抗体もしくはその抗原結合断片または組成物は、非経口、皮下、静脈内、皮内、経皮、くも膜下腔内、及び鼻腔内などの種々の経路によって対象に送達され得る。いくつかの態様では、抗体もしくはその抗原結合断片または組成物は、腹腔内経路によって投与される。

【0379】

状態の治療または予防に有効であろう抗体もしくはその抗原結合断片または組成物の量は、疾患の性質に依存するであろう。組成物に用いられる正確な用量はまた、投与経路、及び疾患の重症度にも依存するであろう。

【0380】

いくつかの態様では、本明細書では、対象における免疫応答を調節する方法が記載され、本方法は、個体に対して、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合断片のいずれか、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体のいずれか、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれか、または本明細書に開示される医薬組成物のいずれかを治療有効量で投与することを含む。

【0381】

いくつかの態様では、免疫応答が増強される。

【0382】

いくつかの態様では、免疫応答は、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞によって媒介される。いくつかの態様では、ナチュラルキラー細胞及び／またはT細胞は、自己免疫疾患の免疫応答を媒介する。いくつかの態様では、自己免疫疾患は、全身性自己免疫疾患である。いくつかの態様では、全身性自己免疫疾患は、全身性エリテマトーデス（SLE）、シェーグレン症候群、全身性硬化症、関節リウマチ（RA）、多発性硬化症、1型真性糖尿病（T1DM）、または自己免疫性肝疾患（ALD）である。

【0383】

本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片は、イムノアッセイ、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、蛍光活性化細胞選別（FACS）、免疫組織化学（IHC）、免疫沈降、及びウエスタンブロット法を含む、当業者に既知の古典的な方法を使用して、生体試料中のCD94タンパク質レベルまたはCD94+細胞をアッセイするために使用され得る。好適な抗体アッセイ標識は、当該技術分野で既知であり、グルコースオキシダーゼなどの酵素標識、ヨウ素（ $^{125}\text{I}$ 、 $^{121}\text{I}$ ）、炭素（ $^{14}\text{C}$ ）、硫黄（ $^{35}\text{S}$ ）、トリチウム（ $^3\text{H}$ ）、インジウム（ $^{121}\text{In}$ ）、及びテクネチウム（ $^{99}\text{Tc}$ ）などの放射性同位体、ルミノールなどの発光標識、ならびにフルオレセイン及びローダミン、ならびにビオチンなどの蛍光標識を含む。そのような標識は、本明細書に開示される抗体またはその抗原結合断片を標識するために使用され得る。あるいは、本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片を認識する第2の抗体またはその抗原結合断片は、標識され、抗CD94抗体またはその抗原結合断片と組み合わせて使用されて、CD94タンパク質レベル（例えば、可溶性CD94タンパク質レベル）を検出することができる。

【0384】

本明細書で使用される場合、用語「生体試料」とは、CD94を潜在的に発現する、対象、細胞株、組織、または他の細胞源から得られた任意の生体試料を指す。動物（例えば、ヒト）から組織生検及び体液を得るための方法は、当該技術分野で周知である。生体試料はまた、血液試料であり得る。

【0385】

本明細書に開示される抗CD94抗体及びその抗原結合断片は、検出可能または機能的標識を担持することができる。

【0386】

本明細書で使用され得る検出可能な部分の例としては、これらに限定されないが、放射性同位体、リン光化学物質、化学発光化学物質、蛍光化学物質、酵素、蛍光ポリペプチド、及びエピトープタグが挙げられる。検出可能な部分は、結合対の追加のメンバーとのそ

10

20

30

40

50

の相互作用を介して特定可能である結合対のメンバー、及び直接視覚化される標識であり得る。

#### 【0387】

蛍光標識を使用する場合、現在利用可能な顕微鏡検査及び蛍光活性化細胞選別機分析（FACS）、または当該技術分野で既知の両方の方法手順の組み合わせが、特異的結合メンバーを特定及び定量するために利用され得る。本明細書に開示される抗CD94抗体またはその抗原結合断片は、蛍光標識を担持することができる。例示的な蛍光標識としては、例えば、反応性及びコンジュゲートプローブ、例えば、アミノクマリン、フルオレセイン及びテキサスレッド、Alexa Fluor染料、Cy染料、ならびにDyLight染料が挙げられる。抗CD94抗体は、放射性標識、例えば、同位体<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>36</sup>Cl、<sup>51</sup>Cr、<sup>57</sup>Co、<sup>58</sup>Co、<sup>59</sup>Fe、<sup>67</sup>Cu、<sup>90</sup>Y、<sup>99</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>117</sup>Lu、<sup>121</sup>I、<sup>124</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>198</sup>Au、<sup>211</sup>At、<sup>213</sup>Bi、<sup>225</sup>Ac、及び<sup>186</sup>Reを担持することができる。放射性標識を使用する場合、当該技術分野で既知の現在利用可能な計数手順が、抗CD94抗体または抗原結合断片のCD94（例えば、ヒトCD94）への特異的結合を特定及び定量するために利用され得る。標識が酵素である場合、検出は、当該技術分野で既知の、現在利用されている比色、分光光度、蛍光分光光度、電流測定、または気体定量技術のいずれかによって達成され得る。これは、抗体またはその抗原結合断片とCD94との間の複合体の形成を可能にする条件下で、試料または対照試料を抗CD94抗体またはその抗原結合断片と接触させることによって達成することができる。抗体またはその抗原結合断片とCD94との間に形成される任意の複合体が、試料及び対照において検出及び比較される。

10

20

#### 【0388】

いくつかの態様では、本明細書では、試料中のCD94をインビトロで検出するための方法であって、該試料を抗体またはその抗原結合断片と接触させることと、任意選択的に、抗体またはその抗原結合断片のCD94への結合を検出することと、を含む、方法が提供される。いくつかの態様では、本明細書では、試料中のCD94をインビトロで検出するための、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。一態様では、本明細書では、対象または対象から得られた試料中のCD94（例えば、可溶性CD94）の検出における使用のための、本明細書で提供される抗体もしくはその抗原結合断片または医薬組成物が提供される。

30

#### 【0389】

いくつかの態様では、対象は、哺乳類である。いくつかの態様では、哺乳類は、ヒト、マウス、ハムスター、ウサギ、非ヒト霊長類、モルモット、ラット、ゼブラフィッシュ、ブタ、ヒツジ、ネコ、またはイヌからなる群から選択される。いくつかの態様では、対象は、ヒトである。

#### 【0390】

#### VII. キット

本明細書では、本明細書に開示される1つ以上の抗体もしくはその抗原結合断片、またはそのコンジュゲート（例えば、検出コンジュゲート）を含むキットが提供される。

#### 【0391】

いくつかの態様では、キットは、本明細書で提供されるキメラ抗原受容体のうちの1つ以上を含む。

40

#### 【0392】

いくつかの態様では、キットは、本明細書に開示される操作されたT細胞のいずれかのうちの1つ以上を含む。

#### 【0393】

いくつかの態様では、キットは、本明細書に開示されるベクターのいずれかのうちの1つ以上を含む。

#### 【0394】

いくつかの態様では、キットは、本明細書で提供される医薬組成物のいずれかのうちの

50

1つ以上を含む。

【0395】

いくつかの態様では、キットは、使用のための指示書をさらに含む。

【0396】

いくつかの態様では、キットは、治療を必要とする対象を治療するために使用される。

【0397】

したがって、いくつかの態様では、キットは、好適な容器手段に、本発明の細胞、タンパク質、もしくは核酸構築物、または関連する試薬を含む。いくつかの態様では、個体から試料を採取する手段及び／または試料をアッセイする手段は、キットにおいて提供されてもよい。いくつかの態様では、キットは、例えば、細胞、緩衝液、細胞培地、ベクター、プライマー、制限酵素、塩などを含む。

