

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成20年6月19日(2008.6.19)

【公表番号】特表2008-509090(P2008-509090A)

【公表日】平成20年3月27日(2008.3.27)

【年通号数】公開・登録公報2008-012

【出願番号】特願2007-517414(P2007-517414)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/725 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/12 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 14/725 Z N A

C 1 2 N 15/00 A

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21

C 1 2 N 5/00 A

A 6 1 K 37/02

A 6 1 K 35/12

A 6 1 K 39/395 Y

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/04

A 6 1 P 43/00 1 1 1

【手続補正書】

【提出日】平成20年5月1日(2008.5.1)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

SLLMWITQC-HLA-A\*0201複合体についての $K_D$ が $1\mu\text{M}$ 以下であり、及び/又はSLLMWITQC-HL A-A\*0201複合体についての解離速度( $k_{off}$ )が $1\times 10^{-3}\text{S}^{-1}$ 又はそれより遅いことを特徴とする、SLLMWITQC-HLA-A\*0201への結合特性を有しかつ少なくとも1つのTCR鎖可変ドメイン及び/又は少なくとも1つのTCR鎖可変ドメインを含むT細胞受容体(TCR)。

【請求項2】

鎖可変ドメインとTCR鎖可変ドメインとの両方を含む請求項1に記載のTCR。

## 【請求項 3】

又は ホモダイマーである請求項1に記載のTCR。

## 【請求項 4】

前記 $K_D$ 及び/又は $k_{off}$ が表面プラズモン共鳴により測定される請求項1～3のいずれか1つに記載のT細胞受容体(TCR)。

## 【請求項 5】

少なくとも1つの相補性決定領域において天然型1G4 TCR 鎖可変ドメイン(配列番号1)及び/又は 鎖可変ドメイン(配列番号2)に比べて変異されている請求項1～4のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 6】

少なくとも1つの可変ドメイン枠組み構造領域において天然型1G4 TCR 鎖可変ドメイン(配列番号1)及び/又は 鎖可変ドメイン(配列番号2)に比べて変異されている請求項1～5のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 7】

配列番号1に示す番号を用いて、 鎖可変ドメインアミノ酸20V、51Q、52S、53S、94P、95T、96S、97G、98G、99S、100Y、101I及び103Tの1又は複数が変異されている請求項1～6のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 8】

配列番号2に示す番号を用いて、 鎖可変ドメインアミノ酸18M、50G、51A、52G、53I、55D、56Q、70T、94Y、95V及び97Nの1又は複数が変異されている請求項1～7のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 9】

配列番号1に示す番号を用いて、1又は複数の 鎖可変ドメインアミノ酸20A、51P、51S、51T、51M、52P、52F、52G、53W、53H、53T、94H、94A、95L、95M、95A、95Q、95Y、95E、95I、95F、95V、95N、95G、95S、95R、95D、96L、96T、96Y、96I、96Q、96V、96E、96X、96A、96W、96R、96G、96H、96K、96D、97D、97N、97V、97S、97A、97T、98P、98H、98S、98T、98W、98A、99T、99Y、99D、99H、99V、99N、99E、99G、99Q、99K、99A、99I、99R、100F、100M、100D、101P、101T、101M又は103Aを含む請求項1～6のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 10】

配列番号2に示す番号を用いて、1又は複数の 鎖可変ドメインアミノ酸18V、50S、50A、51V、51I、52Q、53T、53M、55R、56R、70I、94N若しくは94F、95L、97G又は97Dを含む請求項1～6及び9のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 11】

1又は複数の表現型サイレント置換を任意に含む配列番号11～83に示す 鎖可変ドメインアミノ酸配列の1つを含む請求項1～6のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 12】

1又は複数の表現型サイレント置換を任意に含む配列番号84～99及び117～121に示す 鎖可変ドメインアミノ酸配列の1つを含む請求項1～6及び11のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 13】

1又は複数の表現型サイレント置換を任意に含む次の表に示す 及び 鎖可変ドメインの対を含む請求項2に記載のTCR。

【表 1 - 1】

$\alpha$ 鎖可変ドメイン配列 配列番号	$\beta$ 鎖可変ドメイン配列 配列番号
1	84
1	85
1	86
1	87
1	88
11	84
12	84
12	85
12	90
11	85
11	86
11	92
11	93
13	86
14	84
14	85
15	84
15	85
16	84
16	85
17	86
18	86
19	84
20	86
21	84
21	85

【表 1 - 2】

22	84
23	86
24	84
25	84
26	84
27	84
28	84
29	84
30	84
31	84
32	84
33	84
20	86
34	86
35	89
36	89
37	89
38	89
39	89
16	89
17	89
31	89
40	89
1	90
1	91
41	90
42	2
42	85
42	92
1	92

