

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2025-504363
(P2025-504363A)

(43)公表日 令和7年2月12日(2025.2.12)

(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 0 7 K	14/54 (2006.01)	C 0 7 K	14/54		4 C 0 7 6
C 0 7 K	14/55 (2006.01)	C 0 7 K	14/55		4 C 0 8 4
C 0 7 K	14/56 (2006.01)	C 0 7 K	14/56		4 C 0 8 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全89頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-540715(P2024-540715)	(71)出願人	524252194 インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1 0 2 5 スイート 1 4 0 110000796
(86)(22)出願日	令和5年1月4日(2023.1.4)	(74)代理人	弁理士法人三枝国際特許事務所
(85)翻訳文提出日	令和6年8月1日(2024.8.1)	(72)発明者	ベックランド ブライアン アール。 アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1 0 2 5 スイート 1 4 0 シー/オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2023/060074	(72)発明者	ジョーンズ カイル エス。
(87)国際公開番号	WO2023/133394		
(87)国際公開日	令和5年7月13日(2023.7.13)		
(31)優先権主張番号	63/296,774		
(32)優先日	令和4年1月5日(2022.1.5)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(31)優先権主張番号	63/417,926		
(32)優先日	令和4年10月20日(2022.10.20)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ)		

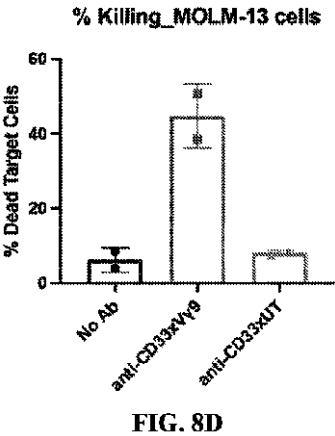
最終頁に続く

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 γ δ T細胞結合ポリペプチド及びその使用

(57)【要約】

本明細書では、 γ δ T細胞に結合するVHH含有ポリペプチドが提供される。VHH含有ポリペプチドの使用も提供される。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

γ δ T C R に結合する少なくとも 1 つの V H H ドメインを含むポリペプチドであって、少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 3、配列番号 1 4 4、配列番号 1 4 5、配列番号 1 4 6、配列番号 1 4 7、配列番号 1 4 8、又は配列番号 1 4 9 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 4、配列番号 1 5 0、配列番号 1 5 1、配列番号 1 5 2、配列番号 1 5 3、配列番号 1 5 4、配列番号 1 5 5、又は配列番号 1 5 6 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、ポリペプチド。

【請求項 2】

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 3、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 1 4 4、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 1 4 5、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 1 4 6、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 1 4 7、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 1 4 8、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 1 4 9、配列番号 4、及び配列番号 5；配列番号 3、配列番号 1 5 0、及び配列番号 5；配列番号 3、配列番号 1 5 1、及び配列番号 5；配列番号 3、配列番号 1 5 2、及び配列番号 5；配列番号 3、配列番号 1 5 3、及び配列番号 5；配列番号 3、配列番号 1 5 4、及び配列番号 5；配列番号 3、配列番号 1 5 5、及び配列番号 5；又は配列番号 3、配列番号 1 5 6、及び配列番号 5 のアミノ酸配列をそれぞれ含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む、請求項 1 に記載のポリペプチド。

【請求項 3】

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1 と、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2 と、配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 とを含む、請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 4】

少なくとも 1 つの V H H ドメイン又は各 V H H ドメインは、ヒト化されている、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 5】

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 1 8 0 を含み、ここで、X₁、X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₅、X₂₆ 及び X₂₇ は独立して選択され、X₁ は V 又は A であり、X₂ は R 又は G であり、X₃ は K 又は T であり、X₄ は I 又は F であり、X₅ は Q、G 又は E であり、X₆ は R 又は L であり、X₇ は L、W 又は F であり、X₈ は A 又は S であり、X₉ は H 又は A であり、X₁₀ は T 又は S であり、X₁₁ は D 又は G であり、X₁₂ は A 又は S であり、X₁₃ は A 又は T であり、X₁₄ は E 又は Y であり、X₁₅ は V 又は A であり、X₁₆ は D、E、A、G、V、S、Y、L 又は Q であり、X₁₇ は S、P、T、A、V、L、I、又は G であり、X₁₈ は G 又は D であり、X₁₉ は S 又は N であり、X₂₀ は T 又は A であり、X₂₁ は A 又は T であり、X₂₂ は V 又は L であり、X₂₃ は N 又は S であり、X₂₄ は K 又は Y であり、X₂₅ は N、S、E、Y、A、S、G、Q であり、X₂₆ は S、T、A、L、V、N 又は G であり、X₂₇ は K、R、E、又は D である、請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、

a) 配列番号 2、配列番号 1 7 ～ 配列番号 3 1、配列番号 7 2 ～ 配列番号 7 7、配列番号 8 0 ～ 配列番号 1 4 3、配列番号 1 5 8 ～ 配列番号 1 5 9、若しくは配列番号 1 6 6 ～ 配列番号 1 7 9 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、若しくは 9 9 % 同一のアミノ酸配列、又は、

b) 配列番号 2、配列番号 1 7 ～ 配列番号 3 1、配列番号 7 2 ～ 配列番号 7 7、配列番号 8 0 ～ 配列番号 1 4 3、配列番号 1 5 8 ～ 配列番号 1 5 9、又は配列番号 1 6 6 ～ 配列番号 1 7 9 のアミノ酸配列、

を含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 7】

少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 99、配列番号 143 又は配列番号 158 のアミノ酸配列を含む、請求項 1～6 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 8】

2 つの V H H ドメインを含む、請求項 1～7 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 9】

3 つの V H H ドメインを含む、請求項 1～7 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 10】

免疫細胞活性化サイトカインを含む、請求項 1～9 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

10

【請求項 11】

前記免疫細胞活性化サイトカインは、 $\gamma \delta$ T 細胞に結合する V H H ドメインの N 末端又は C 末端に融合している、請求項 10 に記載のポリペプチド。

【請求項 12】

前記免疫細胞活性化サイトカインは、I L - 2、I L - 15、I L - 7、I L - 6、I L - 12、I F N α 、I F N β 、若しくは I F N γ 、又はそれらの弱毒化型若しくは改変型である、請求項 10 又は 11 に記載のポリペプチド。

【請求項 13】

F c 領域を含む、請求項 1～12 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

20

【請求項 14】

前記 F c 領域は、配列番号 32～配列番号 70 から選択されるアミノ酸配列を含み、任意に、前記 F c 領域は、C 末端リジン残基を欠く、請求項 13 に記載のポリペプチド。

【請求項 15】

免疫細胞活性化サイトカインを含む、請求項 13 又は 14 に記載のポリペプチド。

【請求項 16】

前記免疫細胞活性化サイトカインは、I L - 2、I L - 15、I L - 7、I L - 6、I L - 12、I F N α 、I F N β 、若しくは I F N γ 、又はそれらの弱毒化型若しくは改変型である、請求項 15 に記載のポリペプチド。

【請求項 17】

前記免疫細胞活性化サイトカインは、前記 F c 領域の C 末端に融合している、請求項 16 に記載のポリペプチド。

30

【請求項 18】

$\gamma \delta$ T C R 以外の抗原に結合する少なくとも 1 つの抗原結合ドメインを含む、請求項 1～17 のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項 19】

L a g 3、T G F B R 1、T G F B R 2、F a s、T N F R 2、1 - 92 - L F A - 3、5 T 4、 α 4 インテグリン、 α V インテグリン、 α 4 β 1 インテグリン、 α 4 β 7 インテグリン、A G R 2、抗ルイス Y、アペリン J 受容体、A P R I L、B 7 - H 3、B 7 - H 4、B 7 - H 6、B A F F、B C M A、B T L A、補体 C 5、C - 242、C A 9、C A 19 - 9、(ルイス a)、炭酸脱水酵素 9、C D 2、C D 3、C D 6、C D 9、C D 11 a、C D 19、C D 20、C D 22、C D 24、C D 25、C D 27、C D 28、C D 30、C D 33、C D 38、C D 39、C D 40、C D 40 L、C D 41、C D 44、C D 44 v 6、C D 47、C D 51、C D 52、C D 56、C D 64、C D 70、C D 71、C D 73、C D 74、C D 80、C D 81、C D 86、C D 95、C D 117、C D 123、C D 125、C D 132、(I L - 2 R G)、C D 133、C D 137、C D 138、C D 166、C D 172 A、C D 248、C D H 6、C E A C A M 5 (C E A)、C E A C A M 6 (N C A - 90)、クローディン 3、クローディン 4、c M e t、コラーゲン、C r i p t o、C S F R、C S F R - 1、C T L A 4、C T G F、C X C L 10、C X C L 13、C X C R 1、C X C R 2、C X C R 4、C Y R 61、D L 44、D L K 1、

40

50

DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRv i i i、エンドセリンB受容体(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FcRH5、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体 α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIB/IIIa受容体、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GPCR5D、GRP78、HAVCAR1、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IgE、IgE受容体(Fc ϵ RI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R β 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R(wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、Jaggedリガンド、Jagged 1、Jagged 2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、ルイスX、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、メソテリン、MICA、MICB、MRP4、MUC1、ムチン16(MUC16、CA-125)、Na/K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン、Notch受容体、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFR α 、PDGFR β 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGF β 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF α 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、TROP-2、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、又はWISP-3に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、請求項18に記載のポリペプチド。

10

20

30

【請求項20】

腫瘍細胞抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、実施形態18又は19に記載のポリペプチド。

【請求項21】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、VHHドメインである、請求項18～20のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項22】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する各抗原結合ドメインは、VHHドメインである、請求項21に記載のポリペプチド。

【請求項23】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、請求項18～21のいずれか一項に記載のポリペプチド。

40

【請求項24】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する各抗原結合ドメインは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、請求項23に記載のポリペプチド。

【請求項25】

第1のポリペプチドと第2のポリペプチドとを含む複合体であって、前記第1のポリペプチドは、請求項13～24のいずれか一項に記載のポリペプチドであり、前記第1のポリペプチドは、第1のFc領域を含み、前記第2のポリペプチドは、第2のFc領域を含み、前記第1のFc領域及び前記第2のFc領域は、同じか又は異なる、複合体。

50

【請求項 26】

前記第2のポリペプチドは、 $\gamma\delta$ TCRに結合する少なくとも1つのVHHドメイン、少なくとも1つの免疫細胞活性化サイトカイン、及び／又は $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、請求項25に記載の複合体。

【請求項 27】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する前記抗原結合ドメインが重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含む場合、前記重鎖可変領域は、前記第2のFc領域を含む重鎖定常領域に融合する、請求項26に記載の複合体。

【請求項 28】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、Lag3、TGFB β 1、TGFB β 2、Fas、TNFR2、PD1、PDL1、TIM3、1-92-LFA-3、5T4、 α 4インテグリン、 α Vインテグリン、 α 4 β 1インテグリン、 α 4 β 7インテグリン、AGR2、抗リスイ、アペリンJ受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、B7-H6、BAFF、BCMA、BTLA、補体C5、C-242、CA9、CA19-9、(リスイa)、炭酸脱水酵素9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD39、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD73、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、クローディン3、クローディン4、cMet、コラーゲン、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリンB受容体 (ETBR)、ENPP3、EPCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FcRH5、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体 α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP1IIB/IIIA受容体、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GPCR5D、GRP78、HAVCAR1、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IgE、IgE受容体 (Fc ϵ RI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R β 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、Jaggedリガンド、Jagged1、Jagged2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、リスイX、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、メソテリン、MICA、MICB、MRP4、MUC1、ムチン16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン、Notch受容体、Notch1、Notch2、Notch3、Notch4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFR α 、PDGFR β 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFB β 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF α 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、TROP-2、uPAR、

10

20

30

40

50

V A P 1、V C A M-1、V E G F、V E G F-A、V E G F-B、V E G F-C、V E G F-D、V E G F R 1、V E G F R 2、V E G F R 3、V I S T A、W I S P-1、W I S P-2、又はW I S P-3に結合する、請求項26又は27に記載の複合体。

【請求項29】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインが結合し、前記ポリペプチドは、腫瘍細胞抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、実施形態26～28のいずれか一項に記載のポリペプチド。

【請求項30】

$\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、V H Hドメインである、実施形態26～29のいずれか一項に記載の複合体。

10

【請求項31】

前記第1のFc領域は、ノブ突然変異を含み、前記第2のFc領域は、ホール突然変異を含む、請求項27～30のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項32】

前記第1のFc領域は、T366W突然変異を含み、前記第2のFc領域は、T366S、L368A、及びY407V突然変異を含む、請求項31に記載の複合体。

【請求項33】

前記第2のFc領域は、H435R又はH435K突然変異を含む、請求項32に記載の複合体。

【請求項34】

前記ポリペプチドは、生理学的条件下で二量体であるか、又は前記複合体は、生理学的条件下で形成される、請求項13～33のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体。

20

【請求項35】

前記 $\gamma\delta$ TCRは、ヒト $\gamma\delta$ TCRである、請求項1～34のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体。

【請求項36】

前記V H Hドメインは、ヒト γ 9及びヒト δ 2を含むヒト $\gamma\delta$ TCRに結合する、請求項1～35のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体。

【請求項37】

請求項1～36のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体と、細胞傷害性物質とを含む免疫複合体。

30

【請求項38】

前記細胞傷害性物質は、カリケアマイシン、アウリスタチン、ドラスタチン、ツブリシン、メイタンシノイド、クリプトフィシン、ズオカルマイシン、エスペラミシン、ピロロベンゾジアゼピン、及びエンジン抗生物質から選択される、請求項37に記載の免疫複合体。

【請求項39】

請求項1～36のいずれか一項に記載のポリペプチド若しくは複合体、又は請求項37若しくは38に記載の免疫複合体と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

40

【請求項40】

請求項1～36のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体をコードする単離された核酸。

【請求項41】

請求項40に記載の核酸を含むベクター。

【請求項42】

請求項40に記載の核酸又は請求項41に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項43】

請求項1～36のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体を発現する宿主細胞。

【請求項44】

50

請求項 1～36 のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体を生産する方法であって、前記ポリペプチド又は複合体の発現に適した条件下で請求項 42 又は 43 に記載の宿主細胞をインキュベートすることを含む、方法。

【請求項 45】

前記ポリペプチド又は複合体を単離することを更に含む、請求項 44 に記載の方法。

【請求項 46】

γ δ T 細胞の増殖を増加させる方法であって、T 細胞を請求項 1～36 のいずれか一項に記載のポリペプチド又は複合体と接触させることを含む、方法。

【請求項 47】

前記 γ δ T 細胞は、*in vitro* で存在する、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 48】

前記 γ δ T 細胞は、*in vivo* で存在する、請求項 46 に記載の方法。

【請求項 49】

癌を治療する方法であって、癌を伴う被験体に請求項 1～36 のいずれか一項に記載のポリペプチド若しくは複合体、又は請求項 39 に記載の医薬組成物を薬学的有効量、投与することを含む、方法。

【請求項 50】

前記癌は、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃部癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮又は子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B 細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性 NHL、中悪性度びまん性 NHL、高悪性度免疫芽球性 NHL、高悪性度リンパ芽球性 NHL、高悪性度小型非分割細胞 NHL、巨大病変 NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS 関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、並びに慢性骨髄芽球性白血病から選択される、請求項 49 に記載の方法。