10

【0398】

キットの構成要素は、水性媒体または凍結乾燥形態のいずれかでパッケージングされてもよい。キットの容器手段は、一般に、少なくとも1つのバイアル、試験管、フラスコ、ボトル、注射器、または他の容器手段を含み、構成要素が、その中に配置されてもよく、好ましくは、好適には、アリコートされてもよい。キットに2つ以上の構成要素がある場合、キットには、一般に、追加の構成要素を別々に配置することができる第2の、第3の、または他の追加の容器も含まれる。しかしながら、構成要素の様々な組み合わせがバイアルに含まれてもよい。そのような容器としては、所望のバイアルが保持される射出成形またはブロー成形プラスチック容器が挙げられ得る。

20

【0399】

キットの構成要素を1つ及び／または複数の液体溶液において提供する場合、液体溶液は水溶液であり、滅菌水溶液が特に好ましい。組成物はまた、注射可能な組成物に製剤化してもよい。その場合、容器手段自体が注射器、ピペット、及び／または他の同様の装置であってもよく、そこから製剤を身体の感染領域に適用し、動物に注射し、及び／またはさらにキットの他の構成要素に適用及び／またはそれと混合してもよい。しかしながら、キットの構成要素は、乾燥粉末（複数可）として提供されてもよい。試薬及び／または構成要素を乾燥粉末として提供する場合、粉末は、好適な溶媒の添加によって再構成される。溶媒はまた、別の容器手段において提供されてもよいことが想定される。

【実施例】

30

【0400】

実施例1．抗CD94モノクローナル抗体の特異性の分析

抗CD94モノクローナル抗体を、NK細胞またはT細胞リンパ球増殖性障害を治療するように設計した。

【0401】

最初に、CD94転写物の発現を正常組織において評価した。21の正常なヒト組織からのRNAを含むHuman Total RNA Survey Panelを、Applied Biosystems、Foster City, CAから入手した。各供給源からの約10µgの総RNAを、Superscript IIIキット（Invitrogen）を用いてcDNAに逆転写した。以下の条件を使用して、CD94及びβ-アクチンプライマーを用いて定量的PCRを行った。Applied Biosystems StepOne（商標）／StepOnePlus（商標）リアルタイムPCRシステム上で、40サイクルに対して、2分間50℃、10分間94℃、続いて15秒間94℃、及び60秒間60℃。β-アクチンmRNAに対するCD94 mRNAの発現を各試料において計算した（図1A）。

40

【0402】

高レベルのCD94 mRNAが、リンパ系臓器、リンパ節、脾臓、及びNK細胞において検出された（図1A）。低レベルのCD94 mRNAが、少量のリンパ系組織を含むことが既知である肺及び小腸において検出された。

【0403】

50

公的に利用可能な遺伝子発現プロファイリングデータベース、BioGPS (<http://biogps.org>) を使用して、高密度オリゴヌクレオチドアレイによって、79の正常なヒト組織及びリンパ系組織サブタイプにおけるCD94 mRNA発現を分析した。分析により、CD94転写物は末梢血NK細胞で高度に発現したが、CD8 T細胞では低レベルが観察されたことが決定された。CD94 mRNAは、他の正常組織では発現しなかった(図1B)。

#### 【0404】

次に、抗ヒトCD94モノクローナル抗体(「UT-CD94」)を生成した。ヒトCD94をL細胞(マウス線維芽細胞細胞株)に安定的にトランスフェクトし、CD94発現L細胞を使用してBALB/cマウスを免疫化した。免疫化マウスから脾細胞を単離し、マウス骨髄腫細胞とハイブリダイゼーションして、ハイブリドーマ技術によりヒトCD94を標的とするモノクローナル抗体を誘導した(図2)。

#### 【0405】

次いで、UT-CD94モノクローナル抗体の特異性をフローサイトメトリーによって試験した。UT-CD94モノクローナル抗体をAF647と蛍光色素コンジュゲートし、NK細胞リンパ腫及び白血病細胞株ならびに正常なドナー末梢血単核細胞(PBMC)を染色するために使用した。CD3、CD20、CD14、及びCD56に対する抗体も、細胞を染色するために使用した。UT-CD94モノクローナル抗体は、ヒトCD94発現L細胞及びヒト末梢血NK細胞を特異的に染色したが(図3A)、親L細胞、ヒトB細胞、T細胞、または単球を染色しなかった(図3B)。UT-CD94モノクローナル抗体はまた、NKリンパ腫及び白血病細胞株(NK-92、NKL、KHYG-1)に結合したが、B細胞リンパ腫細胞株(SP53、Daudi、及びJeko-1)に結合しなかった(図3C)。フローサイトメトリー分析は、UT-CD94モノクローナル抗体が、CD94発現細胞に対して特異性を有していたことを実証した。

#### 【0406】

### 実施例2. CD94特異的CAR-T細胞の細胞傷害性の分析

実施例1のUT-CD94モノクローナル抗体のVH及びVL配列を使用して、抗CD94キメラ抗原受容体(CAR)を生成した。UT-CD94モノクローナル抗体のVH及びVL配列を一本鎖可変断片(scFv)に変換し、CD8αヒンジ、CD8α膜貫通ドメイン、4-1BBシグナル伝達ドメイン、及びCD3ζetaシグナル伝達ドメインを使用して、抗CD94 CAR(「UT-CD94-CAR」)を生成した(図4A)。CAR配列全体をレンチウイルスベクター(pLVMG)に組み込んだ。CARアミノ酸及びヌクレオチド配列のCDRは、上記の表1~3(アミノ酸配列)及び表4~6(ヌクレオチド配列)に示される。

#### 【0407】

正常なドナーT細胞をバフィーコートから精製し、IL-2の存在下で抗CD3、抗CD28、及び抗CD2抗体で2~3日間活性化し、次いで、UT-CD94-CARを含有するレンチウイルスで形質導入した。形質導入効率を、Hisタグ付きCD94細胞外ドメインタンパク質(ACROBiosystems、USA)で染色し、続いて抗His AF647コンジュゲート抗体でフローサイトメトリー分析することによって評価した。CD94細胞外ドメインタンパク質染色を使用するUT-CD94-CARの表面発現についてのフローサイトメトリー分析は、72時間後に高い形質導入効率を明らかにした(図4B)。

#### 【0408】

次に、UT-CD94-CAR T細胞の細胞傷害性を、NK-92(NK細胞リンパ腫細胞株)及びNKL(NK細胞白血病細胞株)に対して分析した。NK-92及びNKLを、CellTrace(商標)Far Red細胞染色キット(ThermoFisher)で標識し、一方、B細胞リンパ腫細胞株SP53(マントル細胞リンパ腫細胞株)をCFSE(ThermoFisher)で染色した。次いで、NK-92、NKL、及びSP53細胞株を、UT-CD94-CAR形質導入T細胞と、1:1:1のエフェ

クター：腫瘍1：腫瘍2（E：T1：T2）比で共培養した。死んだ細胞のパーセンテージを、死んだ細胞を染色した後の1日目、2日目、3日目、及び4日目にフローサイトメトリーによって決定した（ThermoFisher）。UT-CD94-CAR T細胞の細胞傷害性を、L細胞（マウス線維芽細胞細胞株）及びヒトCD94発現L細胞に対しても分析した。形質導入されていないT細胞または腫瘍単独を陰性対照として使用した。