【表 1 - 3】

1	93
43	92
44	92
45	92
46	92
47	92
48	84
49	94
50	84
50	94
51	94
51	95
1	94
1	85
51	84
52	84
52	94
52	95
53	84
49	95
49	94
54	92
55	92
56	92
57	92
58	92
59	92
60	92
61	92
62	92

【表 1 - 4】

63	92
64	92
65	92
66	92
67	92
68	92
69	92
70	92
71	92
72	92
73	92
74	92
75	92
76	92
77	92
78	92
79	92
80	92
81	92
82	92
83	92
11	96
11	97
11	98
11	99
1	89
50	117
49	117
50	118
49	119

【表 1 - 5】

50	119
58	93
49	118
1	119
1	117
55	120
56	120
50	121
50	120
49	121
49	120
48	118
53	95

## 【請求項 1 4】

配列番号49に示す 鎖可変ドメインと配列番号94に示す 鎖可変ドメインとを含み、1又は複数の表現型サイレント置換を任意に含む請求項2に記載のTCR。

## 【請求項 1 5】

配列番号100に示す 鎖定常領域アミノ酸配列、及び/又は配列番号101及び102に示す 鎖定常領域アミノ酸配列の1つをさらに含み、1又は複数の表現型サイレント置換を任意に含む請求項1～14のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 1 6】

ダイマーT細胞受容体(dTCR)又は単鎖T細胞受容体(scTCR)である請求項1～15のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 1 7】

TCR 鎖可変ドメインに相当するアミノ酸配列により構成される第一セグメントと、TCR 鎖定常ドメイン細胞外配列に相当するアミノ酸配列のN-末端に融合したTCR 鎖可変ドメイン配列に相当するアミノ酸配列により構成される第二セグメントと、第一セグメントのC-末端を第二セグメントのN-末端に連結するリンカー配列とを含むscTCRである請求項4～16のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 1 8】

TCR 鎖可変ドメインに相当するアミノ酸配列により構成される第一セグメントと、TCR 鎖定常ドメイン細胞外配列に相当するアミノ酸配列のN-末端に融合したTCR 鎖可変ドメイン配列に相当するアミノ酸配列により構成される第二セグメントと、第一セグメントのC-末端を第二セグメントのN-末端に連結するリンカー配列とを含むscTCRである請求項4～16のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 1 9】

第一の鎖と第二の鎖との間にジスルフィド結合を含み、該ジスルフィド結合が天然型T細胞受容体中に等価物を有さず、リンカー配列の長さ及びジスルフィド結合の位置が、第一セグメント及び第二セグメントの可変ドメイン配列が天然型T細胞受容体中と実質的に同様に互いに配向されるようなものである請求項17又は18に記載のTCR。

## 【請求項 2 0】

結合部分において、リンカー配列が、第一セグメントのC-末端を第二セグメントのN-末端に連結する請求項17～19のいずれか1つに記載のscTCR。

【請求項21】

結合部分において、リンカー配列が式-PGGG-(SGGGG)<sub>5</sub>-P- (配列番号103)又は-PGGG-(SGGGG)<sub>6</sub>-P- (配列番号104) (式中、Pはプロリンであり、Gはグリシンであり、Sはセリンである)を有する請求項17～20のいずれか1つに記載のscTCR。

【請求項22】

TCR 鎖可変ドメイン配列に相当する配列がTCR 鎖定常ドメイン細胞外配列に相当する配列のN-末端に融合した第一ポリペプチドと、  
TCR 鎖可変ドメイン配列に相当する配列がTCR 鎖定常ドメイン細胞外配列に相当する配列のN-末端に融合した第二ポリペプチドと  
を含むdTCRであり、  
第一ポリペプチドと第二ポリペプチドとが、天然型 T細胞受容体中に等価物を有さないジスルフィド結合により連結している請求項1、2及び4～16のいずれか1つに記載のTCR。

【請求項23】

前記ジスルフィド結合が前記定常ドメイン配列のアミノ酸配列同士を連結し、前記ジスルフィド結合が天然型TCR中に等価物を有さない請求項22に記載のTCR。

【請求項24】

前記ジスルフィド結合が、天然型TCRにおいて 炭素原子が0.6 nm未満離れているアミノ酸残基に相当するシステイン残基同士の間にある請求項23に記載のTCR。

【請求項25】

前記ジスルフィド結合が、TRAC\*01のエキソン1のThr 48から置換されたシステイン残基と、TRBC1\*01若しくはTRBC2\*01又はそれらの非ヒト等価物のエキソン1のSer 57から置換されたシステイン残基との間にある請求項23に記載のTCR。

【請求項26】

dTCR又はscTCRの結合部分が、天然型TCR中でジスルフィド結合により連結されるものに相当する残基間のジスルフィド結合を含む請求項16～25のいずれか1つに記載のTCR。