【請求項 51】

追加の療法剤を投与することを更に含む、請求項 49 又は 50 に記載の方法。

【請求項 52】

前記追加の療法剤は、抗癌剤である、請求項 51 に記載の方法。

【請求項 53】

前記抗癌剤は、化学療法剤、抗癌生物製剤、放射線療法薬、CAR-T 療法薬、及び腫瘍溶解性ウイルスから選択される、請求項 52 に記載の方法。

【請求項 54】

前記追加の療法剤は、抗癌生物製剤である、請求項 51～53 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 55】

前記抗癌生物製剤は、PD-1 及び／又は PD-L1 を阻害する作用物質である、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 56】

前記抗癌生物製剤は、VISTA、gpNMB、B7H3、B7H4、HHLA2、CTLA4、又は TIGIT を阻害する作用物質である、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 57】

前記抗癌剤は、抗体である、請求項 52～56 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 58】

前記抗癌生物製剤は、サイトカインである、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 59】

前記抗癌剤は、CAR-T療法薬である、請求項52又は53に記載の方法。

【請求項 60】

前記抗癌剤は、腫瘍溶解性ウイルスである、請求項52又は53に記載の方法。

【請求項 61】

腫瘍切除及び／又は放射線療法を更に含む、請求項49～60のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

〔関連出願の相互参照〕

本願は、2022年1月5日付で出願された米国仮出願第63／296,774号及び2022年10月20日付で出願された米国仮出願第63／417,926号の優先権の利益を主張し、その全体があらゆる目的で引用することにより本明細書の一部をなす。

【0002】

本発明は、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチド、及び $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを使用して $\gamma\delta$ T細胞の生物学的活性を調節する方法に関する。そのような方法には、限定されるものではないが、癌を治療する方法が含まれる。幾つかの実施の形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドと、 $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合するポリペプチドとを含む融合ポリペプチドである。

【背景技術】

【0003】

T細胞の活性化は、IL-2、IL-15、IL-7、IL-6、IL-12、IFN α 、IFN β 、及びIFN γ 等の他の分子によっても制御される。活性化T細胞自体によって合成及び分泌されるサイトカインインターロイキン-2 (IL-2) は、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖及び細胞溶解活性を調節する多面的サイトカインである。IL-2は、T細胞表面上の3つのサブユニット (IL-2 α 、IL-2 β 、及び γ c) から構成される高親和性受容体に結合する。IL-2受容体複合体を介したシグナル伝達は、T細胞の細胞分裂を進行させ、活性化T細胞のクローン性増殖を推進する。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

活性化分子を $\gamma\delta$ T細胞に特異的に標的化し、細胞傷害性 $\gamma\delta$ T細胞応答の効力及び選択性を増大させることができる $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0005】

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチド、及び $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを使用して、例えば癌を治療する方法が本明細書で提供される。幾つかの実施の形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、1つ以上の付加的な結合ドメイン及び／又はサイトカイン配列を含む。或る特定の番号付けされた実施の形態を以下に提示する。

【0006】

実施の形態1. $\gamma\delta$ TCRに結合する少なくとも1つのVHHドメインを含むポリペプチドであって、少なくとも1つのVHHドメインは、配列番号3、配列番号144、配列番号145、配列番号146、配列番号147、配列番号148、又は配列番号149のアミノ酸配列を含むCDR1、配列番号4、配列番号150、配列番号151、配列番号152、配列番号153、配列番号154、配列番号155、又は配列番号156のアミノ酸配列を含むCDR2、及び配列番号5のアミノ酸配列を含むCDR3を含む、ポリペプチド。

【0007】

実施の形態2. 少なくとも1つのVHHドメインは、配列番号3、配列番号4、及び

10

20

30

40

50

配列番号 5 ; 配列番号 1 4 4、配列番号 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 1 4 5、配列番号 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 1 4 6、配列番号 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 1 4 7、配列番号 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 1 4 8、配列番号 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 1 4 9、配列番号 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 3、配列番号 1 5 0、及び配列番号 5 ; 配列番号 3、配列番号 1 5 1、及び配列番号 5 ; 配列番号 3、配列番号 1 5 2、及び配列番号 5 ; 配列番号 3、配列番号 1 5 3、及び配列番号 5 ; 配列番号 3、配列番号 1 5 4、及び配列番号 5 ; 配列番号 3、配列番号 1 5 5、及び配列番号 5 ; 又は配列番号 3、配列番号 1 5 6、及び配列番号 5 のアミノ酸配列をそれぞれ含む C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む、実施の形態 1 に記載のポリペプチド。

【 0 0 0 8 】

実施の形態 3 . 少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R 1、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R 2、及び配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R 3 を含む、実施の形態 1 又は 2 に記載のポリペプチド。

【 0 0 0 9 】

実施の形態 4 . 少なくとも 1 つの V H H ドメイン又は各 V H H ドメインは、ヒト化されている、実施の形態 1 ~ 3 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【 0 0 1 0 】

実施の形態 5 . 少なくとも 1 つの V H H ドメインは、配列番号 1 8 0 を含み、ここで、X₁、X₂、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₅、X₂₆、及び X₂₇ は、独立して選択され、

X₁ は V 又は A であり、

X₂ は R 又は G であり、

X₃ は K 又は T であり、

X₄ は I 又は F であり、

X₅ は Q、G 又は E であり、

X₆ は R 又は L であり、

X₇ は L、W 又は F であり、

X₈ は A 又は S であり、

X₉ は H 又は A であり、

X₁₀ は T 又は S であり、

X₁₁ は D 又は G であり、

X₁₂ は A 又は S であり、

X₁₃ は A 又は T であり、

X₁₄ は E 又は Y であり、

X₁₅ は V 又は A であり、

X₁₆ は D、E、A、G、V、S、Y、L 又は Q であり、

X₁₇ は S、P、T、A、V、L、I、又は G であり、

X₁₈ は G 又は D であり、

X₁₉ は S 又は N であり、

X₂₀ は T 又は A であり、

X₂₁ は A 又は T であり、

X₂₂ は V 又は L であり、

X₂₃ は N 又は S であり、

X₂₄ は K 又は Y であり、

X₂₅ は N、S、E、Y、A、S、G、Q であり、

X₂₆ は S、T、A、L、V、N 又は G であり、

X₂₇ は K、R、E、又は D である、

実施の形態 1 ~ 4 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【 0 0 1 1 】

実施の形態 6. 少なくとも 1 つの VHHドメインは、配列番号 180 を含み、ここで X₃ は K であり、X₁、X₂、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₅、X₂₆、及び X₂₇ は、独立して選択され、

X₁ は V 又は A であり、

X₂ は R 又は G であり、

X₄ は I 又は F であり、

X₅ は Q、G 又は E であり、

X₆ は R 又は L であり、

X₇ は L、W 又は F であり、

X₈ は A 又は S であり、

X₉ は H 又は A であり、

X₁₀ は T 又は S であり、

X₁₁ は D 又は G であり、

X₁₂ は A 又は S であり、

X₁₃ は A 又は T であり、

X₁₄ は E 又は Y であり、

X₁₅ は V 又は A であり、

X₁₆ は D、E、A、L 又は Q であり、

X₁₇ は S、P、T、V、L、又は G であり、

X₁₈ は G 又は D であり、

X₁₉ は S 又は N であり、

X₂₀ は T 又は A であり、

X₂₁ は A 又は T であり、

X₂₂ は V 又は L であり、

X₂₃ は N 又は S であり、

X₂₄ は K 又は Y であり、

X₂₅ は N 又は S であり、

X₂₆ は S、T、又は G であり、

X₂₇ は K、R、E、又は D である、

実施の形態 1 ～ 4 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0012】

実施の形態 7. 少なくとも 1 つの VHHドメインは、配列番号 180 を含み、ここで X₂ は R であり、X₂₅ は N であり、X₁、X₃ は K であり、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₆、及び X₂₇ は、独立して選択され、

X₁ は V 又は A であり、

X₄ は I 又は F であり、

X₅ は Q、G 又は E であり、

X₆ は R 又は L であり、

X₇ は L、W 又は F であり、

X₈ は A 又は S であり、

X₉ は H 又は A であり、

X₁₀ は T 又は S であり、

X₁₁ は D 又は G であり、

X₁₂ は A 又は S であり、

X₁₃ は A 又は T であり、

X₁₄ は E 又は Y であり、

X₁₅ は V 又は A であり、

X₁₆ は D、E、A 又は Q であり、
 X₁₇ は S、P 又は G であり、
 X₁₈ は G 又は D であり、
 X₁₉ は S 又は N であり、
 X₂₀ は T 又は A であり、
 X₂₁ は A 又は T であり、
 X₂₂ は V 又は L であり、
 X₂₃ は N 又は S であり、
 X₂₄ は K 又は Y であり、
 X₂₆ は S 又は T であり、
 X₂₇ は K、R、E、又は D である、

10

実施の形態 1～4 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0013】

実施の形態 8. 少なくとも 1 つの VHHDメインは、配列番号 180 を含み、ここで
 X₂ は R であり、X₃ は K であり、X₄ は I であり、X₉ は H であり、X₂₅ は N であり
 、X₁、X₅、X₆、X₇、X₈、X₁₀、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₆、及び X₂₇
 は、独立して選択され、

20

X₁ は V 又は A であり、
 X₅ は Q、G 又は E であり、
 X₆ は R 又は L であり、
 X₇ は L、W 又は F であり、
 X₈ は A 又は S であり、
 X₁₀ は T 又は S であり、
 X₁₁ は D 又は G であり、
 X₁₂ は A 又は S であり、
 X₁₃ は A 又は T であり、
 X₁₄ は E 又は Y であり、
 X₁₅ は V 又は A であり、
 X₁₆ は D、E 又は A であり、
 X₁₇ は S 又は P であり、
 X₁₈ は G 又は D であり、
 X₁₉ は S 又は N であり、
 X₂₀ は T 又は A であり、
 X₂₁ は A 又は T であり、
 X₂₂ は V 又は L であり、
 X₂₃ は N 又は S であり、
 X₂₄ は K 又は Y であり、
 X₂₆ は S 又は T であり、
 X₂₇ は K、R、E、又は D である、

30

実施の形態 1～4 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0014】

実施の形態 9. 少なくとも 1 つの VHHDメインは、配列番号 180 を含み、ここで
 、X₁ は V であり、X₂ は R であり、X₃ は K であり、X₄ は I であり、X₉ は H であり
 、X₁₀ は T であり、X₁₁ は D であり、X₁₂ は A であり、X₁₃ は A であり、X₁₄ は
 E であり、X₂₅ は N であり、X₅、X₆、X₇、X₈、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈
 、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₆、及び X₂₇ は、独立して選択
 され、

40

X₅ は Q、G 又は E であり、
 X₆ は R 又は L であり、

50

X₇ は L 又は W であり、
X₈ は A 又は S であり、
X₁₅ は V 又は A であり、
X₁₆ は D、E、又は A であり、
X₁₇ は S 又は P であり、
X₁₈ は G 又は D であり、
X₁₉ は S 又は N であり、
X₂₀ は T 又は A であり、
X₂₁ は A 又は T であり、
X₂₂ は V 又は L であり、
X₂₃ は N 又は S であり、
X₂₄ は K 又は Y であり、
X₂₆ は S 又は T であり、
X₂₇ は K、R、E、又は D であり、
実施の形態 1～4 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

10

20

30

40

50

【0015】

実施の形態 10. 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、又は配列番号 166～配列番号 179 のアミノ酸配列と少なくとも 85%、90%、95%、又は 99% 同一のアミノ酸配列を含む、実施の形態 1～9 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0016】

実施の形態 11. 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、又は配列番号 166～配列番号 179 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 1～10 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0017】

実施の形態 12. 少なくとも 1 つの VHH ドメインは、配列番号 99、配列番号 143 又は配列番号 158 のアミノ酸配列を含む、実施の形態 1～11 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0018】

実施の形態 13. 2 つの VHH ドメインを含む、実施の形態 1～12 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0019】

実施の形態 14. 3 つの VHH ドメインを含む、実施の形態 1～13 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0020】

実施の形態 15. 免疫細胞活性化サイトカインを含む、実施の形態 1～14 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0021】

実施の形態 16. 免疫細胞活性化サイトカインは、 $\gamma\delta$ T 細胞に結合する VHH ドメインの N 末端又は C 末端に融合している、実施の形態 15 に記載のポリペプチド。

【0022】

実施の形態 17. 免疫細胞活性化サイトカインは、IL-2、IL-15、IL-7、IL-6、IL-12、IFN α 、IFN β 、若しくは IFN γ 、又はそれらの弱毒化型若しくは改変型である、実施の形態 10 又は 16 に記載のポリペプチド。

【0023】

実施の形態 18. Fc 領域を含む、実施の形態 1～17 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0024】

実施の形態 19. Fc 領域は、配列番号 32～配列番号 70 から選択されるアミノ酸配列を含み、任意に、Fc 領域は、C 末端リジン残基を欠く、実施の形態 18 に記載のポリペプチド。

【0025】

実施の形態 20. 免疫細胞活性化サイトカインを含む、実施の形態 18 又は 19 に記載のポリペプチド。

【0026】

実施の形態 21. 免疫細胞活性化サイトカインは、IL-2、IL-15、IL-7、IL-6、IL-12、IFN α 、IFN β 、若しくは IFN γ 、又はそれらの弱毒化型若しくは改変型である、実施の形態 20 に記載のポリペプチド。

10

【0027】

実施の形態 22. 免疫細胞活性化サイトカインは、Fc 領域の C 末端に融合している、実施の形態 21 に記載のポリペプチド。

【0028】

実施の形態 23. $\gamma\delta$ TCR 以外の抗原に結合する少なくとも 1 つの抗原結合ドメインを含む、実施の形態 1～22 のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0029】

実施の形態 24. Lag3、TGFR1、TGFR2、Fas、TNFR2、1-92-LFA-3、5T4、 $\alpha 4$ インテグリン、 αV インテグリン、 $\alpha 4\beta 1$ インテグリン、 $\alpha 4\beta 7$ インテグリン、AGR2、抗ルイス Y、アペリン J 受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、B7-H6、BAFF、BCMA、BTLA、補体 C5、C-242、CA9、CA19-9、(ルイス a)、炭酸脱水酵素 9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD39、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD73、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、クローディン 3、クローディン 4、cMet、コラーゲン、Crypto、CSFR、CSFR-1、CTLA4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DLL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリン B 受容体 (ETBR)、ENPP3、EPCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV の F タンパク質、FAP、FcRH5、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体 α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIB/IIIa 受容体、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GPC5D、GRP78、HAVCAR1、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IgE、IgE 受容体 (Fc ϵ RI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R β 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、Jagged リガンド、Jagged 1、Jagged 2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、ルイス X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LYPD1、MCSP、メソテリン、MICA、MICB、MRP4、MUC1、ムチン 16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン、Notch 受容体、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、P

20

30

40

50

DGF-AA、PDGF-BB、PDGFR α 、PDGFR β 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、PIGF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGF β 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF α 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、TROP-2、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、又はWISP-3に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、実施の形態23に記載のポリペプチド。

10

【0030】

実施の形態25. 腫瘍細胞抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、実施の形態23又は24に記載のポリペプチド。

【0031】

実施の形態26. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、VHHドメインである、実施の形態23～25のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0032】

実施の形態27. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する各抗原結合ドメインは、VHHドメインである、実施の形態26に記載のポリペプチド。

20

【0033】

実施の形態28. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、実施の形態23～26のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0034】

実施の形態29. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する各抗原結合ドメインは、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、実施の形態28に記載のポリペプチド。