#### 【0409】

UT-CD94-CAR T細胞は、CD94陽性NKリンパ腫及び白血病細胞株（NK-92及びNKL）、ならびにヒトCD94でトランスフェクトされたL細胞の有意な溶解を誘導したが、CD94陰性B細胞リンパ腫細胞株（SP-53）または親L細胞を誘導しなかった（図5A～5F）。形質導入されていないT細胞では、有意な溶解は観察されなかった。

10

#### 【0410】

この実施例は、本明細書に開示されるUT-CD94-CAR T細胞が、CD94発現細胞に対して高い特異性及び高い細胞傷害性活性を示すことを実証している。

#### 【0411】

実施例3．キメラ抗CD94抗体は、HLA-E相互作用をブロックする。

実施例1でハイブリドーマ技術を使用して生成したマウスUT-CD94モノクローナル抗体において、マウスFcをヒトIgG1 Fcと置き換えることによって、キメラ抗ヒトCD94抗体（「cUT-CD94」）を合成した。次いで、マウス及びキメラ抗ヒトCD94抗体を、インビトロで様々なアッセイに使用した。

20

#### 【0412】

CD94は、NKG2CまたはNKG2Aとそれぞれヘテロ二量体化する場合に刺激性または阻害性受容体として機能することができるため、cUT-CD94抗体がそのリガンド、HLA-Eとの相互作用をブロックすることができるかどうかを決定した。NK白血病細胞株、KHYG-1を、異なる濃度のcUT-CD94抗体またはアイソタイプ対照抗体とともに1時間インキュベートした後、細胞をHLA-E四量体で染色し、フローサイトメトリーによって分析した。結果は、cUT-CD94抗体がHLA-Eとの相互作用をブロックしたことを示した（図6）。

#### 【0413】

NKG2A／CD94ヘテロ二量体のそのリガンド、HLA-Eとの相互作用は、NK細胞の機能の阻害をもたらすことができるため、CD94をブロックすることが、NK細胞の活性化の増強をもたらすことができるかどうかを決定した。NK細胞を、磁気細胞分離によって正常なドナー末梢血単核細胞から単離し、UT-CD94抗体（mCD94 Ab）及びcUT-CD94抗体（cCD94 Ab）、または市販のマウス抗CD94抗体（Biolegendカタログ番号305502からのクローンDX22）及びそれらのそれぞれのアイソタイプ対照（Biolegendカタログ番号401402からのマウスIgG1アイソタイプ対照抗体及びBioCellカタログ番号BE0297からのヒトIgG1アイソタイプ対照抗体）の存在下または不在下で、複製ウェルにおいて2：1のエフェクター：標的（E：T）比でHLA-E発現SP-53マントル細胞リンパ腫細胞株とともにインキュベートした。全ての抗体を10 µg/mLの濃度で使用した。一晩のインキュベーション後、フローサイトメトリーによってCD137の発現を評価した（図7）。

30

40

#### 【0414】

CD107aの発現分析のために、NK細胞を、磁気細胞分離によって正常なドナー末梢血単核細胞から単離し、IL-2（1200 IU/mL）で一晩活性化し、UT-CD94抗体（mCD94 Ab）及びcUT-CD94抗体（cCD94 Ab）、または市販のマウス抗CD94抗体（Biolegendカタログ番号305502からのクローンDX22）及びそれらのそれぞれのアイソタイプ対照（Biolegendカタログ番号401402からのマウスIgG1アイソタイプ対照抗体及びBioCellカタログ

50

グ番号 B E 0 2 9 7 からのヒト I g G 1 アイソタイプ対照抗体)の存在下または不在下で、複製ウェルにおいて 2 : 1 のエフェクター : 標的 ( E : T ) 比で H L A - E 発現 S P - 5 3 マントル細胞リンパ腫細胞株とともにインキュベートした。全ての抗体を 1 0 μ g / m L の濃度で使用した。1 6 時間のインキュベーション後、フローサイトメトリーによって C D 1 0 7 a の発現を評価した ( 図 8 ) 。

【 0 4 1 5 】

U T - C D 9 4 及び c U T - C D 9 4 抗体の両方で C D 9 4 をブロックすることは、C D 1 3 7 の発現 ( 図 7 ) 及び C D 1 0 7 a の脱顆粒 ( 図 8 ) によって決定されるように、NK 細胞の活性化の増加をもたらしたことが観察された。C D 1 3 7 及び C D 1 0 7 a のこの増加した発現は、市販のマウス抗 C D 9 4 抗体 ( B i o l e g e n d からのクローン D X 2 2 ) と比較して、c U T - C D 9 4 抗体で有意により高かった。具体的には、C D 1 3 7 の発現は、c U T - C D 9 4 抗体で処理した細胞の 4 4 ~ 4 9 % で見出され、これは、U T - C D 9 4 抗体 ( m C D 9 4 A b ) または市販のマウス抗 C D 9 4 抗体 ( D X 2 2 A b ) のいずれかで処理した後の C D 1 3 7 の発現を有する細胞の 2 2 ~ 2 3 % よりも有意に高かった。さらに、C D 1 0 7 a の発現は、c U T - C D 9 4 抗体で処理した細胞の 3 3 ~ 3 4 % で見出され、これは、市販のマウス抗 C D 9 4 抗体 ( D X 2 2 ) で処理した後の C D 1 0 7 a の発現を有する細胞の 1 6 % 、及び実施例 1 で生成した U T - C D 9 4 抗体 ( m C D 9 4 A b ) で処理した後の C D 1 0 7 a の発現を有する細胞の 1 4 ~ 1 6 % よりも有意に高かった。総合すると、これらの結果は、本明細書で生成した c U T - C D 9 4 抗体が、D X 2 2 マウス抗 C D 9 4 抗体によって実証されるように、現在の市販の実施形態よりも C D 1 0 7 a 及び C D 1 3 7 の発現を駆動することにおいてより有効であることを示す。

【 0 4 1 6 】

実施例 4 . 抗 C D 9 4 抗体薬物コンジュゲート ( 予想的 )

実施例 1 の U T - C D 9 4 抗体または実施例 3 のキメラ c U T - C D 9 4 抗体を使用して、抗 C D 9 4 抗体薬物コンジュゲート ( A d C ) を生成する。抗 C D 9 4 抗体を、K o s t o b a e t a l . , P h a r m a c e u t i c a l s , 2 0 2 1 ; 1 4 ( 5 ) : 4 4 2 、T o n g e t a l . , M o l e c u l e s , 2 0 2 1 S e p 2 7 ; 2 6 ( 1 9 ) : 5 8 4 7 、及び D r a g o e t a l . , N a t R e v C l i n O n c o l , 2 0 2 1 J u n ; 1 8 ( 6 ) : 3 2 7 - 3 4 4 . d o i : 1 0 . 1 0 3 8 / s 4 1 5 7 1 - 0 2 1 - 0 0 4 7 0 - 8 . E p u b 2 0 2 1 F e b 8 に開示されているものなどの、当該技術分野で既知のリンカーを介して細胞傷害性化合物にコンジュゲートする。抗 C D 9 4 A d C の細胞傷害性を、NK 細胞リンパ腫または白血病株 NK - 9 2 及び NK L に対して分析する。NK - 9 2 及び NK L を、C e l l T r a c e ( 商標 ) F a r R e d 細胞染色キット ( T h e r m o f i s h e r ) で標識し、B 細胞リンパ腫細胞株 S P 5 3 ( マントル細胞リンパ腫細胞株 ) を C F S E ( T h e r m o f i s h e r ) で染色する。NK - 9 2 、NK L 、及び S P 5 3 細胞株を、抗 C D 9 4 A d C と共培養する。死んだ細胞のパーセンテージを、死んだ細胞を染色した後の 1 日目、2 日目、3 日目、及び 4 日目にフローサイトメトリーによって決定する ( T h e r m o f i s h e r ) 。腫瘍細胞単独を陰性対照として使用する。