【請求項27】

dTCR又はscTCRの結合部分が、天然型TCRの膜貫通配列又は細胞質配列に相当する配列を含まない請求項14～24のいずれか1つに記載のTCR。

【請求項28】

配列番号122の 鎖アミノ酸配列と配列番号123の 鎖アミノ酸配列とからなる可溶性TCR。

【請求項29】

配列番号122の 鎖アミノ酸配列と配列番号124の 鎖アミノ酸配列とからなる可溶性TCR。

【請求項30】

少なくとも1種のポリアルキレングリコール鎖と結合している請求項1～29のいずれか1つに記載のTCR。

【請求項31】

前記ポリアルキレングリコール鎖がTCRと共有的に連結している請求項30に記載のTCR。

【請求項32】

前記ポリアルキレングリコール鎖が少なくとも2つのポリエチレングリコール反復単位を含む請求項30又は31に記載のTCR。

【請求項33】

又は 鎖のC-末端若しくはN-末端に反応性システインをさらに含む請求項1～32のいずれか1つに記載のTCR。

【請求項34】

治療剤又は検出可能部分と結合している請求項1～33のいずれか1つに記載のTCR。



## 【請求項 35】

前記治療剤又は検出可能部分と共有的に連結している請求項34に記載のTCR。

## 【請求項 36】

前記治療剤又は検出可能部分が、TCR鎖の一方又は両方のC-末端に共有的に連結している請求項34に記載のTCR。

## 【請求項 37】

免疫エフェクター分子である治療剤と結合している請求項34～36のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 38】

前記免疫エフェクター分子がサイトカインである請求項37に記載のTCR。

## 【請求項 39】

前記免疫エフェクター分子がIL-2又はその機能的変異形若しくはフラグメントである請求項37に記載のTCR。

## 【請求項 40】

前記治療剤が細胞毒性作用剤である請求項34～36のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 41】

前記治療剤が放射性核種である請求項34～36のいずれか1つに記載のTCR。

## 【請求項 42】

請求項1～41のいずれか1つに記載のTCRを少なくとも2つ含む多価TCR複合体。

## 【請求項 43】

非ペプチドポリマー鎖又はペプチドリンカー配列により連結した請求項1～42のいずれか1つに記載のTCRの少なくとも2つを含む多価TCR複合体。

## 【請求項 44】

前記ポリマー鎖又はペプチドリンカー配列が、各TCRの、TCRの可変領域配列中に位置しないアミノ酸残基の間に伸びている請求項43に記載のTCR複合体。

## 【請求項 45】

TCRが、ポリアルキレングリコール鎖又はヒト多量体化ドメイン由来のペプチドリンカーにより連結されている請求項43又は44に記載のTCR複合体。

## 【請求項 46】

二価アルキレンスパーサー残基が、ポリアルキレングリコール鎖と複合体のTCRへのその結合点との間に位置する請求項45に記載のTCR複合体。

## 【請求項 47】

前記ポリアルキレングリコール鎖が、少なくとも2つのポリエチレングリコール反復単位を含む請求項43又は44に記載のTCR複合体。

## 【請求項 48】

請求項1～33のいずれか1つに記載の少なくとも2つのTCRを含み、(i) 該TCRの少なくとも1つが請求項31～38のいずれか1つで規定する治療剤と結合している多価TCR複合体。

## 【請求項 49】

請求項1～26のいずれか1つで規定されるTCRを提示する単離された細胞。

## 【請求項 50】

請求項1～48のいずれか1つに記載のTCR若しくは多価TCR複合体、又は複数の請求項49に記載の細胞を医薬的に許容される担体と共に含む医薬組成物。

## 【請求項 51】

癌の治療用である請求項50に記載の医薬組成物。

## 【請求項 52】

TCRが、(i) 少なくとも1つのTCR 鎖可変ドメイン及び / 又は少なくとも1つのTCR 鎖可変ドメインを含み、かつ(ii) 前記SLLMWITQC-HLA-A\*0201複合体についての $K_D$ が $1\mu\text{M}$ 未満であり、及び / 又はSLLMWITQC-HLA-A\*0201に対する解離速度( $k_{off}$ )が $1 \times 10^{-3}$ 未満であり、

(a) 鎖可変ドメイン及び 鎖可変ドメインの一方又は両方が請求項7又は8で規定される

アミノ酸の1又は複数において変異を含む、1G4 TCRの鎖可変ドメイン及び鎖可変ドメインを含むTCRを作製し；

(b) 前記変異TCRをSLLMWITQC-HLA-A\*0201と、TCRのSLLMWITQC-HLA-A\*0201への結合を可能にするのに適する条件下で接触させ、

相互作用の $K_D$ 及び/又は $k_{off}$ を測定する

ことを含む、SLLMWITQC-HLA-A\*0201への結合特性を有する高親和性TCRを作製する方法。