【0035】

実施の形態30. 第1のポリペプチドと第2のポリペプチドとを含む複合体であって、第1のポリペプチドは、実施の形態18～29のいずれか一形態に記載のポリペプチドであり、第1のポリペプチドは、第1のFc領域を含み、第2のポリペプチドは、第2のFc領域を含み、第1のFc領域及び第2のFc領域は、同じか又は異なる、複合体。

30

【0036】

実施の形態31. 第2のポリペプチドは、 $\gamma\delta$ TCRに結合する少なくとも1つのVHHドメイン、少なくとも1つの免疫細胞活性化サイトカイン、及び／又は $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、実施の形態30に記載の複合体。

【0037】

実施の形態32. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する抗原結合ドメインが重鎖可変領域と軽鎖可変領域とを含む場合、重鎖可変領域は、第2のFc領域を含む重鎖定常領域に融合する、実施の形態31に記載の複合体。

40

【0038】

実施の形態33. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、Lag3、TGFB β 1、TGFB β 2、Fas、TNFR2、1-92-LFA-3、5T4、 α 4インテグリン、 α Vインテグリン、 α 4 β 1インテグリン、 α 4 β 7インテグリン、AGR2、抗リイスY、アペリンJ受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、B7-H6、BAFF、BCMA、BTLA、補体C5、C-242、CA9、CA19-9、(リイスa)、炭酸脱水酵素9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、

50

CD30、CD33、CD38、CD39、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD73、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、クローディン3、クローディン4、cMet、コラーゲン、CripTo、CSFR、CSFR-1、CTLA4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリンB受容体 (ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FcrH5、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体 α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIB/IIIa受容体、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GPRC5D、GRP78、HAVCAR1、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IgE、IgE受容体 (Fc ϵ RI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R β 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、Jaggedリガンド、Jagged 1、Jagged 2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、ルイスX、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、メソテリン、MICA、MICB、MRP4、MUC1、ムチン16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン、Notch受容体、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFR α 、PDGFR β 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、PLGF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGF β 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF α 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、TROP-2、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、又はWISP-3に結合する、実施の形態31又は32に記載の複合体。

10

20

30

40

50

【0039】

実施の形態34. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインが結合し、ポリペプチドは、腫瘍細胞抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインを含む、実施の形態31～33のいずれか一形態に記載のポリペプチド。

【0040】

実施の形態35. $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する少なくとも1つの抗原結合ドメインは、VHHドメインである、実施の形態31～34のいずれか一形態に記載の複合体。

【0041】

実施の形態36. 第1のFc領域は、ノブ突然変異を含み、第2のFc領域は、ホール突然変異を含む、実施の形態32～35のいずれか一形態に記載の複合体。

【0042】

実施の形態37. 第1のFc領域は、T366W突然変異を含み、第2のFc領域は、T366S、L368A、及びY407V突然変異を含む、実施の形態36に記載の複

合体。

【0043】

実施の形態38. 第2のFc領域は、H435R又はH435K突然変異を含む、実施の形態37に記載の複合体。

【0044】

実施の形態39. ポリペプチドは、生理学的条件下で二量体であるか、又は複合体は、生理学的条件下で形成される、実施の形態18～38のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体。

【0045】

実施の形態40. $\gamma\delta$ TCRは、ヒト $\gamma\delta$ TCRである、実施の形態1～39のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体。 10

【0046】

実施の形態41. VHHドメインは、ヒト γ 9及びヒト δ 2を含むヒト $\gamma\delta$ TCRに結合する、実施の形態1～40のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体。

【0047】

実施の形態42. 実施の形態1～41のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体と、細胞傷害性物質とを含む免疫複合体。

【0048】

実施の形態43. 細胞傷害性物質は、カリケアマイシン、アウリスタチン、ドラスタチン、ツブリシン、メイタンシノイド、クリプトフィシン、ズオカルマイシン、エスペラミシン、ピロロベンゾジアゼピン、及びエンジン抗生物質から選択される、実施の形態42に記載の免疫複合体。 20

【0049】

実施の形態44. 実施の形態1～41のいずれか一形態に記載のポリペプチド若しくは複合体、又は実施の形態42若しくは43に記載の免疫複合体と、薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

【0050】

実施の形態45. 実施の形態1～41のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体をコードする単離された核酸。

【0051】

実施の形態46. 実施の形態45に記載の核酸を含むベクター。 30

【0052】

実施の形態47. 実施の形態45に記載の核酸又は実施の形態46に記載のベクターを含む宿主細胞。

【0053】

実施の形態48. 実施の形態1～41のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体を発現する宿主細胞。

【0054】

実施の形態49. 実施の形態1～40のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体を生産する方法であって、ポリペプチド又は複合体の発現に適した条件下で実施の形態47又は48に記載の宿主細胞をインキュベートすることを含む、方法。 40

【0055】

実施の形態50. ポリペプチド又は複合体を単離することを更に含む、実施の形態49に記載の方法。

【0056】

実施の形態51. $\gamma\delta$ T細胞の増殖を増加させる方法であって、T細胞を実施の形態1～41のいずれか一形態に記載のポリペプチド又は複合体と接触させることを含む、方法。

【0057】

実施の形態52. $\gamma\delta$ T細胞は、*in vitro*で存在する、実施の形態51に記載 50

載の方法。

【0058】

実施の形態53. $\gamma\delta$ T細胞は、*in vivo*で存在する、実施の形態51に記載の方法。

【0059】

実施の形態54. 癌を治療する方法であって、癌を伴う被験体に実施の形態1～41のいずれか一形態に記載のポリペプチド若しくは複合体、又は実施の形態44に記載の医薬組成物を薬学的有効量、投与することを含む、方法。

【0060】

実施の形態55. 癌は、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌、卵巣癌、脾臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃部癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮又は子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、並びに慢性骨髄芽球性白血病から選択される、実施の形態54に記載の方法。

10

20

【0061】

実施の形態56. 追加の療法剤を投与することを更に含む、実施の形態54又は55に記載の方法。

【0062】

実施の形態57. 追加の療法剤は、抗癌剤である、実施の形態56に記載の方法。

【0063】

実施の形態58. 抗癌剤は、化学療法剤、抗癌生物製剤、放射線療法薬、CAR-T療法薬、及び腫瘍溶解性ウイルスから選択される、実施の形態56に記載の方法。

30

【0064】

実施の形態59. 追加の療法剤は、抗癌生物製剤である、実施の形態56又は57に記載の方法。

【0065】

実施の形態60. 抗癌生物製剤は、PD-1及び／又はPD-L1を阻害する作用物質である、実施の形態59に記載の方法。

【0066】

実施の形態61. 抗癌生物製剤は、VISTA、gpNMB、B7H3、B7H4、HHLA2、CTLA4、又はTIGITを阻害する作用物質である、実施の形態59に記載の方法。

40

【0067】

実施の形態62. 抗癌剤は、抗体である、実施の形態57～61のいずれか一形態に記載の方法。

【0068】

実施の形態63. 抗癌生物製剤は、サイトカインである、実施の形態59に記載の方法。

【0069】

実施の形態64. 抗癌剤は、CAR-T療法薬である、実施の形態57又は58に記載の方法。

50

【0070】

実施の形態65. 抗癌剤は、腫瘍溶解性ウイルスである、実施の形態57又は58に記載の方法。

【0071】

実施の形態66. 腫瘍切除及び／又は放射線療法を更に含む、実施の形態54～65のいずれか一形態に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0072】

【図1】図1A、図1C、図1E、及び図1Gは、フローサイトメトリーによって評価した、親和性低下IL-2変異体IL-2__X又はIL-2__Yに連結した $\gamma\delta$ TCRに特異的な一価又は二価のシングルドメイン抗体による処理後の $\gamma\delta$ T細胞、NK細胞、及び $\alpha\beta$ T細胞における細胞内リン酸化STAT5染色の中央蛍光強度を示す図である。図1B、図1D、図1F、及び図1Hは、フローサイトメトリーによって評価した、親和性低下IL-2変異体IL-2__X又はIL-2__Yに連結した $\gamma\delta$ TCRに特異的な一価又は二価のシングルドメイン抗体による処理後の $\gamma\delta$ T細胞、NK細胞、及び $\alpha\beta$ T細胞に対するリン酸化STAT5染色を有する細胞のパーセントを示す図である。

10

【図2】図2Aは、 $\gamma\delta$ TCR標的化低親和性IL-2__X (cx11005) 又は標的化されていない低親和性IL-2__X (cx9452) による処理に応答して増殖している $\gamma\delta$ T細胞の割合を示す図である。図2Bは、上記の被験物質による処理後の全細胞に対する $\gamma\delta$ T細胞の割合を示す図である。図2Cは、処理後に増殖している $\alpha\beta$ T細胞の割合を示す図であり、図2Dは、処理後の全細胞に対する $\alpha\beta$ T細胞の割合を示す図である。

20

【図3】図3Aは、フローサイトメトリーによって評価した、親和性低下IL-2変異体IL-2__X (cx11026) に連結した $\gamma\delta$ TCRに特異的な一価シングルドメイン抗体による処理後の $V\delta 2^+$ $\gamma\delta$ T細胞及び $\alpha\beta$ T細胞における細胞内リン酸化STAT5の中央蛍光強度を示す図である。図3Bは、フローサイトメトリーによって評価した、親和性低下IL-2変異体IL-2__Xに連結した $\gamma\delta$ TCRに特異的な一価シングルドメイン抗体による処理後の $V\delta 2^+$ $\gamma\delta$ T細胞及び $\alpha\beta$ T細胞におけるリン酸化STAT5染色を有する細胞のパーセントを示す図である。

【図4】図4Aは、CellTrace Violet希釈のフローサイトメトリー分析によって決定された、 $\gamma\delta$ TCR標的化低親和性IL-2__X (cx11026) 又は標的化されていない低親和性IL-2__X (cx9452) による処理に応答して増殖した $V\delta 2^+$ $\gamma\delta$ T細胞の割合を示す図である。図4Bは、処理後の全CD3⁺T細胞に対する $V\delta 2^+$ $\gamma\delta$ T細胞の割合を示す図である。

30

【図5】図5A、図5B、図5C、図5D、図5E、図5F、図5G、図5H、図5I、図5J、及び図5Kは、増加ヒト $V\delta 2^+$ $\gamma\delta$ T細胞に対してフローサイトメトリーによって評価した $\gamma\delta$ TCR結合VHHである1D7、及び一価VHH-hIgG1-Fc融合タンパク質としてフォーマットされたそのヒト化変異体の結合を示す図である。

【図6】図6A及び図6Bは、 $\gamma\delta$ TCR標的化IL-2分子(1D7xIL-2__X)によって増加させた $V\gamma 9V\delta 2$ T細胞による処理後のTHP-1(6A、左)、HT29(6A、右)、Daudi(6B、左上)、NCI-H460(6B、右上)、MM1S(6B、左下)、及びA375(6B、右下)細胞の標的細胞死滅曲線(経時的なカスパーゼ3/7-green及びcyto-ID redの重なりとしてプロットした)を示す図である。

40

【図7】図7A～図7Dは、 $\gamma\delta$ TCRxCD20二重特異性ポリペプチドの結合及び細胞死滅活性を示す図である。図7Aは、CD20発現Raji細胞への結合を示す。図7Bは、 $V\gamma 9V\delta 2$ T細胞への結合を示す。図7C及び図7Dは、 $\gamma\delta$ TCRxCD20二重特異性ポリペプチド、リツキシマブ類似体(リツキシマブ-an)で処理した又は非処理の新鮮分離(7C)及び増加(7D) $V\gamma 9V\delta 2$ T細胞によるRaji標的細胞の $\gamma\delta$ T細胞媒介死滅を示す図である。

50

【図 8】図 8 A～図 8 E は、 $\gamma\delta$ TCR $\times$ CD33 二重特異性ポリペプチドの結合及び細胞死滅活性を示す図である。図 8 A 及び図 8 B は、それぞれ CD33 発現 Mo1m-13 及び MV-411 細胞への結合を示す。図 8 C は、V γ 9V δ 2T 細胞への結合を示す。図 8 D 及び図 8 E は、 $\gamma\delta$ TCR $\times$ CD33 二重特異性ポリペプチド、非標的化 CD33 $\times$ UT ポリペプチドで処理した又は非処理の増加 V γ 9V δ 2T 細胞による MOLM-13 (8 D) 及び MV-411 (8 E) 標的細胞の $\gamma\delta$ T 細胞媒介死滅を示す。

【図 9】図 9 A～図 9 D は、細胞画像化システムを用いたカスパーゼ-3/7 活性化 (3 時間の時点を示す) (9 A 及び 9 B) 及び CellTiter-Glo アッセイを用いた細胞生存 (9 C 及び 9 D) によって評価した、5T4+細胞株である A375 (9 A 及び 9 C) の抗原依存性の $\gamma\delta$ T 細胞媒介細胞傷害作用を誘発するが、5T4-細胞株である A375 Δ 5T4 細胞 (9 B 及び 9 D) では誘発しない、 $\gamma\delta$ TCR $\times$ 5T4 構築物の能力を示す図である。EC50 値 (nM) の表を図 9 A 及び図 9 C に提示する。

【図 10】図 10 A～図 10 F は、カニクイザル $\gamma\delta$ TCR との交差反応性を示す図である。図 10 A は、カニクイザル V γ 9+ $\gamma\delta$ T 細胞上でフローサイトメトリーによって評価した $\gamma\delta$ TCR 結合 VHH である 1D7、及び二価 VHH-hIgG1-xELLFc 融合タンパク質としてフォーマットされたヒト化変異体 1D7v9 の結合を示す。図 10 B は、フローサイトメトリーによって評価した、親和性低下 IL-2 変異体 (cx11026) に連結した一価 $\gamma\delta$ TCR による処理後の 3 匹のドナーに由来するカニクイザル $\gamma\delta$ T 細胞及び $\alpha\beta$ T 細胞に対するリン酸化 STAT5 染色を有する細胞のパーセントを示す。図 10 C 及び図 10 E は、2 匹の異なるカニクイザルドナーに由来する一価 $\gamma\delta$ TCR 標的化低親和性 IL-2__X (cx11026:1D7xIL-2__X) 又は標的化されていない低親和性 IL-2__X (cx9452:UTxIL-2__X) による処理に応答して増殖しているカニクイザル $\gamma\delta$ T 細胞の割合を示す。図 10 D 及び図 10 F は、これらのドナーにおいて上記の被験物質による処理後の全細胞に対する $\gamma\delta$ T 細胞の割合を示す。

【図 11】図 11 A～図 11 C は、親抗 $\gamma\delta$ TCR VHH 1D7 (配列番号 2) と、フローサイトメトリーによって決定された 100 nM の結合親和性 (K_D) を有するヒト化 1D7 変異体 (表 2 を参照されたい) との配列アラインメントを示す図である。図 11 D は、親抗 $\gamma\delta$ TCR VHH 1D7 (配列番号 2) と、アラインメントされるヒト化 1D7 変異体を表すコンセンサス配列 (配列番号 180) との配列アラインメントを示す図である。