【 0 4 1 7 】

実施例 5 . 正常組織及び腫瘍組織における C D 9 4 の発現

C D 9 4 転写物の発現は、正常組織において制限される。H u m a n P r o t e i n A t l a s プロジェクトからの単一細胞 R N A s e q ( s c R N A S e q ) データの分析は、C D 9 4 m R N A 転写物が、心臓、肺、肝臓、及び腎臓などの重要な臓器を含む 2 5 の正常組織にわたる NK 細胞において最も高い発現を有する浸潤免疫細胞においてのみ存在したことを明らかにした。重要なことに、C D 9 4 転写物は、上皮細胞、内皮細胞、筋肉、脂肪細胞、心筋細胞、肝細胞、神経細胞、腎尿細管細胞などでは検出されなかった ( 図 9 A ~ 9 F ) 。正常なドナー末梢血単核細胞 ( P B M C ) からの 2 9 の免疫細胞型の分析は、C D 9 4 転写物が、NK 細胞、C D 8 + 末端エフェクター T 細胞、及び g d T

細胞に主に存在し、CD8+エフェクターT細胞では低レベルであったが、樹状細胞、B細胞、及び単球には存在しなかったことを示した（図9G）。

#### 【0418】

3人の異なる健康なドナーに由来する32の異なる臓器を含有する組織アレイを、市販の抗CD94モノクローナル抗体（クローンEPR21003、Abcam）で1:400滴定で試験した。標準的な免疫組織化学プロトコルに従い、シグナルをLeica精密化ポリマー検出キットで検出した。陽性シグナル（褐色）は、異なる臓器（リンパ節、脾臓、胸腺、扁桃腺、乳、小腸、結腸、胃、子宮、卵巣、喉頭、及び食道）における反応性リンパ球中に散在的な様式で検出された。大脳、小脳、副腎、肝臓、甲状腺、肺、膵臓、骨髄、気管、精巣、心臓、骨格筋、皮膚、神経、唾液腺、腎臓、心膜、眼、前立腺、及び子宮頸部臓器は、陽性シグナルを示さなかった（図10A）。正常なドナーに由来する扁桃腺（図10B）及び患者に由来するNK/T細胞リンパ腫腫瘍組織（図10C）を陽性対照として使用し、CD94の強いシグナルを両方の組織スライドで検出した。

10

#### 【0419】

CD94タンパク質の発現は、正常組織において制限された。scRNAseqデータと一致して、正常なドナー組織アレイの免疫組織化学分析は、異なる臓器における反応性リンパ球中に散在するCD94タンパク質の発現のみを示した（図10A）。CD94に対する強い染色は、予想通り、正常な扁桃腺（図10B）及びNK/T細胞リンパ腫組織（図10C）において検出された。

#### 【0420】

20

実施例6．NK細胞白血病細胞株における抗CD94抗体結合

CD94モノクローナル抗体の特異性を評価するために、CRISPR-Cas9技術を使用して、2つのNK細胞白血病細胞株（KHYG-1及びNK92）においてCD94を安定的にノックアウトした。抗CD94抗体の結合特異性を、野生型KHYG-1及びNK92細胞株、ならびにCD94ノックアウト（KO）を有するそれらのアイソジェニック細胞株に対するフローサイトメトリーによって評価した（図11）。抗CD94モノクローナル抗体は、野生型KHYG-1及びNK92に結合したが、CD94ノックアウトを有するそれらのアイソジェニック細胞株には結合せず、その特異性が確認された。

#### 【0421】

実施例7．インビトロでの抗CD94標的化CARの細胞傷害性活性

30

3つの異なるCAR分子を、抗CD94モノクローナル抗体からのVH及びVLを使用して合成した（図12A）。抗CD94 scFvは、CD8aのヒンジ/膜貫通ドメイン、及びCD28、4-1BB、またはOX-40に由来する共刺激ドメインに連結されている。CD3ζシグナル伝達ドメインは、3つの全ての構築物に存在する。抗CD94CAR分子を正常なドナーT細胞にレンチウイルス形質導入し、CAR形質導入効率を、組換えヒトCD94タンパク質で細胞を染色した72時間後にフローサイトメトリーによって評価した（図12B）。3つの全ての構築物で良好な形質導入効率が認められた。NK細胞白血病細胞株（NKL-図12C、KHYG-1-図12D、及びNK92-図12E）を、赤色蛍光タンパク質（RFP）で安定的に形質導入した。次いで、腫瘍細胞を、0.5:1のエフェクター:標的比で、CD94標的化CAR T細胞または形質導入されていないT細胞の存在下または不在下で培養した。腫瘍細胞の溶解または成長を、Live-Cell Analysis Systemを使用する連続イメージングによってモニタリングした。3つの異なるNK細胞白血病細胞株（NKL、KHYG-1、及びNK92）に対して、CD28、4-1BB、またはOX-40共刺激ドメインを含有する抗CD94 CAR T細胞では、0.5:1の非常に低いエフェクター:標的比（ $P < 0.05$ ）で頑健な細胞傷害性活性が観察された（図12C~12E）。対照的に、形質導入されていないT細胞では、有意な溶解は観察されなかった。

40

#### 【0422】

実施例8．インビボでの抗CD94標的化CARの細胞傷害性活性

インビボでのCD94標的化CAR T細胞の抗腫瘍活性を評価するために、CD94

50

陽性であった肝脾T細胞リンパ腫の患者由来異種移植モデルを確立した。肝脾T細胞リンパ腫（TCL）PDXからの腫瘍細胞（ $1 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞／マウス）を尾静脈を介してNSGマウスに静脈内注射し、マウスを、マウスが瀕死になった際の49日目に殺した。剖検時の肝臓及び脾臓の画像を図13Aに示す。NSGマウスへのこれらの腫瘍細胞の静脈内注射は、マウスにおける大規模な肝脾腫大、及び主に肝臓、脾臓、及び骨髓における腫瘍の成長をもたらし、末梢血の最小限の関与は、ヒトにおける臨床的提示と非常に類似していた。これらのマウスは、進行性腫瘍成長により約50日で死亡した（データは示さず）。剖検で得られた肝臓、脾臓、骨髓、及び血液からの単一細胞懸濁液を、ヒトCD3（hCD3）、ヒトCD45（hCD45）、及びヒトCD94（hCD94）抗体を用いてフローサイトメトリーによって分析した（図13B）。CD94の発現を、示されるように、hCD3+hCD45+細胞対hCD3-hCD45-細胞の間で比較した。腫瘍を注射していないNSGマウスを対照として使用した。肝脾T細胞リンパ腫（TCL）PDXからの腫瘍細胞（ $1.5 \times 10^6$ 個の腫瘍細胞／マウス）を尾静脈を介してNSGマウス（5匹のマウス／群）に静脈内注射し、2週間後、 $10 \times 10^6$ 個の抗CD94標的化CAR+T細胞または形質導入されていないT細胞を静脈内注射によって投与した。CAR+T細胞の抗腫瘍効果を、生存についてマウスをモニタリングすることによって評価した。ログランク検定を、治療群間の生存の差を評価するために使用した。CD94標的化CAR+T細胞によるNSGマウスの治療は、治療しなかったマウスまたは形質導入されていないT細胞で治療したマウスと比較して、生存の有意な延長をもたらした（ $P < 0.05$ ）。56日目の生存は、CD28、4-1BB、またはOX-40共刺激ドメインを有する3つの異なるCAR構築物の各々で治療したマウスについて100%であった。