【図 12】図 12 A 及び図 12 B は、 $\gamma\delta$ T 細胞結合ポリペプチドの 8 つの非限定的な例示的フォーマットを示す図である。図 12 A 第 1 のフォーマットは、例示的な二重特異性の一価抗 $\gamma\delta$ T 細胞 $\times$ 抗原構築物を示し、これは、抗抗原 VHH ドメイン ($\gamma\delta$ TCR 以外の抗原に対して特異性を有する) 及び Fc 領域を含む第 1 のポリペプチドと、抗 $\gamma\delta$ TCR VHH ドメイン及び Fc 領域を含む第 2 のポリペプチドとを含む複合体である。第 2 のフォーマットは、単一のサイトカインポリペプチド (例えば、修飾 IL-2 ポリペプチド) を有する例示的な二重特異性の一価抗 $\gamma\delta$ T 細胞 $\times$ 抗原構築物を示し、これは、抗抗原 VHH ドメイン ($\gamma\delta$ TCR 以外の抗原に対して特異性を有する) 及び Fc 領域を含む第 1 のポリペプチドと、抗 $\gamma\delta$ TCR VHH ドメイン、Fc 領域、及びサイトカインポリペプチドを含む第 2 のポリペプチドとを含む複合体である。第 3 のフォーマットは、例示的な二重特異性の一価抗 $\gamma\delta$ T 細胞 $\times$ 抗原構築物を示し、これは、Fc 領域を含む第 1 のポリペプチドと、抗抗原 VHH ドメイン ($\gamma\delta$ TCR 以外の抗原に対して特異性を有する)、抗 $\gamma\delta$ TCR VHH ドメイン及び Fc 領域を含む第 2 のポリペプチドとを含む複合体である。第 4 のフォーマットは、例示的な二価抗 $\gamma\delta$ T 細胞構築物を示し、これは、抗抗原 VHH ドメイン ($\gamma\delta$ TCR 以外の抗原に対して特異性を有する) 及び抗 $\gamma\delta$ TCR VHH を含む単一のポリペプチドである。第 5 のフォーマットは、単一のサイトカインポリペプチド (例えば、修飾 IL-2 ポリペプチド) を有する例示的な二価抗 $\gamma\delta$ T 細胞構築物を示し、これは、抗抗原 VHH ドメイン ($\gamma\delta$ TCR 以外の抗原に対して特異性を有する)、抗 $\gamma\delta$ TCR VHH、及びサイトカインポリペプチドを含む単一のポ

リペプチドである。図 1 2 B 第 1 のフォーマットは、例示的な三重特異性構築物を示し、これは、2つの抗抗原 V H Hドメイン（ $\gamma \delta$ T C R 以外の 2つの異なる抗原に対して特異性を有する）及び F c 領域を含む第 1 のポリペプチドと、抗 $\gamma \delta$ T C R V H Hドメイン、及び F c 領域を含む第 2 のポリペプチドとを含む複合体である。第 2 のフォーマットは、例示的な三重特異性構築物を示し、これは、抗抗原 V H Hドメイン（ $\gamma \delta$ T C R 以外の抗原に対して特異性を有する）及び F c 領域を含む第 1 のポリペプチドと、異なる抗抗原 V H Hドメイン（ $\gamma \delta$ T C R 以外の異なる抗原に対して特異性を有する）、抗 $\gamma \delta$ T C R V H Hドメイン、及び F c 領域を含む第 2 のポリペプチドとを含む複合体である。第 3 のフォーマットは、例示的な三重特異性構築物を示し、これは、2つの抗抗原 V H Hドメイン（ $\gamma \delta$ T C R 以外の 2つの異なる抗原に対して特異性を有する）及び抗 $\gamma \delta$ T C R V H Hを含む単一のポリペプチドである。タンデム V H Hドメインの順序は変化してもよい。同様に、2つのポリペプチド鎖を含む分子について、V H Hドメインは、いずれの鎖に位置していてもよい。

10

【発明を実施するための形態】

【0073】

本明細書に示される実施形態は、 $\gamma \delta$ T細胞結合ポリペプチド、及び、例えば、癌を治療する様々な方法におけるそれらの使用に関する。

【0074】

定義及び様々な実施形態

本明細書に使用されるセクションの見出しは編成のみを目的とし、記載される主題を限定すると解釈されるものではない。

20

【0075】

特許出願、特許公報、及び G e n b a n k アクセション番号を含む本明細書で引用される全ての参考文献は、各個別の参考文献が、引用することによりその全体が本明細書の一部をなすと具体的かつ個別に示されているかのように、引用することにより本明細書の一部をなす。

【0076】

本明細書に記載又は参照される技術及び手順は、一般に十分に理解されており、通常、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)), the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.), PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL、及びANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney, ed. (1987)), Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984)、Methods in Molecular Biology, Humana Press、Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press、Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987)、Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press、Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell eds., 1993-8) J. Wiley and Sons、Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.)、Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987)、PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)、Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al. eds., 1991)、Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)、Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997)、Antibodies (P. Finch, 1997)、Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)、Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2

30

40

50

000)、Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)、The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)、及びCancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)並びにそれらの最新版に記載される広く利用されている方法論等の当業者による慣例的な方法論を用いて使用される。

【0077】

別段の規定がない限り、本開示に関連して使用される科学用語及び技術用語は、当業者によって一般に理解される意味を有するものとする。さらに、文脈により別段の要求がない限り、又は明白に特段の指示がない限り、単数名辞は複数を含み、複数名辞は単数を含むものとする。様々な出典又は参考文献の間での定義の矛盾については、本明細書に示される定義が優先される。

【0078】

一般に、免疫グロブリン重鎖における残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)でのようなE Uインデックスの番号付けである。「K a b a tでのようなE Uインデックス」は、ヒトI g G 1 E U抗体の残基番号付けを指す。

【0079】

本明細書に記載される本発明の実施形態は、「からなる (consisting)」実施形態及び／又は「から本質的になる (consisting essentially of)」実施形態を含むと理解される。本明細書で使用される場合に、単数形 ("a", "an", and "the") は、特段の指示がない限り複数の参照を含む。本明細書での「又は」という用語の使用は、選択肢が互いに排他的であることを意味すると解釈されない。

【0080】

本出願では、「又は」の使用は、明白に特段の指定がない限り又は当業者によって理解されない限り、「及び／又は」を意味する。多項従属請求項の文脈では、「又は」の使用は、2項以上の先行する独立請求項又は従属請求項を引用する。

【0081】

「参照試料」、「参照細胞」、又は「参照組織」という語句は、少なくとも1つの未知の特徴を有する試料との比較として使用され得る少なくとも1つの既知の特徴を有する試料を示す。幾つかの実施形態においては、参照試料は、陽性又は陰性の指標として使用され得る。参照試料を使用することで、未知の特徴を有する試料中に存在するタンパク質及び／又はmRNAのレベルに対して、例えば、健康な組織中に存在するタンパク質及び／又はmRNAのレベルを確立することができる。幾つかの実施形態においては、参照試料は、同じ被験体に由来するが、試験される部分とは異なる被験体の部分に由来する試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、癌を取り囲む又は癌に隣接する組織領域に由来する試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、試験される被験体に由来するものではなく、対象の障害を有する又は有しないことが既知の被験体に由来する試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、同じ被験体に由来するものであるが、被験体が癌を発症する前の時点での試料である。幾つかの実施形態においては、参照試料は、同じ被験体又は異なる被験体からの良性癌試料に由来する試料である。比較のために陰性参照試料が使用される場合に、陰性参照試料における対象の分子の発現レベル又は量は、当業者が本開示を考慮して、該分子が存在しない及び／又は低いレベルの該分子が存在することを認識するレベルを示す。比較のために陽性参照試料が使用される場合に、陽性参照試料における対象の分子の発現レベル又は量は、当業者が本開示を考慮して、或るレベルの該分子が存在することを認識するレベルを示す。

【0082】

療法剤の投与から恩恵を受ける又は療法剤の投与に応答するという文脈において本明細書で使用される「便益」、「臨床的便益」、「応答性」、及び「治療的応答性」という用

10

20

30

40

50

語は、様々なエンドポイント、例えば、減速及び完全な停止を含む疾患進行の或る程度の阻害、疾患エピソード及び／又は症状の数の減少、病変サイズの縮小、隣接する末梢器官及び／又は末梢組織内への疾患細胞浸潤の阻害（すなわち、減少、減速、又は完全な停止）、病気蔓延の阻害（すなわち、減少、減速、又は完全な停止）、障害に関連する1つ以上の症状の或る程度の軽減、治療後の無病提示、例えば無増悪生存期間の長さの増加、全生存期間の延長、より高い奏効率、及び／又は治療後の所与の時点での死亡率の低下を評価することによって推し量ることができる。「非応答性」又は「応答しない」被験体又は癌は、「応答する」という上記の条件を満たさないものである。

【0083】

「核酸分子」、「核酸」、及び「ポリヌクレオチド」という用語は、区別なく使用され、ヌクレオチドのポリマーを指し得る。そのようなヌクレオチドのポリマーは、天然及び／又は非天然のヌクレオチドを含み、限定されるものではないが、DNA、RNA、及びPNAを含み得る。「核酸配列」は、核酸分子又はポリヌクレオチドに含まれるヌクレオチドの線状配列を指す。

【0084】

「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために区別なく使用され、最小の長さに限定されない。そのようなアミノ酸残基のポリマーは、天然又は非天然のアミノ酸残基を含み、限定されるものではないが、ペプチド、オリゴペプチド、アミノ酸残基の二量体、三量体、及び多量体を含み得る。この定義には、完全長タンパク質及びその断片の両方が含まれる。これらの用語はまた、ポリペプチドの発現後修飾、例えば、グリコシル化、シアル化、アセチル化、リン酸化等を含む。さらに、本開示の目的で、「ポリペプチド」は、タンパク質が所望の活性を維持する限り、天然配列に対する欠失、付加、及び置換等の修飾（一般に性質について保存的）を含むタンパク質を指す。これらの修飾は、部位特異的突然変異誘発によるような意図的なものであり得る、又はタンパク質を産生する宿主の突然変異若しくはPCR増幅によるエラーによるような偶発的なものであり得る。

【0085】

抗原又はエピトープに「特異的に結合する」という用語は、当該技術分野で十分に理解されている用語であり、そのような特異的な結合を決定する方法も当該技術分野で十分に知られている。別の細胞又は物質と反応又は会合するよりも特定の細胞又は物質とより頻繁に、より迅速に、より長い持続時間及び／又はより高い親和性で反応又は会合する場合に、分子は「特異的な結合」又は「優先的な結合」を示すと言及される。シングルドメイン抗体（sdAb）又はVHH含有ポリペプチドは、他の物質に結合するよりも高い親和性、アビディティーで、より容易に、及び／又はより長い持続時間で結合する場合に、標的に「特異的に結合」又は「優先的に結合」する。例えば、 $\gamma\delta$ T細胞に特異的に又は優先的に結合するsdAb又はVHH含有ポリペプチドは、他の $\gamma\delta$ T細胞又は非 $\gamma\delta$ T細胞に結合するよりも高い親和性、アビディティーで、より容易に、及び／又はより長い持続時間でこのエピトープに結合するsdAb又はVHH含有ポリペプチドである。また、この定義を解釈することにより、例えば、第1の標的に特異的又は優先的に結合するsdAb又はVHH含有ポリペプチドが、第2の標的に特異的又は優先的に結合し得る又は結合し得ないことも理解される。したがって、「特異的な結合」又は「優先的な結合」は、排他的な結合を（含み得るものの）必ずしも必要としない。一般に、必ずしもそうとは限らないが、結合への言及は優先的な結合を意味する。「特異性」は、結合性タンパク質が抗原に選択的に結合する能力を指す。

【0086】

「阻害」又は「阻害する」という用語は、任意の表現型特徴の減少若しくは停止、又はその特徴の発生率、程度、若しくは可能性の減少若しくは停止を指す。「低減する」又は「阻害する」とは、参照と比較して、活性、機能、及び／又は量を減少させる、低減する、又は停止することである。幾つかの実施形態においては、「低減する」又は「阻害する」とは、10%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態にお

10

20

30

40

50

いては、「低減する」又は「阻害する」とは、50%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態においては、「低減する」又は「阻害する」とは、75%、85%、90%、95%以上の全体的な減少を引き起こす能力を意味する。幾つかの実施形態においては、上記の量は、或る期間にわたって、同じ期間にわたるコントロールに対して阻害又は減少される。

【0087】

本明細書で使用される場合に、「直接阻害」という用語及び類似の用語は、抗体濃度の増加が阻害の増大をもたらす阻害プロファイルを指す。幾つかの実施形態においては、或る特定の濃度の後に、最大阻害に達し、阻害プロファイルがプラトーになる。最大阻害は100%の阻害である必要はなく、少なくとも50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、又は90%であってもよい。

10

【0088】

本明細書で使用される場合に、「エピトープ」という用語は、抗原結合分子（例えば、s d A b又はV H H含有ポリペプチド）が結合する標的分子（例えば、タンパク質、核酸、炭水化物、又は脂質等の抗原）上の部位を指す。エピトープは、しばしば、アミノ酸、ポリペプチド、又は糖側鎖等の分子の化学的に活性な表面編成物を含み、特定の三次元構造的特徴及び特定の電荷特徴を有する。エピトープは、標的分子の連続残基及び／又は並置された非連続残基（例えば、アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質部分）の両方から形成され得る。連続残基（例えば、アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質部分）から形成されるエピトープは、通常、変性溶剤への曝露で保持されるが、三次フォールディングにより形成されるエピトープは、通常、変性溶剤による処理で失われる。エピトープは、限定されるものではないが、少なくとも3個、少なくとも5個、又は8個～10個の残基（例えば、アミノ酸又はヌクレオチド）を含み得る。幾つかの実施形態においては、エピトープは、20残基（例えば、アミノ酸又はヌクレオチド）未満、15残基未満、又は12残基未満の長さである。2つの抗体は、それらが抗原に対して競合的結合を示す場合に、抗原内の同じエピトープに結合し得る。幾つかの実施形態においては、エピトープは、抗原結合分子上のC D R残基との或る特定の最小距離によって特定され得る。幾つかの実施形態においては、エピトープは、上記距離によって特定され得て、抗原結合分子の残基と抗原残基との間の結合（例えば、水素結合）に関与するそれらの残基に更に限定され得る。エピトープは、様々なスキャンによっても同様に特定され得る。例えば、アラニンスキャン又はアルギニンスキャンは、抗原結合分子が相互作用し得る1つ以上の残基を示すことができる。明示的に示されない限り、エピトープとしての残基のセットは、特定の抗原結合分子に対するエピトープの一部であることから他の残基を除外するものではない。むしろ、そのようなセットの存在は、最小のエピトープの列（又は種類のセット）を示す。したがって、幾つかの実施形態においては、エピトープとして特定された残基のセットは、抗原上のエピトープについての残基の排他的リストではなく、抗原に関連する最小のエピトープを示す。

20

30

【0089】

「非線状エピトープ」又は「立体構造エピトープ」は、エピトープに特異的な抗原結合分子が結合する抗原性タンパク質内の非連続的なポリペプチド、アミノ酸及び／又は糖を含む。幾つかの実施形態においては、少なくとも1つの残基がエピトープの他の示された残基と非連続的であるが、1つ以上の残基が他の残基と連続的である場合もある。

40

【0090】

「線状エピトープ」は、エピトープに特異的な抗原結合分子が結合する抗原性タンパク質内の連続的なポリペプチド、アミノ酸及び／又は糖を含む。幾つかの実施形態においては、線状エピトープ内の残基の全てが、抗原結合分子によって直接的に結合される（又は結合に関与する）必要があるわけではないことに留意されたい。幾つかの実施形態においては、線状エピトープは、事実上線状エピトープの配列からなるペプチドによる免疫化に由来し得る、又はタンパク質の残部から相対的に分離されたタンパク質の構造区間に由来し得る（こうして、抗原結合分子は、少なくとも主として、まさにその配列区間と相互作用