10

20

\* \* \*

#### 【0423】

本開示の実施は、別段の指示がない限り、当該技術分野の技能の範囲内である細胞生物学、細胞培養、分子生物学、トランスジェニック生物学、微生物学、組換えDNA、及び免疫学の従来技術を用いるであろう。そのような技術は、文献で完全に説明されている。

#### 【0424】

上記で引用される参考文献の全て、及び本明細書で引用される全ての参考文献は、その全体が参照により本明細書に援用される。

30

#### 【0425】

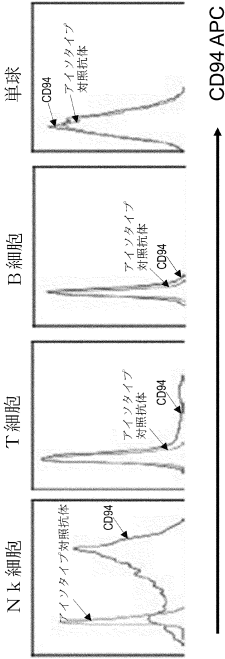
本明細書で提供される任意の実施例は、例示のために提供するものであり、限定のためのものではない。

40

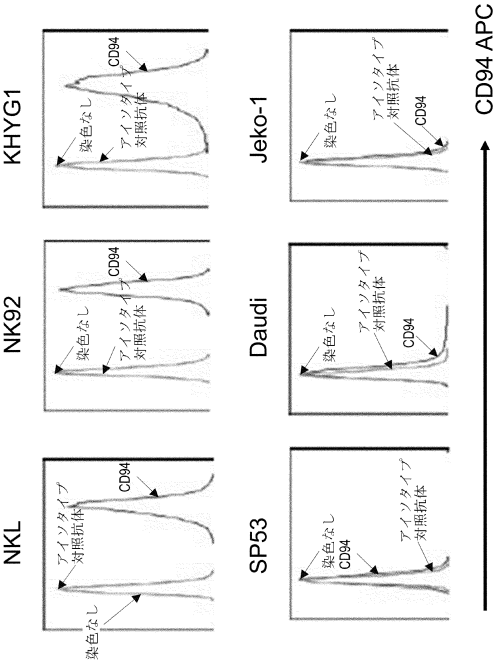
50



【図 3 B】



【図 3 C】



【図 4 A】

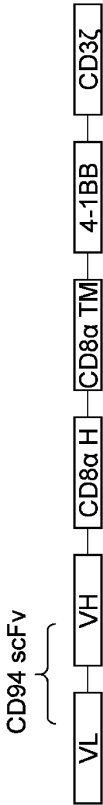


FIG. 4A

【図 4 B】

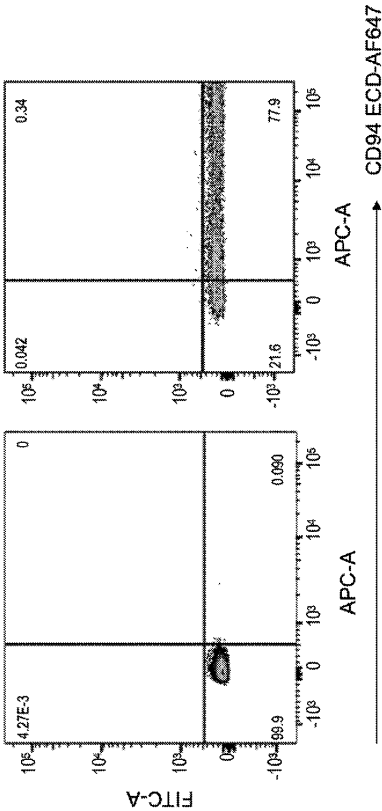


FIG. 4B

10

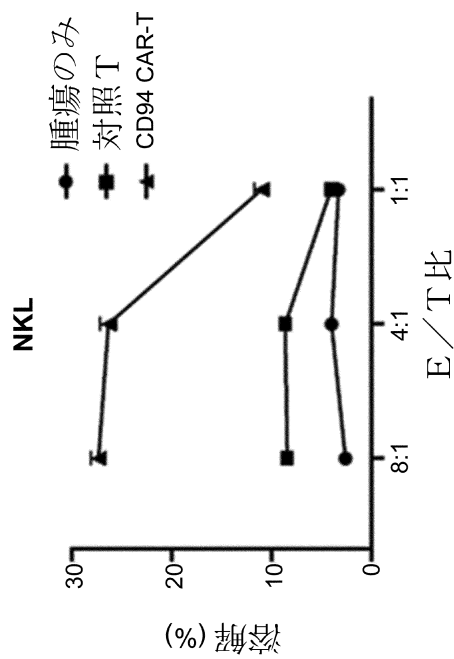
20

30

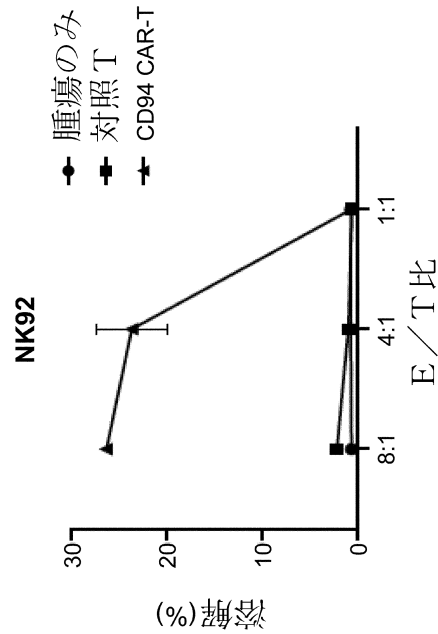
40

50

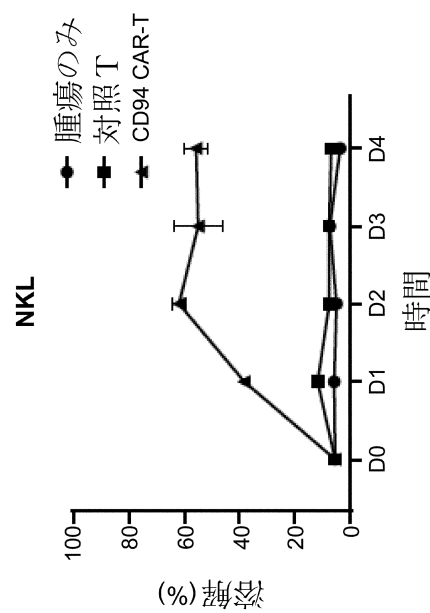
【図 5 A】



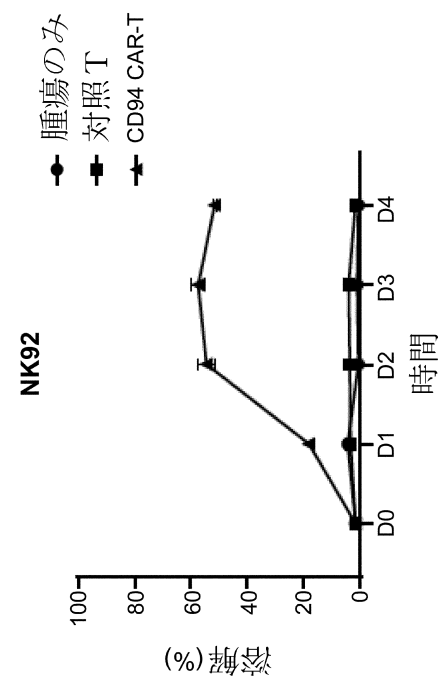
【図 5 B】



【図 5 C】



【図 5 D】



10

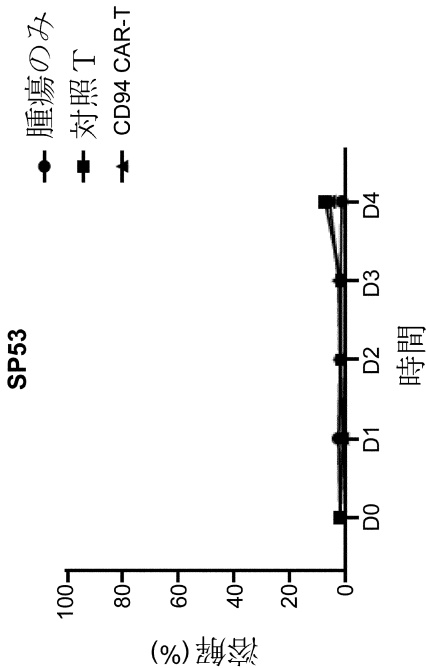
20

30

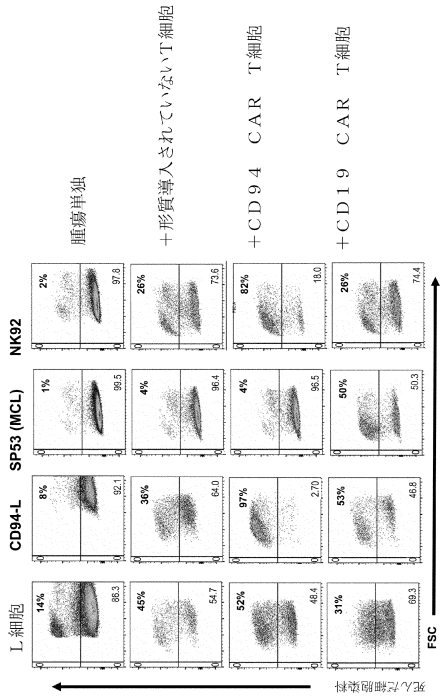
40

50

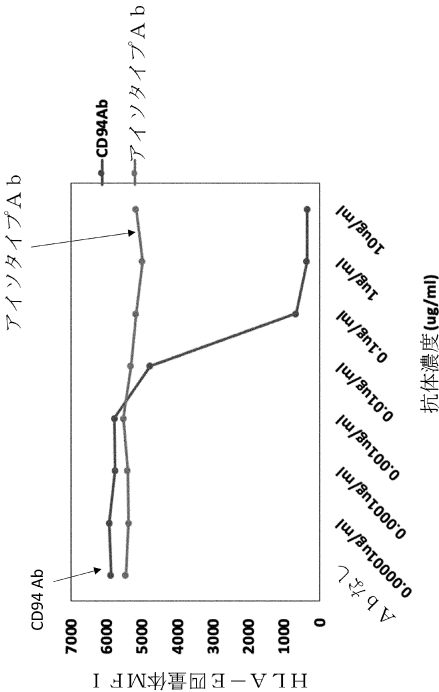
【図 5 E】



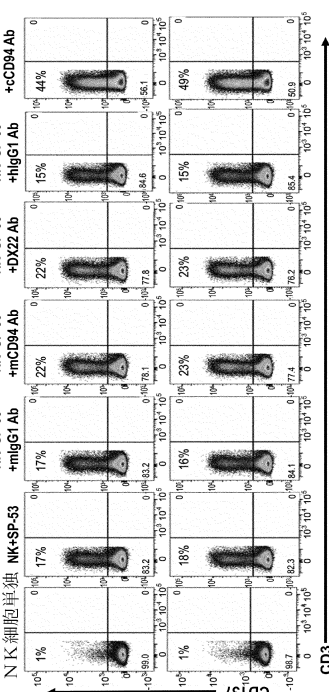
【図 5 F】



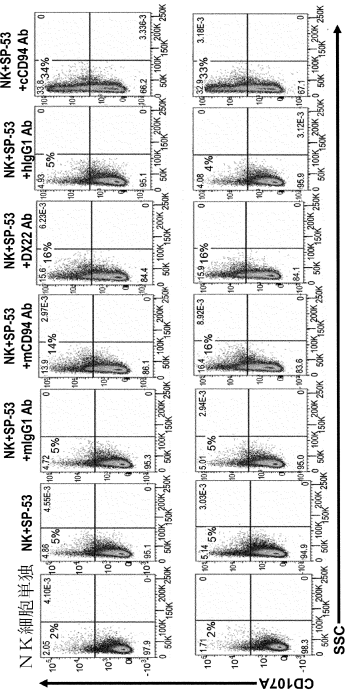
【図 6】



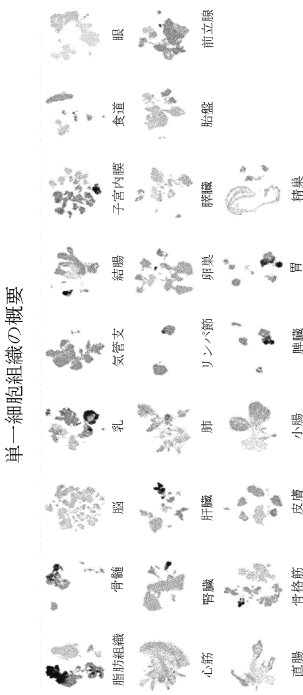
【図 7】



【図 8】



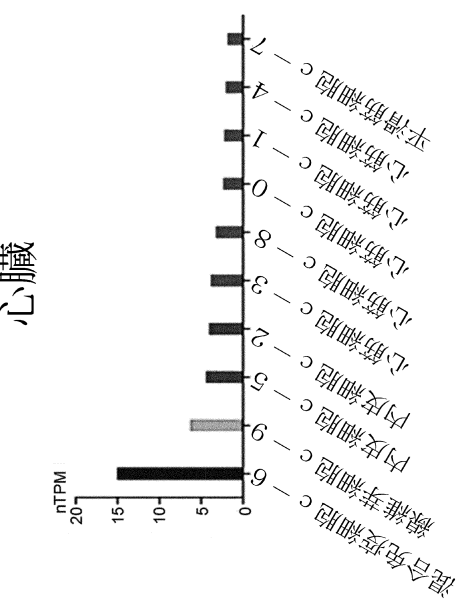
【図 9 A】



【図 9 B】



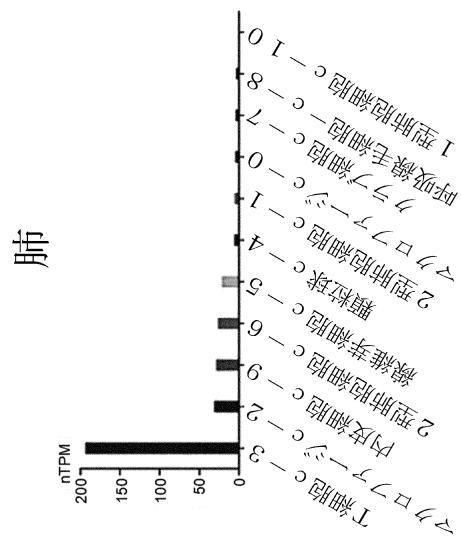
【図 9 C】



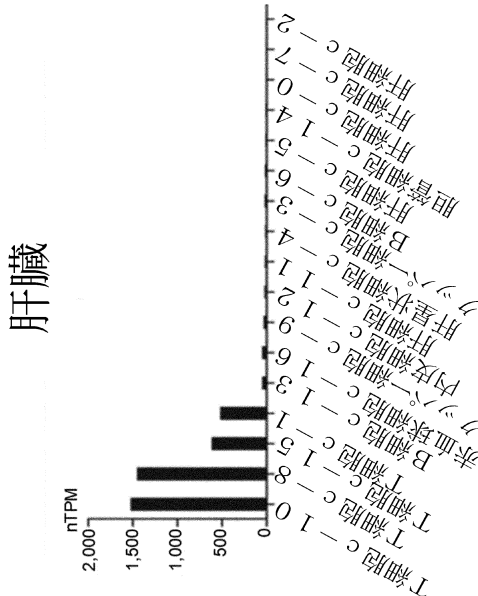
25の組織にわたる単一細胞型

心臓

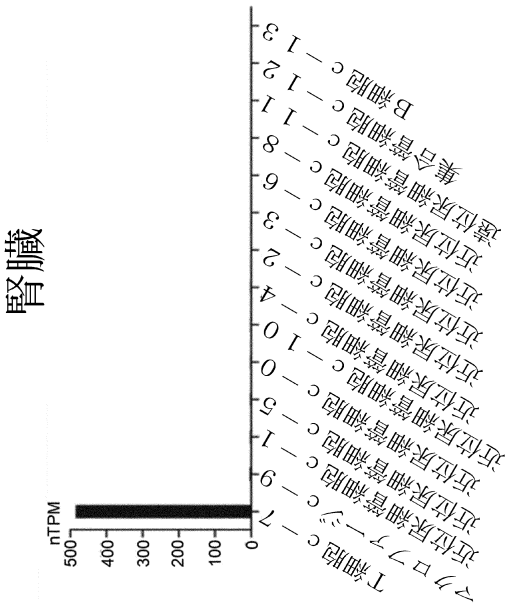
【図 9 D】



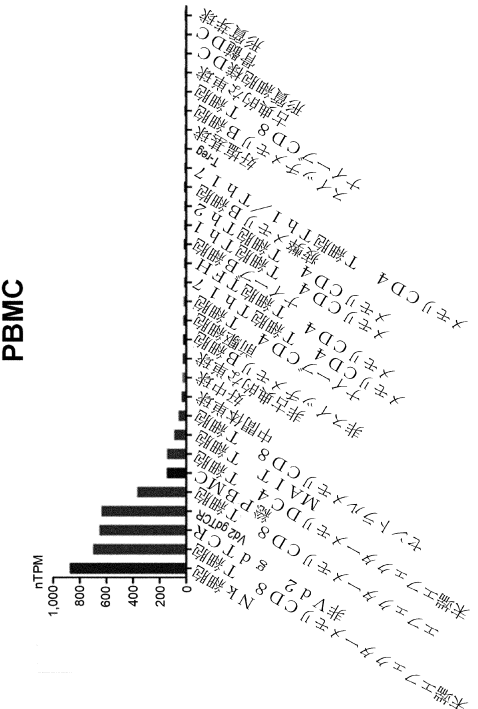
【図 9 E】



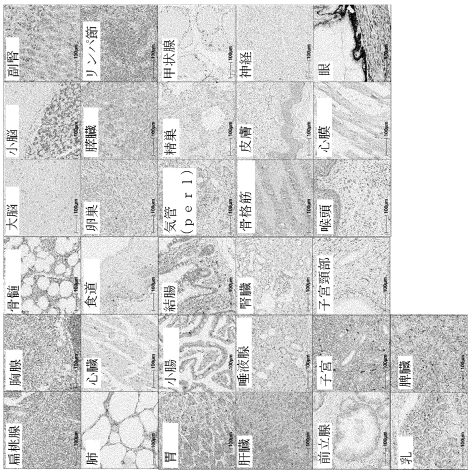
【図 9 F】



【図 9 G】

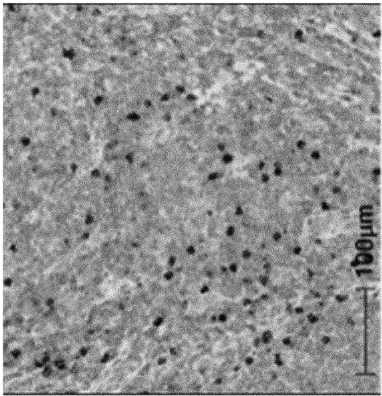


【図 10 A】



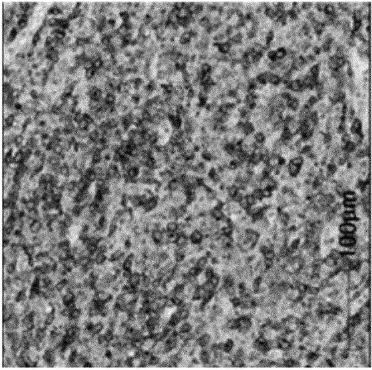
【図 10 B】

扁桃腺

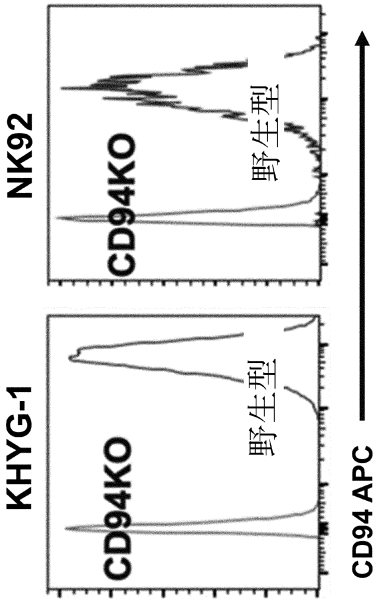


【図 10 C】

NK/T細胞リンパ腫



【図 11】



10

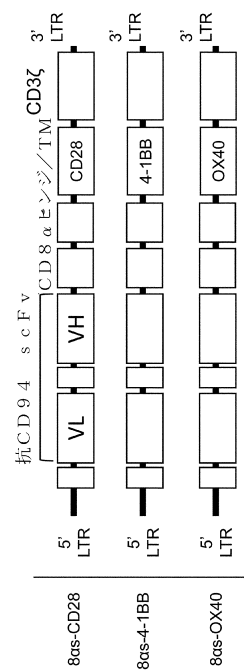
20

30

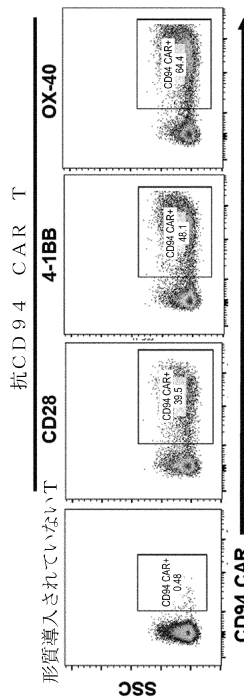
40

50

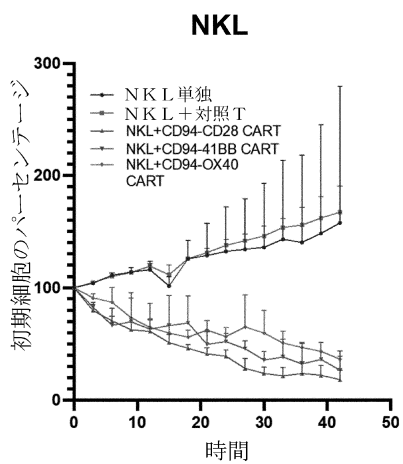
【図 1 2 A】



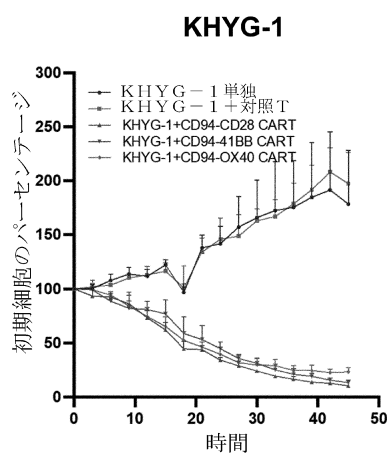
【図 1 2 B】



【図 1 2 C】



【図 1 2 D】



10

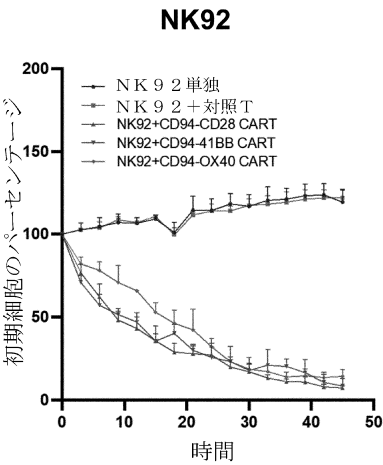
20

30

40

50

【図 1 2 E】



【図 1 3 A】

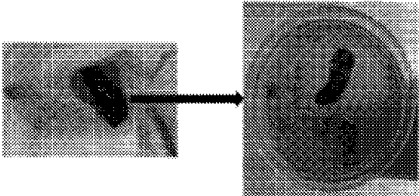
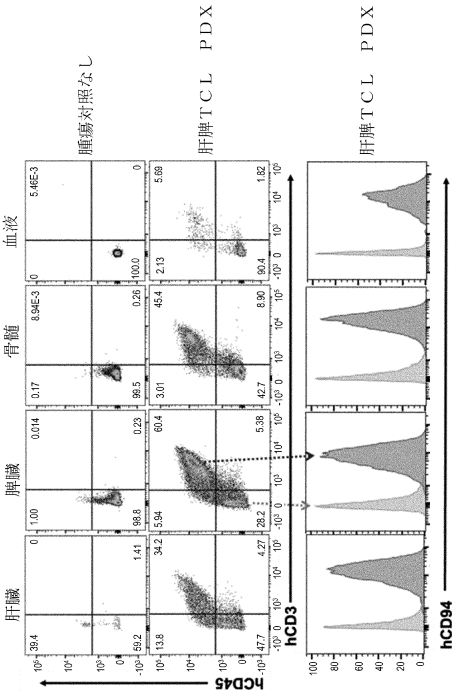


FIG. 13A

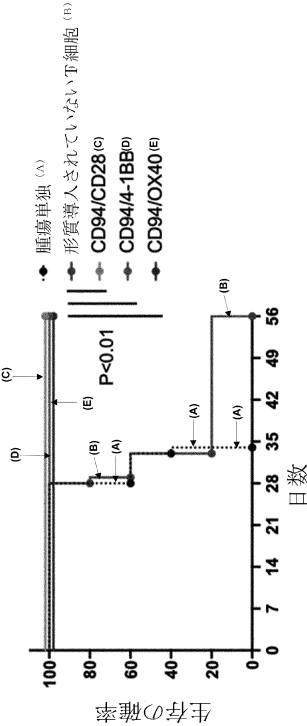
10

20

【図 1 3 B】



【図 1 3 C】



30

40

50

【配列表】

2025503644000001.xml

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/60431

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. A61K 39/395, C07K 16/28, A61K 35/17, C07K 14/705, A61P 35/00 (2023.01)  
ADD.

CPC - INV. A61K 39/39558, C07K 16/2896, A61K 35/17, C07K 14/7051, A61P 35/00  
ADD. A61K 2039/5158

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                             | Relevant to claim No. |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | WO 2020/068261 A1 (MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY) 02 April 2020 (02.04.2020) pg 7, para 1; pg 121, para 2; pg 123, para 4                                                                                                                                                                                              | 1-5, 28-30, 34-35     |
| A         | US 2005/0152903 A1 (NEWMAN et al.) 14 July 2005 (14.06.2005) abstract; para [0035]; SEQ ID NO: 17                                                                                                                                                                                                                              | 1-5, 28-30, 34-35     |