50

用し得る)。

【0091】

「抗体」という用語は、最も広い意味で使用され、限定されるものではないが、慣例的な抗体(典型的には、少なくとも1つの重鎖及び少なくとも1つの軽鎖を含む)、シングルドメイン抗体(s d A b、少なくとも1つのV H Hドメイン及びF c領域を含む)、V H H含有ポリペプチド(少なくとも1つのV H Hドメインを含むポリペプチド)、及び所望の抗原結合活性を示す限り上述のいずれかのフラグメントを含む抗体様抗原結合ドメインを含む様々なポリペプチドを包含する。幾つかの実施形態においては、抗体は二量体化ドメインを含む。そのような二量体化ドメインとしては、限定されるものではないが、重鎖定常ドメイン(C H 1、ヒンジ、C H 2、及びC H 3を含み、C H 1は典型的には、軽鎖定常ドメインC Lと対をなす一方で、ヒンジは二量体化を介在する)及びF c領域(ヒンジ、C H 2、及びC H 3を含み、ヒンジは二量体化を介在する)が挙げられる。

10

【0092】

抗体という用語には、限定されるものではないが、キメラ抗体、ヒト化抗体、及びラクダ(ラマを含む)、サメ、マウス、ヒト、カニクイザル等の様々な種の抗体も含まれる。

【0093】

本明細書で使用される「抗原結合ドメイン」という用語は、抗原に結合するのに十分な抗体の部分指す。幾つかの実施形態においては、慣例的な抗体の抗原結合ドメインは、3つの重鎖C D R及び3つの軽鎖C D Rを含む。したがって、幾つかの実施形態においては、抗原結合ドメインは、C D R 1－F R 2－C D R 2－F R 3－C D R 3と、抗原への結合を維持するのに必要とされるF R 1及び／又はF R 4の任意の部分とを含む重鎖可変領域、並びにC D R 1－F R 2－C D R 2－F R 3－C D R 3と、抗原への結合を維持するのに必要とされるF R 1及び／又はF R 4の任意の部分とを含む軽鎖可変領域を含む。幾つかの実施形態においては、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの抗原結合ドメインは、V H Hドメインの3つのC D Rを含む。したがって、幾つかの実施形態においては、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの抗原結合ドメインは、C D R 1－F R 2－C D R 2－F R 3－C D R 3と、抗原への結合を維持するのに必要とされるF R 1及び／又はF R 4の任意の部分とを含むV H Hドメインを含む。

20

【0094】

本明細書で使用される「V H H」又は「V H Hドメイン」又は「V H H抗原結合ドメイン」という用語は、ラクダ抗体又はサメ抗体等のシングルドメイン抗体の抗原結合部分を指す。幾つかの実施形態においては、V H Hは、F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3、及びF R 4と表される3つのC D Rと4つのフレームワーク領域とを含む。幾つかの実施形態においては、V H Hは、V H Hが実質的に抗原結合及び特異性を維持する限り、部分的なF R 1及び／又はF R 4のみを含むように又はそれらのフレームワーク領域の一方若しくは両方を欠くように、N末端又はC末端で切断されていてもよい。

30

【0095】

「シングルドメイン抗体」及び「s d A b」という用語は、軽鎖及びF c領域を有しないV H Hドメイン等の少なくとも1つの単量体ドメインを含む抗体を指すために、本明細書において区別なく使用される。幾つかの実施形態においては、s d A bは、それぞれのポリペプチドが少なくとも1つのV H Hドメイン及びF c領域を含む2つのポリペプチドの二量体である。本明細書で使用される場合に、「シングルドメイン抗体」及び「s d A b」という用語は、多重V H Hドメインを含むポリペプチド、例えば、構造V H H₁－V H H₂－F c又はV H H₁－V H H₂－V H H₃－F cを有し、ここで、V H H₁、V H H₂、及びV H H₃が同じか又は異なる場合があるポリペプチドを包含する。

40

【0096】

「V H H含有ポリペプチド」という用語は、少なくとも1つのV H Hドメインを含むポリペプチドを指す。幾つかの実施形態においては、V H Hポリペプチドは、2つ、3つ、又は4つ以上のV H Hドメインを含み、ここで、各V H Hドメインは、同じ又は異なって

50

いてもよい。幾つかの実施形態においては、VHH含有ポリペプチドは、Fc領域を含む。幾つかのそのような実施形態においては、VHH含有ポリペプチドは、sdAbと称され得る。さらに、幾つかのそのような実施形態においては、VHHポリペプチドは、二量体を形成し得る。sdAbとも称されるVHH含有ポリペプチドの非限定的な構造としては、VHH₁-Fc、VHH₁-VHH₂-Fc、及びVHH₁-VHH₂-VHH₃-Fcが挙げられ、ここで、VHH₁、VHH₂、及びVHH₃は、同じ又は異なっている。そのような構造の幾つかの実施形態においては、或るVHHは、リンカーによって別のVHHに連結され得る、又は或るVHHは、リンカーによってFcに連結され得る。幾つかのそのような実施形態においては、リンカーは、1個〜20個のアミノ酸、好ましくは、主にグリシン及び任意にセリンから構成される1個〜20個のアミノ酸を含む。幾つかの実施形態においては、VHH含有ポリペプチドがFcを含む場合に、それは二量体を形成する。したがって、構造VHH₁-VHH₂-Fcは、それが二量体を形成する場合に、四価であるとみなされる（すなわち、二量体は4つのVHHドメインを有する）。同様に、構造VHH₁-VHH₂-VHH₃-Fcは、それが二量体を形成する場合に、六価であるとみなされる（すなわち、二量体は6つのVHHドメインを有する）。

10

20

30

40

50

【0097】

「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体集団の抗体（sdAb又はVHH含有ポリペプチドを含む）を指す。すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る天然に生じる可能性のある突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は非常に特異的であり、単一の抗原部位に対するものである。さらに、典型的には、異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対する抗体である。したがって、モノクローナル抗体の試料は、抗原上の同じエピトープに結合することができる。「モノクローナル」という修飾成句は、抗体の実質的に均一な集団から得られる抗体の性質を示し、何らかの特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、モノクローナル抗体は、Kohler and Milstein, 1975, Nature 256:495により最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得る、又は米国特許第4,816,567号に記載されるような組換えDNA法によって作製され得る。モノクローナル抗体はまた、例えば、McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554に記載される技術を使用して作製されたファージライブラリーから単離され得る。

【0098】

「CDR」という用語は、少なくとも1つの当業者に対する特定様式によって定義される相補性決定領域を示す。幾つかの実施形態においては、CDRは、Chothia番号付けスキーム、Kabatt番号付けスキーム、KabattとChothiaとの組合せ、AbM定義、及び／又は接触定義（contact definition）のいずれかに従って定義され得る。VHHは、CDR1、CDR2、及びCDR3と表される3つのCDRを含む。

【0099】

本明細書で使用される「重鎖定常領域」という用語は、少なくとも3つの重鎖定常ドメイン、すなわち、CH1、ヒンジ、CH2、及びCH3を含む領域を指す。当然ながら、ドメイン内の機能を変えない欠失及び改変は、特段の指定がない限り、「重鎖定常領域」という用語の範囲内に含まれる。非限定的な例示的な重鎖定常領域としては、γ、δ、及びαが挙げられる。非限定的な例示的な重鎖定常領域としては、ε及びμも挙げられる。それぞれの重鎖定常領域は、1つの抗体アイソタイプに対応する。例えば、γ定常領域を含む抗体はIgG抗体であり、δ定常領域を含む抗体はIgD抗体であり、α定常領域を含む抗体はIgA抗体である。さらに、μ定常領域を含む抗体はIgM抗体であり、ε定常領域を含む抗体はIgE抗体である。或る特定のアイソタイプは、更にサブクラスに細分化され得る。例えば、IgG抗体としては、限定されるものではないが、IgG1（γ₁定常領域を含む）抗体、IgG2（γ₂定常領域を含む）抗体、IgG3（γ₃定常領域を含む）抗体、及びIgG4（γ₄定常領域を含む）抗体が挙げられ、IgA抗体としては、限定されるものではないが、IgA1（α₁定常領域を含む）抗体及びIgA2（

α_2 定常領域を含む) 抗体が挙げられ、I g M 抗体としては、限定されるものではないが、I g M 1 及び I g M 2 が挙げられる。

【0100】

本明細書で使用される「Fc 領域」は、CH2 及び CH3 を含む重鎖定常領域の一部を指す。幾つかの実施形態においては、Fc 領域は、ヒンジ、CH2、及び CH3 を含む。様々な実施形態において、Fc 領域がヒンジを含む場合に、ヒンジは、2つのFc含有ポリペプチド間の二量体化を介在する。Fc 領域は、本明細書で論じられる任意の抗体重鎖定常領域アイソタイプのものであり得る。幾つかの実施形態においては、Fc 領域は、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4である。

【0101】

本明細書で使用される「アクセプターヒトフレームワーク」は、本明細書で論じられるように、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来する重鎖可変ドメイン(V_H)フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来するアクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含むことができる、又はアミノ酸配列の変化を含み得る。幾つかの実施形態においては、アミノ酸の変化の数は、V_{HH}等の単一の抗原結合ドメイン内の全てのヒトフレームワークにわたって10個未満、又は9個未満、又は8個未満、又は7個未満、又は6個未満、又は5個未満、又は4個未満、又は3個未満である。

【0102】

「親和性」は、分子(例えば、sdAb等の抗体又はV_{HH}含有ポリペプチド)の単一の結合部位及びその結合相手(例えば、抗原)の間の非共有結合的相互作用の合計の強さを指す。分子Xのその相手Yに対する親和性又は見かけの親和性は、一般に、それぞれ解離定数(K_D)又はK_D(見かけ)によって表すことができる。親和性は、本明細書に記載されている方法を含む、当該技術分野で既知の通常の方法(例えば、ELISA K_D、KinExA、フローサイトメトリー、及び/又は表面プラズモン共鳴デバイス等)によって測定され得る。このような方法としては、限定されるものではないが、BIAcore(商標)、Octet(商標)、又はフローサイトメトリーを要する方法が挙げられる。

【0103】

本明細書で使用される「K_D」という用語は、抗原結合分子/抗原相互作用の平衡解離定数を指す。本明細書で「K_D」という用語が使用される場合に、それには、K_D及びK_D(見かけ)が含まれる。

【0104】

幾つかの実施形態においては、抗原結合分子のK_Dは、フローサイトメトリーによって、抗原発現細胞システムを使用し、各抗体濃度で測定された平均蛍光を非線形1サイト結合方程式(graphpad社のPrism Software)にフィッティングして測定される。幾つかのそのような実施形態においては、K_DはK_D(見かけ)である。

【0105】

「生物学的活性」という用語は、分子の任意の1つ以上の生物学的特性(in vivoで見られるように天然に存在するか、又は組換え手段によって提供される若しくは可能となるかどうか)を指す。生物学的特性としては、限定されるものではないが、リガンドの結合、細胞増殖(T細胞増殖等)の誘導又は増加、及びサイトカインの発現の誘導又は増加が挙げられる。

【0106】

「アゴニスト」抗体又は「活性化」抗体は、標的抗原の生物学的活性を増加及び/又は活性化する抗体である。幾つかの実施形態においては、アゴニスト抗体は、抗原に結合し、その生物学的活性を少なくとも約20%、40%、60%、80%、85%以上増加させる。

【0107】

10

20

30

40

50

「アンタゴニスト」抗体、「ブロッキング」抗体、又は「中和」抗体は、標的抗原の生物学的活性を阻害、低下及び／又は不活性化する抗体である。幾つかの実施形態においては、中和抗体は、抗原に結合し、その生物学的活性を少なくとも約20%、40%、60%、80%、85%、90%、95%、99%以上低下させる。

【0108】

「親和性成熟」s d A b又はV H H含有ポリペプチドは、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの抗原に対する親和性に改善をもたらす改変を有しない親s d A b又はV H H含有ポリペプチドと比較して1つ以上のC D Rに1つ以上のそのような改変を有するs d A b又はV H H含有ポリペプチドを指す。

【0109】

本明細書で使用される「ヒト化V H H」は、1つ以上のフレームワーク領域が実質的にヒトフレームワーク領域で置き換えられたV H Hを指す。幾つかの場合には、ヒト免疫グロブリンの或る特定のフレームワーク領域（F R）残基が、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化V H Hは、当初のV H Hにもヒトフレームワーク配列にも見られないが、s d A b又はV H H含有ポリペプチドの性能を更に改良及び最適化するために含まれる残基を含み得る。幾つかの実施形態においては、ヒト化s d A b又はV H H含有ポリペプチドは、ヒトF c領域を含む。理解されるように、ヒト化配列は、その一次配列によって特定され得て、必ずしも抗体が作製された過程を示すわけではない。

【0110】

「エフェクター陽性F c領域」は、天然配列のF c領域の「エフェクター機能」を有する。例示的な「エフェクター機能」としては、F c受容体結合、C l q結合及び補体依存性細胞傷害作用（C D C）、F c受容体結合、抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用（A D C C）、食作用、細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方調節、並びにB細胞活性化等が挙げられる。このようなエフェクター機能は、一般に、F c領域を結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせることを要し、様々なアッセイを使用して評価することができる。

【0111】

「天然配列のF c領域」は、天然に見られるF c領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列のヒトF c領域としては、天然配列のヒトI g G 1 F c領域（非Aアロタイプ及びAアロタイプ）、天然配列のヒトI g G 2 F c領域、天然配列のヒトI g G 3 F c領域、及び天然配列のヒトI g G 4 F c領域、並びにそれらの天然に存在する変異体が挙げられる。

【0112】

「変異型F c領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により天然配列のF c領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、「変異型F c領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾により天然配列のF c領域のアミノ酸配列とは異なるが、天然配列のF c領域の少なくとも1つのエフェクター機能を保持するアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、変異型F c領域は、天然配列のF c領域又は親ポリペプチドのF c領域と比較して、天然配列のF c領域又は親ポリペプチドのF c領域において、少なくとも1個のアミノ酸置換、例えば、約1個～約10個のアミノ酸置換、好ましくは、約1個～約5個のアミノ酸置換を有する。幾つかの実施形態においては、本明細書の変異型F c領域は、天然配列のF c領域及び／又は親ポリペプチドのF c領域と少なくとも約80%の配列同一性、それらと少なくとも約90%の配列同一性、それらと少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、又は少なくとも約99%の配列同一性を有する。

【0113】

「F c受容体」又は「F c R」は、抗体のF c領域に結合する受容体を記載している。幾つかの実施形態においては、F c γ Rは、天然のヒトF c Rである。幾つかの実施形態においては、F c Rは、I g G抗体（ガンマ受容体）に結合するものであり、F c γ R Iサブクラス、F c γ R I Iサブクラス、及びF c γ R I I Iサブクラスの受容体であって

10

20

30

40

50

、これらの受容体のアレル変異体及び選択的スプライシングされた形態を含む受容体を含む。FcγRII受容体には、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「阻害受容体」）が含まれ、これらは同様のアミノ酸配列を有するが、主にその細胞質ドメインが異なる。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（ITAM）を含む。阻害受容体FcγRIIBは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ（ITIM）を含む（例えば、Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)を参照されたい）。FcRは、例えば、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)、Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994)、及びde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)でレビューされている。将来特定されるものを含む他のFcRは、本明細書では「FcR」という用語によって包含される。例えば、「Fc受容体」又は「FcR」という用語はまた、胎児性受容体FcRnを含み、これは、母体のIgGの胎児への移動（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及びKim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)）及び免疫グロブリンの恒常性の調節の役割を担う。FcRnへの結合を測定する方法は既知である（例えば、Ghetie and Ward, Immunol. Today 18(12):592-598 (1997)、Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15(7):637-640 (1997)、Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004)、国際公開第2004/92219号（Hintonら）を参照されたい）。