| A         | US 2019/0352390 A1 (MONASH UNIVERSITY et al.) 21 November 2019 (21.11.2019) para [0061]-[0063]; SEQ ID NO: 19                                                                                                                                                                                                                  | 1-5, 28-30, 34-35     |
| A         | US 2021/0130478 A1 (MAB DISCOVERY GMBH) 6 May 2021 (06.05.2021) para [0117]; SEQ ID NO: 506                                                                                                                                                                                                                                    | 1-5, 28-30, 34-35     |
| A         | UniProtKB Accession No. A0A0Q7AE93 "MFS transporter" 20 January 2016 [online]. [Retrieved on 25 April 2023]. Retrieved from the internet: <URL: <a href="https://rest.uniprot.org/unisave/A0A0Q7AE93?format=txt&amp;versions=18">https://rest.uniprot.org/unisave/A0A0Q7AE93?format=txt&amp;versions=18</a> >; entire document | 1-5, 28-30, 34-35     |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

25 April 2023

Date of mailing of the international search report

MAY 10 2023

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/50431

## 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.

b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),

☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 23/80431

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 6-27, 31-33, 36-64  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

20

30

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

40

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

## テーマコード (参考)

**C 1 2 N** 15/63 (2006.01)  
**C 1 2 P** 21/08 (2006.01)  
**A 6 1 P** 35/00 (2006.01)  
**A 6 1 P** 35/02 (2006.01)  
**A 6 1 P** 7/00 (2006.01)  
**A 6 1 K** 39/395 (2006.01)  
**A 6 1 K** 35/17 (2025.01)  
**A 6 1 K** 35/76 (2015.01)  
**A 6 1 K** 31/7088 (2006.01)  
**C 0 7 K** 16/46 (2006.01)  
**C 0 7 K** 14/725 (2006.01)  
**C 1 2 N** 5/0783 (2010.01)

**C 1 2 N** 15/63  
**C 1 2 P** 21/08  
**A 6 1 P** 35/00  
**A 6 1 P** 35/02  
**A 6 1 P** 7/00  
**A 6 1 K** 39/395  
**A 6 1 K** 39/395  
**A 6 1 K** 39/395  
**A 6 1 K** 39/395  
**A 6 1 K** 35/17  
**A 6 1 K** 35/76  
**A 6 1 K** 31/7088  
**C 0 7 K** 16/46  
**C 0 7 K** 14/725  
**C 1 2 N** 5/0783

**Z** 4 H 0 4 5

**E**

**T**

**D**

**N**

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,C O,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,I R,IS,IT,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX ,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV, SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW  
 オブ テキサス, エムディー アンダーソン キャンサー センター

## (72)発明者 ウェン, ジンシェン

アメリカ合衆国, テキサス州, ヒューストン, ホルコム ブルバード 1 5 1 5, ケアオブ ザ ユニヴァーシティー オブ テキサス, エムディー アンダーソン キャンサー センター

## (72)発明者 パン, ヨン

アメリカ合衆国, テキサス州, ヒューストン, ホルコム ブルバード 1 5 1 5, ケアオブ ザ ユニヴァーシティー オブ テキサス, エムディー アンダーソン キャンサー センター

## F ターム (参考)

4B064 AG27 CA19 CC24 DA01  
 4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44  
 4C085 AA13 AA14 BB31 CC22 CC23 EE01  
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA05 NA05 NA13 ZA51  
 ZB26 ZB27  
 4C087 AA01 AA02 BB37 BC83 CA12 NA05 NA13 ZA51 ZB26 ZB27  
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA09 BA41 DA50 DA76 EA20 FA74