10

【0114】

本明細書で使用される「実質的に同様」又は「実質的に同じ」という用語は、当業者が2つ以上の値の間の差を、上記値によって測定される生物学的特徴の文脈内で生物学的意義及び／又は統計学的有意性が殆どない又は全くないとみなすような、2つ以上の数値の間の十分に高度な類似性を示す。幾つかの実施形態においては、2つ以上の実質的に同様の値は、5%、10%、15%、20%、25%、又は50%のいずれか1つの概数以下だけ異なる。

20

【0115】

ポリペプチド「変異体」とは、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後に、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮せずに、天然配列のポリペプチドと少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する生物学的に活性なポリペプチドを意味する。そのような変異体としては、例えば、ポリペプチドのN末端又はC末端で1つ以上のアミノ酸残基が付加又は欠失されているポリペプチドが挙げられる。幾つかの実施形態においては、変異体は、少なくとも約80%のアミノ酸配列同一性を有する。幾つかの実施形態においては、変異体は、少なくとも約90%のアミノ酸配列同一性を有する。幾つかの実施形態においては、変異体は、天然配列のポリペプチドと少なくとも約95%のアミノ酸配列同一性を有する。

30

【0116】

本明細書で使用される場合に、ペプチド配列、ポリペプチド配列、又は抗体配列に関する「パーセント(%)のアミノ酸配列同一性」及び「ホモロジー」は、配列をアラインメントし、必要に応じてギャップを導入して最大パーセントの配列同一性を達成した後に、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮せずに、特定のペプチド配列又はポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。パーセントのアミノ酸配列同一性を決定するためのアラインメントは、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMEGALIGN（商標）（DNASTAR社）ソフトウェア等の公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、当業者の技能の範囲内である様々な方法で達成され得る。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。

40

【0117】

アミノ酸置換には、限定されるものではないが、ポリペプチド中の或るアミノ酸を別のアミノ酸により置き換えることが含まれ得る。例示的な置換を表1に示す。アミノ酸置換

50

を対象の抗体に導入し、産物を所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少、又はA D C C若しくはC D Cの改善についてスクリーニングすることができる。

【0118】

【表1】

表1

当初の残基	例示的な置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン

10

20

30

40

【0119】

共通の側鎖特性に従ってアミノ酸をグループ分けすることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile、
- (2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln、
- (3) 酸性：Asp、Glu、
- (4) 塩基性：His、Lys、Arg、

50

(5) 鎖の配向に影響する残基：G l y、P r o、

(6) 芳香族：T r p、T y r、P h e。

【0120】

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスに交換することを伴う。

【0121】

「ベクター」という用語は、宿主細胞内で増殖され得る、クローニングされたポリヌクレオチド（単数又は複数）を含むように操作することができるポリヌクレオチドを記載するために使用される。ベクターは、以下のエレメントのうちの1つ以上を含み得る：複製起点、対象のポリペプチドの発現を調節する1つ以上の調節配列（例えば、プロモーター及び／又はエンハンサー等）、及び／又は1つ以上の選択可能なマーカー遺伝子（例えば、抗生物質耐性遺伝子及び比色アッセイで使用することができる遺伝子、例えば、β-ガラクトシダーゼ等）。「発現ベクター」という用語は、宿主細胞において対象のポリペプチドを発現するために使用されるベクターを指す。

【0122】

「宿主細胞」は、ベクター又は単離されたポリヌクレオチドのレシピエントであり得る又はレシピエントであった細胞を指す。宿主細胞は、原核細胞又は真核細胞であり得る。例示的な真核細胞としては、霊長類動物細胞又は非霊長類動物細胞等の哺乳動物細胞、酵母等の真菌細胞、植物細胞、及び昆虫細胞が挙げられる。非限定的な例示的な哺乳動物細胞としては、限定されるものではないが、NSO細胞、PER.C6（商標）細胞（Crucell社）、並びに293細胞及びCHO細胞、並びにそれらの派生物、例えば293-6E細胞、CHO-DG44細胞、CHO-K1細胞、CHO-S細胞、及びCHO-D5細胞が挙げられる。宿主細胞には、単一の宿主細胞の子孫が含まれるが、自然突然変異、偶発突然変異、又は意図的突然変異のため、子孫は必ずしも当初の親細胞と完全に同一（形態又はゲノムDNA相補において）であるとは限らない。宿主細胞には、本明細書で提供されるポリヌクレオチド（複数の場合もある）とともに*in vivo*でトランスフェクションされた細胞も含まれる。

【0123】

本明細書で使用される「単離された」という用語は、典型的に天然に一緒に見出される又は一緒に産生される成分の少なくとも幾つかから分離された分子を指す。例えば、ポリペプチドは、それを産生した細胞の成分の少なくとも一部から分離される場合に、「単離された」と称される。ポリペプチドが発現後に細胞によって分泌される場合に、ポリペプチドを含む上清を、それを産生した細胞から物理的に分離することは、ポリペプチドを「単離する」とみなされる。同様に、ポリヌクレオチドは、それが典型的に天然に見られるより大きなポリヌクレオチド（例えば、DNAポリヌクレオチドの場合に、ゲノムDNA又はミトコンドリアDNA等）の一部ではない場合に、又は例えば、RNAポリヌクレオチドの場合に、それを産生した細胞の成分の少なくとも一部から分離される場合に、「単離された」と称される。したがって、宿主細胞内のベクターに含まれるDNAポリヌクレオチドは、「単離された」と称され得る。

【0124】

「個体」及び「被験体」という用語は、動物、例えば哺乳動物を指すために本明細書では区別なく使用される。幾つかの実施形態においては、限定されるものではないが、ヒト、齧歯類、サル、ネコ、イヌ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、哺乳動物実験動物、哺乳動物家畜、哺乳動物競技用動物（sport animals）、及び哺乳動物ペットを含む哺乳動物を治療する方法が提供される。幾つかの例では、「個体」又は「被験体」は、疾患又は障害の治療を必要とする個体又は被験体を指す。幾つかの実施形態においては、治療を受ける被験体は、被験体が治療に関連する障害を有する又は障害を患う十分なリスクがあると特定されたことを表す患者であり得る。

【0125】

本明細書で使用される「疾患」又は「障害」は、治療が必要とされる及び／又は所望さ

10

20

30

40

50

れる状態を指す。

【0126】

「腫瘍細胞」、「癌細胞」、「癌」、「腫瘍」、及び／又は「新生物」という用語は、特段の指定がない限り、本明細書では区別なく使用され、身体器官及び系の正常な機能を妨げる制御不能な増殖及び／又は異常な細胞生存の増加及び／又はアポトーシスの阻害を示す細胞（又は複数の細胞）を指す。この定義には、良性及び悪性の癌、ポリープ、過形成、並びに潜伏腫瘍又は微小転移が含まれる。

【0127】

「癌」及び「腫瘍」という用語は、固形癌及び血液癌／リンパ腺癌を包含するとともに、異形成等の悪性腫瘍、前悪性腫瘍、及び良性腫瘍も包含する。例示的な癌としては、限定されるものではないが、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（胃腸癌を含む）、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、及び肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、脾臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃部癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮又は子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫を含むリンパ腫、並びにB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHLを含む）、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、及びワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、慢性骨髄芽球性白血病、並びにその他の癌腫及び肉腫、並びに移植後リンパ増殖性障害（PTLD）、並びに母斑症、浮腫（脳腫瘍に関連する浮腫等）及びメイグス症候群に関連する異常血管増殖が挙げられる。

【0128】

本明細書で使用される「非腫瘍細胞」という用語は、正常な細胞又は組織を指す。例示的な非腫瘍細胞としては、限定されるものではないが、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、ナチュラルキラーT（NKT）細胞、樹状細胞、単球、マクロファージ、上皮細胞、線維芽細胞、肝細胞、間質性腎臓細胞、線維芽細胞様滑膜細胞、骨芽細胞、及び乳房、骨格筋、脾臓、胃、卵巣、小腸、胎盤、子宮、精巣、腎臓、肺、心臓、脳、肝臓、前立腺、結腸、リンパ器官、骨に位置する細胞、及び骨由来の間葉系幹細胞が挙げられる。本明細書で使用される「末梢に位置する細胞又は組織」という用語は、腫瘍細胞の近く及び／又は腫瘍微小環境内に位置しない非腫瘍細胞を指す。

【0129】

本明細書で使用される「腫瘍微小環境内の細胞又は組織」という用語は、腫瘍細胞を取り囲む及び／又は腫瘍細胞に栄養を与える細胞、分子、細胞外マトリックス及び／又は血管を指す。例示的な腫瘍微小環境内の細胞又は組織としては、限定されるものではないが、腫瘍血管系、腫瘍浸潤リンパ球、線維芽細胞網細胞、内皮前駆細胞（EPC）、癌関連線維芽細胞、周皮細胞、他の間質細胞、細胞外マトリックス（ECM）の成分、樹状細胞、抗原提示細胞、T細胞、制御性T細胞（Treg細胞）、マクロファージ、好中球、骨髄由来抑制細胞（MDSC）及び腫瘍の近位に位置する他の免疫細胞が挙げられる。腫瘍細胞及び／又は腫瘍微小環境内に位置する細胞／組織を特定する方法は、本明細書で以下に記載されるように当該技術分野で十分に知られている。

【0130】

幾つかの実施形態においては、「増加」又は「減少」は、それぞれ、統計学的に有意な増加又は減少を指す。当業者に明らかであるように、「調節」はまた、試験作用物質が存在することを除き同じ条件と比較した、標的又は抗原のそのリガンド、結合相手、ホモ多量体形若しくはヘテロ多量体形へと会合する相手又は基質の1つ以上に対する親和性、ア

10

20

30

40

50

ビディティー、特異性及び／又は選択性の変化（増加又は減少のいずれかであり得る）を引き起こすこと、標的又は抗原が存在する培地又は環境における1つ以上の条件（pH、イオン強度、補因子の存在等）に対する標的又は抗原の感受性の変化（増加又は減少のいずれかであり得る）を引き起こすこと、及び／又は細胞増殖若しくはサイトカイン産生を含み得る。これは、関与する標的に応じて、それ自体が既知の又は本明細書に記載される任意の適切な方法で及び／又は任意の適切なアッセイを使用して決定され得る。

【0131】

本明細書で使用される場合に、「免疫応答」は、疾患（例えば、癌又は癌転移）の発症を阻害若しくは未然防止する又はその症状を改善するのに十分である細胞性免疫応答及び／又は体液性免疫応答を包含することが意図される。「免疫応答」は、自然免疫系及び適応免疫系の両方の側面を包含し得る。

10

【0132】

本明細書で使用される場合に、「治療」は、有益な又は所望の臨床結果を得るための手法である。本明細書で使用される「治療」は、ヒトを含む哺乳動物における疾患用の療法薬の任意の投与又は適用を対象とする。本開示の目的では、有益な又は所望の臨床結果としては、限定されるものではないが、1つ以上の症状の緩和、疾患の程度の減少、疾患の進展（例えば、転移、例えば肺又はリンパ節への転移）の未然防止又は遅延、疾患の再発の未然防止又は遅延、疾患の進行の遅延又は減速、疾患状態の改善、疾患又は疾患の進行の阻害、疾患又はその進行の阻害又は減速、その発達の阻止、及び寛解（部分的でも全体的でも）のいずれか1つ以上が挙げられる。「治療」には、増殖性疾患の病理学的結果の軽減も含まれる。本明細書で提供される方法は、治療のこれらの側面のいずれか1つ以上を企図している。上記に従って、治療という用語は、障害の全ての側面を100パーセント除去する必要はない。

20

【0133】

「改善」とは、療法剤を投与しない場合と比べて、1つ以上の症状が軽減又は向上することを意味する。「改善」には、症状の持続期間が短縮又は減少することにも含まれる。

【0134】

「抗癌剤」という用語は、本明細書では、その最も広い意味で、1つ以上の癌の治療に使用される作用物質を指すために使用される。そのような作用物質の例示的なクラスとしては、限定されるものではないが、化学療法剤、抗癌生物製剤（サイトカイン、受容体細胞外ドメイン-Fc融合物、及び抗体等）、放射線療法薬、CAR-T療法薬、治療用オリゴヌクレオチド（アンチセンスオリゴヌクレオチド及びsiRNA等）、及び腫瘍溶解性ウイルスが挙げられる。

30

【0135】

「生体試料」という用語は、生きている生き物又はかつて生きていた生き物からの或量の物質を意味する。そのような物質としては、限定されるものではないが、血液（例えば、全血）、血漿、血清、尿、羊水、滑液、内皮細胞、白血球、単球、他の細胞、器官、組織、骨髄、リンパ節、及び脾臓が挙げられる。

【0136】

「コントロール」又は「参照」という用語は、分析物を含まないことが既知の組成物（「ネガティブコントロール」）又は分析物を含むことが既知の組成物（「ポジティブコントロール」）を指す。ポジティブコントロールは、既知の濃度の分析物を含み得る。

40

【0137】

本明細書で使用される場合に、「疾患の発症を遅延させる」とは、疾患（癌等）の発症を遅らせる、妨げる、減速させる、遅滞させる、安定化させる、抑制する、及び／又は引き延ばすことを意味する。この遅延は、疾患の病歴及び／又は治療される個体に応じて、様々な長さの時間となり得る。当業者に明らかであるように、十分な又は大幅な遅延は、事実上、個体が疾患を発症しないという点で未然防止を包含し得る。例えば、転移の発生等の末期癌を遅延させることができる。

【0138】

50

本明細書で使用される「未然防止」は、疾患の素因を有し得るが、まだ疾患と診断されていない被験体における疾患の発生又は再発に対する予防をもたらすことを含む。特段の指示がない限り、「低減する」、「阻害する」、又は「未然防止する」という用語は、全期間にわたる完全な未然防止を示すのではなく又は必要とするのではなく、測定される期間だけにわたる未然防止を示す又は必要とする。

【0139】

物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの「治療有効量」は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、並びに物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストが個体において所望の応答を誘発する能力等の要因によって変動し得る。治療有効量はまた、治療的に有益な作用が物質／分子、アゴニスト又はアンタゴニストの任意の有毒作用又は有害作用を上回る量である。治療有効量は、1回以上の投与で送達され得る。治療有効量は、必要な投与量で必要な時間にわたって、所望の治療的結果及び／又は予防的結果を達成するのに有効な量を指す。

【0140】

「医薬製剤」及び「医薬組成物」という用語は、区別なく使用され、有効成分（複数の場合もある）の生物学的活性が有効になることを可能にするような形態であり、製剤を投与する被験体に対して許容不可能なほど有毒な追加の成分を含まない調製物を指す。そのような製剤は滅菌され得る。

【0141】

「薬学的に許容可能な担体」は、被験体に投与するための「医薬組成物」を一緒に含む療法剤とともに使用される当該技術分野において慣用の非毒性の固体、半固体又は液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、製剤補助剤、又は担体を指す。薬学的に許容可能な担体は、使用される投与量及び濃度でレシピエントに対して無毒であり、製剤の他の成分と適合性がある。薬学的に許容可能な担体は、使用される製剤にとって適切である。

【0142】

1つ以上の更なる療法剤と「組み合わせる」の投与には、同時（併用）投与及び任意の順序での連続投与が含まれる。

【0143】

「併用して」という用語は、本明細書では、2つ以上の療法剤の投与であって、投与の少なくとも一部が時間的に重複する、又は1つの療法剤の投与が他の療法剤の投与に対して短い期間に含まれる、又は両方の療法剤の治療効果が少なくとも或る期間にわたり重複する、投与を指すために使用される。

【0144】

「連続的に」という用語は、本明細書では、2つ以上の療法剤の投与であって、時間的に重複しない、又は療法剤の治療効果が重複しない、投与を指すために使用される。

【0145】

本明細書で使用される場合に、「～と組み合わせる」は、或る治療法の施与に別の治療法を加えることを指す。したがって、「～と組み合わせる」は、或る治療法を、個体に他の治療法を施す前、その間、又はその後に行うことを指す。

【0146】

「添付文書」という用語は、治療製品の市販パッケージに通例含まれる使用説明書であって、そのような治療製品の使用に関する指示、使用法、投与量、投与、併用療法、禁忌及び／又は警告に関する情報を含む、使用説明書を指すために使用される。

【0147】

「製造品」は、少なくとも1つの試薬、例えば、疾患若しくは障害（例えば、癌）の治療用の医薬、又は本明細書に記載されるバイオマーカーを特異的に検出するプローブを含む任意の製造物（例えば、パッケージ又は容器）又はキットである。幾つかの実施形態においては、製造物又はキットは、本明細書に記載される方法を実施するユニットとして宣伝、配送、又は販売される。

【0148】

「標識」及び「検出可能な標識」という用語は、例えば、抗体又は抗原に結合されて、特異的結合ペアのメンバー間の反応（例えば、結合）を検出可能にする部分を意味する。特異的結合ペアの標識されたメンバーは、「検出可能に標識された」と称される。したがって、「標識された結合性タンパク質」という用語は、結合性タンパク質の特定をもたらす標識が組み込まれたタンパク質を指す。幾つかの実施形態においては、標識は、視覚的に又は機器的手段により検出可能なシグナルを生成し得る検出可能なマーカー、例えば、放射性標識されたアミノ酸の組み込み又はマーキングされたアビジン（例えば、蛍光マーカー又は光学的方法若しくは比色法により検出され得る酵素活性を含むストレプトアビジン）によって検出され得るビオチニル部のポリペプチドへの結合である。ポリペプチドの標識の例としては、限定されるものではないが、放射性同位体又は放射性核種（例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 、又は ^{153}Sm ）、色素原、蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、ランタニド蛍光体）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次レポーターによって認識される予め決められたポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパーペア配列、二次抗体のための結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）、及びガドリニウムキレート等の磁性剤が挙げられる。イムノアッセイに通常使用される標識の代表的な例としては、光を発する部分、例えば、アクリジニウム化合物、及び蛍光を発する部分、例えば、フルオレセインが挙げられる。この点について、その部分自体は検出可能に標識されていない場合もあるが、更に別の部分と反応すると検出可能になり得る。

10

20

【0149】

例示的な $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチド

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが本明細書で提供される。様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する少なくとも1つのVHHドメインを含む。幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、又は8つのVHHドメインを含む。幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する1つ、2つ、3つ、又は4つのVHHドメインを含む。そのような $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞以外の1つ以上の標的タンパク質に結合する1つ以上の付加的なVHHドメインを含んでいてもよく、及び／又はサイトカイン配列等の1つ以上の付加的なポリペプチド配列を含んでいてもよい。

30

【0150】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する少なくとも1つのVHHドメインとFc領域とを含む。幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する1つ、2つ、3つ、又は4つのVHHドメインとFc領域とを含む。幾つかの実施形態においては、Fc領域は、生理学的条件で $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドの二量体化を介在し、こうして二量体が形成されることにより、 $\gamma\delta$ T細胞結合部位の数が2倍となる。例えば、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する3つのVHHドメインとFc領域とを含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、単量体としては三価であるが、生理学的条件では、Fc領域が二量体化を介在することができ、こうして $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、そのような条件下で六価の二量体として存在する。

40

【0151】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、少なくとも2つのVHHドメインを含み、ここで、第1のVHHドメインは、 $\gamma\delta$ T細胞の第1のエピトープに結合し、第2のVHHドメインは、 $\gamma\delta$ T細胞の第2のエピトープに結合する。 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが、 $\gamma\delta$ T細胞の第1のエピトープに結合するVHHドメインと、 $\gamma\delta$ T細胞の第2のエピトープに結合するVHHドメインとを含む場合に、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、「二重エピトープ性」又は「二重特異性」と称され得る。

【0152】

50

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する第1のVHHドメイン及び第1のFcドメインを含む第1のポリペプチドと、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する第2のVHHドメイン及び第2のFcドメインを含む第2のポリペプチドとの複合体であり、任意に、第1のポリペプチド又は第2のポリペプチドのいずれかがサイトカインポリペプチドを更に含む。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞に結合する第1のVHHドメイン、第1のFcドメインを含む第1のポリペプチドと、 $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合する抗原結合ドメイン及び第2のFcドメインを含む第2のポリペプチドとの複合体であり、任意に、第1のポリペプチド又は第2のポリペプチドのいずれかがサイトカインポリペプチドを更に含む。幾つかのそのような実施形態においては、第1のFcドメイン又は第2のFcドメインが「ノブ」突然変異（複数の場合もある）を含み、もう一方のFcドメインが「ホール」突然変異（複数の場合もある）を含む。したがって、幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、第1のポリペプチドと第2のポリペプチドとの複合体である。幾つかのそのような実施形態においては、複合体は、2つの $\gamma\delta$ T細胞結合VHHドメインを含む。幾つかのそのような実施形態においては、複合体は、1つの $\gamma\delta$ T細胞結合VHHドメインと、 $\gamma\delta$ TCR以外の抗原に結合する1つの抗原結合ドメインとを含む。

10

【0153】

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチド

様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号3、配列番号144、配列番号145、配列番号146、配列番号147、配列番号148、及び配列番号149から選択されるCDR1配列と、配列番号4、配列番号150、配列番号151、配列番号152、配列番号153、配列番号154、配列番号155、及び配列番号156から選択されるCDR2配列と、配列番号5のCDR3配列とを含む。様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号3、配列番号4、及び配列番号5；配列番号144、配列番号4、及び配列番号5；配列番号145、配列番号4、及び配列番号5；配列番号146、配列番号4、及び配列番号5；配列番号147、配列番号4、及び配列番号5；配列番号148、配列番号4、及び配列番号5；配列番号149、配列番号4、及び配列番号5；配列番号3、配列番号150、及び配列番号5；配列番号3、配列番号151、及び配列番号5；配列番号3、配列番号152、及び配列番号5；配列番号3、配列番号153、及び配列番号5；配列番号3、配列番号154、及び配列番号5；配列番号3、配列番号155、及び配列番号5；又は配列番号3、配列番号156、及び配列番号5のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号3、配列番号144、配列番号146、配列番号147、及び配列番号148から選択されるCDR1配列と、配列番号4、配列番号150、配列番号151、配列番号152、配列番号153、配列番号154、配列番号155、及び配列番号156から選択されるCDR2配列と、配列番号5のCDR3配列とを含む。様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号3、配列番号4、及び配列番号5；配列番号144、配列番号4、及び配列番号5；配列番号146、配列番号4、及び配列番号5；配列番号147、配列番号4、及び配列番号5；配列番号148、配列番号4、及び配列番号5；配列番号3、配列番号150、及び配列番号5；配列番号3、配列番号151、及び配列番号5；配列番号3、配列番号152、及び配列番号5；配列番号3、配列番号153、及び配列番号5；配列番号3、配列番号154、及び配列番号5；配列番号3、配列番号155、及び配列番号5；又は配列番号3、配列番号156、及び配列番号5のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR1、CDR2、及びCDR3を含む。様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号3のCDR1配列と配列番号4のCDR2配列と配列番号5のCDR3配列とを含む。様々な実施形態において、VHHドメインは、ヒト化されている。

20

30

40

【0154】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号18

50

0を含み、ここで、 X_1 、 X_2 、 X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{20} 、 X_{21} 、 X_{22} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 、 X_{26} 、及び X_{27} は、独立して選択され、

X_1 はV又はAであり、

X_2 はR又はGであり、

X_3 はK又はTであり、

X_4 はI又はFであり、

X_5 はQ、G又はEであり、

X_6 はR又はLであり、

X_7 はL、W又はFであり、

X_8 はA又はSであり、

X_9 はH又はAであり、

X_{10} はT又はSであり、

X_{11} はD又はGであり、

X_{12} はA又はSであり、

X_{13} はA又はTであり、

X_{14} はE又はYであり、

X_{15} はV又はAであり、

X_{16} はD、E、A、G、V、S、Y、L又はQであり、

X_{17} はS、P、T、A、V、L、I、又はGであり、

X_{18} はG又はDであり、

X_{19} はS又はNであり、

X_{20} はT又はAであり、

X_{21} はA又はTであり、

X_{22} はV又はLであり、

X_{23} はN又はSであり、

X_{24} はK又はYであり、

X_{25} はN、S、E、Y、A、S、G、Qであり、

X_{26} はS、T、A、L、V、N又はGであり、

X_{27} はK、R、E、又はDである。

【0155】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCRに結合するVHHドメインは、配列番号180を含み、ここで X_3 はKであり、 X_1 、 X_2 、 X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{20} 、 X_{21} 、 X_{22} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 、 X_{26} 、及び X_{27} は、独立して選択され、

X_1 はV又はAであり、

X_2 はR又はGであり、

X_4 はI又はFであり、

X_5 はQ、G又はEであり、

X_6 はR又はLであり、

X_7 はL、W又はFであり、

X_8 はA又はSであり、

X_9 はH又はAであり、

X_{10} はT又はSであり、

X_{11} はD又はGであり、

X_{12} はA又はSであり、

X_{13} はA又はTであり、

X_{14} はE又はYであり、

X_{15} はV又はAであり、

X_{16} はD、E、A、L又はQであり、

X_{17} は S、P、T、V、L、又は G であり、
 X_{18} は G 又は D であり、
 X_{19} は S 又は N であり、
 X_{20} は T 又は A であり、
 X_{21} は A 又は T であり、
 X_{22} は V 又は L であり、
 X_{23} は N 又は S であり、
 X_{24} は K 又は Y であり、
 X_{25} は N 又は S であり、
 X_{26} は S、T、又は G であり、
 X_{27} は K、R、E、又は D である。

10

【0156】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta TCR$ に結合する VHHドメインは、配列番号 180 を含み、ここで X_2 は R であり、 X_{25} は N であり、 X_1 、 X_3 は K であり、 X_4 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_9 、 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{20} 、 X_{21} 、 X_{22} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{26} 、及び X_{27} は、独立して選択され、

X_1 は V 又は A であり、
 X_4 は I 又は F であり、
 X_5 は Q、G 又は E であり、
 X_6 は R 又は L であり、
 X_7 は L、W 又は F であり、
 X_8 は A 又は S であり、
 X_9 は H 又は A であり、
 X_{10} は T 又は S であり、
 X_{11} は D 又は G であり、
 X_{12} は A 又は S であり、
 X_{13} は A 又は T であり、
 X_{14} は E 又は Y であり、
 X_{15} は V 又は A であり、
 X_{16} は D、E、A 又は Q であり、
 X_{17} は S、P 又は G であり、
 X_{18} は G 又は D であり、
 X_{19} は S 又は N であり、
 X_{20} は T 又は A であり、
 X_{21} は A 又は T であり、
 X_{22} は V 又は L であり、
 X_{23} は N 又は S であり、
 X_{24} は K 又は Y であり、
 X_{26} は S 又は T であり、
 X_{27} は K、R、E、又は D である。

20

30

40

【0157】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta TCR$ に結合する VHHドメインは、配列番号 180 を含み、ここで X_2 は R であり、 X_3 は K であり、 X_4 は I であり、 X_9 は H であり、 X_{25} は N であり、 X_1 、 X_5 、 X_6 、 X_7 、 X_8 、 X_{10} 、 X_{11} 、 X_{12} 、 X_{13} 、 X_{14} 、 X_{15} 、 X_{16} 、 X_{17} 、 X_{18} 、 X_{19} 、 X_{20} 、 X_{21} 、 X_{22} 、 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{26} 、及び X_{27} は、独立して選択され、

X_1 は V 又は A であり、
 X_5 は Q、G 又は E であり、
 X_6 は R 又は L であり、

50

X₇ は L、W 又は F であり、
X₈ は A 又は S であり、
X₁₀ は T 又は S であり、
X₁₁ は D 又は G であり、
X₁₂ は A 又は S であり、
X₁₃ は A 又は T であり、
X₁₄ は E 又は Y であり、
X₁₅ は V 又は A であり、
X₁₆ は D、E 又は A であり、
X₁₇ は S 又は P であり、
X₁₈ は G 又は D であり、
X₁₉ は S 又は N であり、
X₂₀ は T 又は A であり、
X₂₁ は A 又は T であり、
X₂₂ は V 又は L であり、
X₂₃ は N 又は S であり、
X₂₄ は K 又は Y であり、
X₂₆ は S 又は T であり、
X₂₇ は K、R、E、又は D である。

【0158】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 180 を含み、ここで、X₁ は V であり、X₂ は R であり、X₃ は K であり、X₄ は I であり、X₉ は H であり、X₁₀ は T であり、X₁₁ は D であり、X₁₂ は A であり、X₁₃ は A であり、X₁₄ は E であり、X₂₅ は N であり、X₅、X₆、X₇、X₈、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₆、及び X₂₇ は、独立して選択され、

X₅ は Q、G 又は E であり、
X₆ は R 又は L であり、
X₇ は L 又は W であり、
X₈ は A 又は S であり、
X₁₅ は V 又は A であり、
X₁₆ は D、E、又は A であり、
X₁₇ は S 又は P であり、
X₁₈ は G 又は D であり、
X₁₉ は S 又は N であり、
X₂₀ は T 又は A であり、
X₂₁ は A 又は T であり、
X₂₂ は V 又は L であり、
X₂₃ は N 又は S であり、
X₂₄ は K 又は Y であり、
X₂₆ は S 又は T であり、
X₂₇ は K、R、E、又は D である。

【0159】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、及び配列番号 166～配列番号 179 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80～配

10

20

30

40

50

列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、及び配列番号 166～配列番号 179 から選択されるアミノ酸配列を含み、VHHドメインの 114 位がリジン（K）、アスパラギン酸（D）、グルタミン酸（E）、又はアルギニン（R）で置換されている。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 19、配列番号 21～配列番号 23、配列番号 25～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 84～配列番号 86、配列番号 88～配列番号 93、配列番号 95、配列番号 97～配列番号 107、配列番号 109、配列番号 111～配列番号 129、配列番号 131～配列番号 133、配列番号 135～配列番号 137、配列番号 139～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、及び配列番号 166～配列番号 179 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98%、少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 19、配列番号 21～配列番号 23、配列番号 25～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 84～配列番号 86、配列番号 88～配列番号 93、配列番号 95、配列番号 97～配列番号 107、配列番号 109、配列番号 111～配列番号 129、配列番号 131～配列番号 133、配列番号 135～配列番号 137、配列番号 139～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、及び配列番号 166～配列番号 179 から選択されるアミノ酸配列を含み、VHHドメインの 114 位がリジン（K）、アスパラギン酸（D）、グルタミン酸（E）、又はアルギニン（R）で置換されている。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、及び配列番号 166～配列番号 179 から選択されるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 2、配列番号 17～配列番号 19、配列番号 21～配列番号 23、配列番号 25～配列番号 31、配列番号 72～配列番号 77、配列番号 80、配列番号 81、配列番号 84～配列番号 86、配列番号 88～配列番号 93、配列番号 95、配列番号 97～配列番号 107、配列番号 109、配列番号 111～配列番号 129、配列番号 131～配列番号 133、配列番号 135～配列番号 137、配列番号 139～配列番号 143、配列番号 158～配列番号 159、及び配列番号 166～配列番号 179 から選択されるアミノ酸配列を含む。

10

20

30

【0160】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ TCR に結合する VHHドメインは、配列番号 3 の CDR1 配列と配列番号 4 の CDR2 配列と配列番号 5 の CDR3 とを含む。幾つかの実施形態においては、VHHドメインは、配列番号 99、配列番号 143 又は配列番号 158 と少なくとも 85%、90%、95%、又は 99% 同一のアミノ酸配列を含む。幾つかの実施形態においては、VHHドメインは、配列番号 99、配列番号 143、及び配列番号 158 から選択されるアミノ酸配列を含み、VHHドメインの 114 位がリジン（K）、アスパラギン酸（D）、グルタミン酸（E）、又はアルギニン（R）で置換されている。幾つかの実施形態においては、VHHドメインは、配列番号 99、配列番号 143、又は配列番号 158 のアミノ酸配列を含む。

40

【0161】

様々な実施形態において、 $\gamma\delta$ T 細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T 細胞に結合する 1 つ、2 つ、3 つ、又は 4 つの VHHドメインを含む。

【0162】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T 細胞に結合する VHHドメインはヒト化され得る。ヒト化抗体（s d A b 又は VHH 含有ポリペプチド等）は、治療分子として有用である。それというのも、ヒト化抗体は、抗体療法薬に対する免疫応答をもたらして療法薬の有効性を低下させ得る非ヒト抗体に対するヒト免疫応答を低減又は排除するからである。一般に、ヒト化抗体は、CDR（又はその一部）が非ヒト抗体に由来し、FR（又はその一

50

部) がヒト抗体配列に由来する 1 つ以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意に、ヒト定常領域の少なくとも一部を含む。幾つかの実施形態においては、ヒト化抗体における幾つかの F R 残基は、例えば、抗体の特異性又は親和性を回復又は改善するために、非ヒト抗体 (例えば、C D R 残基の元となる抗体) からの対応する残基で置換される。
【0163】

ヒト化抗体及びその作製方法は、例えば、Almagro and Fransson, (2008) Front. Biosci. 13: 1619-1633 においてレビューされており、例えば、Riechmann et al., (1988) Nature 332:323-329、Queen et al., (1989) Proc. Natl Acad. Sci. USA 86: 10029-10033、米国特許第 5, 821, 337 号、米国特許第 7, 527, 791 号、米国特許第 6, 982, 321 号、及び米国特許第 7, 087, 409 号、Kashmiri et al., (2005) Methods 36:25-34、Padlan, (1991) Mol. Immunol. 28:489-498 (「リサーフェイシング (resurfacing)」を記載している)、Dall'Acqua et al., (2005) Methods 36:43-60 (「F R シャッフリング (FR shuffling)」を記載している)、並びに Osbourn et al., (2005) Methods 36:61-68 及び Klimka et al., (2000) Br. J. Cancer, 83:252-260 (F R シャッフリングに対する「ガイド選択 (guided selection)」アプローチを記載している) で更に記載されている。

【0164】

ヒト化に使用され得るヒトフレームワーク領域としては、限定されるものではないが、「ベストフィット (best-fit)」法を使用して選択されたフレームワーク領域 (例えば、Sims et al. (1993) J. Immunol. 151 :2296 を参照されたい)、重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域 (例えば、Carter et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285、及び Presta et al. (1993) J. Immunol, 151:2623 を参照されたい)、ヒト成熟 (体細胞突然変異した) フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域 (例えば、Almagro and Fransson, (2008) Front. Biosci. 13:1619-1633 を参照されたい)、及び F R ライブラリーのスクリーニングから得られるフレームワーク領域 (例えば、Baca et al., (1997) J. Biol. Chem. 272: 10678-10684、及び Rosok et al., (1996) J. Biol. Chem. 271 :22611-22618 を参照されたい) が挙げられる。典型的には、V H H の F R 領域をヒト F R 領域と置き換えることで、ヒト化 V H H が作製される。幾つかの実施形態においては、ヒト F R の或る特定の F R 残基を置き換えることで、ヒト化 V H H の 1 つ以上の特性が改善される。そのような置き換えられた残基を有する V H H ドメインも、本明細書では更に「ヒト化」と称される。

【0165】

様々な実施形態において、 $\gamma \delta$ T 細胞結合ポリペプチドに含まれる F c 領域は、ヒト F c 領域であるか、又はヒト F c 領域に由来する。幾つかの実施形態においては、 $\gamma \delta$ T 細胞結合ポリペプチドに含まれる F c 領域は、ヒト F c 領域に由来し、C 末端リジン残基を欠く。幾つかの実施形態においては、 $\gamma \delta$ T 細胞結合ポリペプチドに含まれる F c 領域は、ヒト F c 領域に由来し、C 末端リジン残基を含む。幾つかの実施形態においては、F c 領域の C 末端アミノ酸は、リジン以外のアミノ酸である。

【0166】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma \delta$ T 細胞結合ポリペプチドに含まれる F c 領域は、ヒト F c 領域に由来し、I g G 1 E 233、L 234、及び L 235 に対応する 3 つのアミノ酸欠失を下部ヒンジに含み、本明細書で「F c x E L L」と称される。F c x E L L ポリペプチドは F c γ R と結合しないため、「エフェクターサイレント」又は「エフェクターナル」と称されるが、幾つかの実施形態においては、x E L L F c 領域は F c R n に結合するため、半減期の延長及び F c R n 媒介性リサイクリング (FcRn mediated recycling) と関連したトランスサイトーシスを伴う。

【0167】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma \delta$ T 細胞結合ポリペプチドに含まれる F c 領域は、ヒ

トFc領域に由来し、突然変異M252Y及びM428Vを含み、本明細書で「Fc-YV」と称される。幾つかの実施形態においては、そのような突然変異は、エンドソームの酸性pH（6.5近く）でFcRnへの結合を増強するのに対し、中性pH（約7.2）では検出可能な結合が失われることから、FcRn媒介性リサイクリングの増強及び半減期の延長が可能となる。

【0168】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドに含まれるFc領域は、ヒトFc領域に由来し、ヘテロ二量体化のために設計された突然変異を含み、本明細書において「ノブ」及び「ホール」と称される。幾つかの実施形態においては、「ノブ」Fc領域は、突然変異T366Wを含む。幾つかの実施形態においては、「ホール」Fc領域は、突然変異T366S、L368A、及びY407Vを含む。幾つかの実施形態においては、ヘテロ二量体化に使用されるFc領域は、ヘテロ二量体Fcペアの第1のメンバー上の突然変異S354C等の追加の突然変異を含み、この突然変異は、ヘテロ二量体Fcペアの第2のメンバー上の対応する突然変異Y349Cと非対称ジスルフィドを形成する。幾つかの実施形態においては、ヘテロ二量体Fcペアの一方のメンバーは、修飾H435R又はH435Kを含むことで、FcRn結合を維持しつつプロテインAの結合を妨げる。幾つかの実施形態においては、ヘテロ二量体Fcペアの一方のメンバーは、修飾H435R又はH435Kを含むのに対して、ヘテロ二量体Fcペアの第2のメンバーは、H435で修飾されていない。様々な実施形態において、ホールFc領域は、修飾H435R又はH435Kを含むが（修飾がH435Rである場合に、場合によっては「ホールーR」と称される）、ノブFc領域はそれを含まない。幾つかの場合には、ホールーR突然変異は、存在し得るホモ二量体ホールFc領域に対するヘテロ二量体の精製を改善する。

【0169】

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドで使用され得る非限定的な例示的なFc領域としては、配列番号32～配列番号70のアミノ酸配列を含むFc領域が挙げられる。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、配列番号32～配列番号70から選択されるアミノ酸配列を含むFc領域を含み、Fc領域は、C末端リジン残基を欠く。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、配列番号34、配列番号35、配列番号41～配列番号52、及び配列番号58～配列番号70から選択されるアミノ酸配列を含むFc領域を含む。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、配列番号34、配列番号35、配列番号41～配列番号52、配列番号58～配列番号70から選択されるアミノ酸配列を含むFc領域を含み、Fc領域は、C末端リジン残基を欠く。

【0170】

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドの例示的な活性

様々な実施形態において、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、*in vitro*及び／又は*in vivo*で $\gamma\delta$ T細胞を刺激する。*in vitro*及び／又は*in vivo*での $\gamma\delta$ T細胞の刺激又は活性は、幾つかの実施形態においては、本明細書の実施例に示される方法を使用して決定され得る。

【0171】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、免疫細胞活性化サイトカイン、又は $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合し、 $\gamma\delta$ T細胞を刺激する抗原結合ドメインを含む。幾つかの実施形態においては、免疫細胞活性化サイトカイン、又は $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合する抗原結合ドメインの $\gamma\delta$ T細胞刺激活性は、単独で使用する場合よりも増加し、及び／又は $\gamma\delta$ T細胞結合VHHに融合した場合に、より特異的に細胞傷害性T細胞に標的化される。幾つかの実施形態においては、免疫細胞活性化サイトカイン、又は $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合する抗原結合ドメインの毒性は、 $\gamma\delta$ T細胞に特異的に標的化することによって減少する。

【0172】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される免疫細胞活性化サイトカイン、又

は $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合する抗原結合ドメインを含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、*in vitro*及び／又は*in vivo*でのT細胞増殖を増加させる。

【0173】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合VHHと免疫細胞活性化サイトカインとを含む。幾つかのそのような実施形態において、免疫細胞活性化サイトカインは、IL-2、IL-15、IL-7、IL-6、IL-12、IFN α 、IFN β 、又はIFN γ である。幾つかのそのような実施形態において、免疫細胞活性化サイトカインは、野生型免疫細胞活性化サイトカインである。幾つかの実施形態においては、免疫細胞活性化サイトカインは、野生型サイトカインの活性と比べて免疫細胞活性化サイトカインの活性を弱める突然変異を含む。幾つかの実施形態においては、免疫細胞活性化サイトカインを含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、*in vivo*で $\gamma\delta$ T細胞の活性化及び増殖を刺激する。幾つかの実施形態においては、免疫細胞活性化サイトカインを含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、癌を治療する方法に使用される。

10

【0174】

活性化 $\gamma\delta$ T細胞の増殖の増加は、例えば、本明細書の実施例に示される方法等の当該技術分野における任意の方法によって決定され得る。非限定的な例示的なアッセイは以下の通りである。 $\gamma\delta$ T細胞を1人以上の健康なヒトドナーから分離することができる。T細胞は、CellTrace Violet (CTV)で染色し、修飾IL-2を含むポリペプチドと接触させた後に、FACSで分析する。CTV染色の喪失は増殖を示す。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖の増加は、例えば、異なる健康なヒトドナーから分離された $\gamma\delta$ T細胞の増殖を測定することによって、一連の実験又はプールされたT細胞からの平均として決定される。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖の増加は、少なくとも5人若しくは少なくとも10人の異なる健康なドナーからのT細胞を使用して実施される実験からの、又は少なくとも5人若しくは少なくとも10人の異なる健康なドナーからのT細胞のプールからの平均として決定される。

20

【0175】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞結合VHHと、 $\gamma\delta$ T細胞以外の抗原に結合する抗原結合ドメインとを含む。幾つかのそのような実施形態において、抗原は、LAG3、CTLA4、TGFB β 1、TGFB β 2、Fas、TNFR2、PD1、PDL1、又はTIM3である。幾つかの実施形態において、抗原は、1-92-LFA-3、5T4、 α 4インテグリン、 α Vインテグリン、 α 4 β 1インテグリン、 α 4 β 7インテグリン、AGR2、抗ルイスY、アペリンJ受容体、APRIL、B7-H3、B7-H4、B7-H6、BAFF、BCMA、BTLA、補体C5、C-242、CA9、CA19-9、(ルイスa)、炭酸脱水酵素9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD39、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD73、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、クローディン3、クローディン4、cMet、コラーゲン、CripTo、CSFR、CSFR-1、CTLA4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、エンドセリンB受容体 (ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSVのFタンパク質、FAP、FcRH5、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸受容体 α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-C

30

40

50

SFR、GP I I b / I I I a 受容体、Gp 130、GPIIB / IIIA、GPNMB、GPRC5D、GRP78、HAVCAR1、HER2 / neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、ヒアルロニダーゼ、ICOS、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IgE、IgE受容体 (Fc ϵ RI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12R β 1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27 / IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31 / IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、インスリン受容体、Jagged リガンド、Jagged 1、Jagged 2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、ルイスX、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、メソテリン、MICA、MICB、MRP4、MUC1、ムチン16 (MUC16、CA-125)、Na / K ATPアーゼ、NGF、ニカストリン、Notch受容体、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFR α 、PDGFR β 、PD-1、PD-L1、PD-L2、ホスファチジルセリン、PIGF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、スフィンゴシン-1-リン酸、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGF β 、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNF α 、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、トランスフェリン、トランスフェリン受容体、TRK-A、TRK-B、TROP-2、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2、又はWISP-3である。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、 $\gamma\delta$ T細胞結合VHHと、腫瘍細胞抗原に結合する抗原結合ドメインとを含む。幾つかのそのような実施形態においては、腫瘍細胞抗原に結合する抗原結合ドメインを含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、抗原を発現する腫瘍細胞の $\gamma\delta$ T細胞媒介死滅を増加させる。

10

20

30

40

50

【0176】

ポリペプチドの発現及び産生

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含む核酸分子が提供される。幾つかの実施形態において、核酸分子はまた、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドの分泌を指示するリーダー配列もコードすることができ、そのリーダー配列は、典型的には、これが分泌されたポリペプチド中に存在しないように切断される。リーダー配列は、天然の重鎖（又はVHH）リーダー配列であり得る、又は別の異種リーダー配列であり得る。

【0177】

核酸分子は、当該技術分野で慣用の組換えDNA技術を使用して構築され得る。幾つかの実施形態においては、核酸分子は、選択された宿主細胞における発現に適した発現ベクターである。

【0178】

本明細書に記載される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドをコードする核酸を含むベクターが提供される。そのようなベクターとしては、限定されるものではないが、DNAベクター、ファージベクター、ウイルスベクター、レトロウイルスベクター等が挙げられる。幾つかの実施形態においては、CHO細胞若しくはCHO由来細胞等の所望の細胞型、又はNSO細胞におけるポリペプチドの発現のために最適化されたベクターが選択される。例示的なそのようなベクターは、例えば、Running Deer et al., Biotechnol. Prog. 20:880-889 (2004)に記載されている。

【0179】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、細菌細胞等の原核細胞において、又は真菌細胞（酵母等）、植物細胞、昆虫細胞、及び哺乳類細胞等の真核細胞において発現され得る。そのような発現は、例えば、当該技術分野で既知の手順に従って

実施され得る。ポリペプチドの発現に使用され得る例示的な真核細胞としては、限定されるものではないが、COS7細胞を含むCOS細胞、293-6E細胞を含む293細胞、CHO-S、DG44、Lec13 CHO細胞及びFUT8 CHO細胞を含むCHO細胞、PER.C6（商標）細胞（Crucell社）、並びにNSO細胞が挙げられる。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、酵母において発現され得る。例えば、米国特許出願公開第2006/0270045号を参照されたい。幾つかの実施形態においては、特定の真核宿主細胞は、ポリペプチドに対して所望の翻訳後修飾を行うその能力に基づいて選択される。例えば、幾つかの実施形態においては、CHO細胞は、293細胞で産生される同じポリペプチドよりも高レベルのシアリル化を有するポリペプチドを産生する。

10

【0180】

所望の宿主細胞への1つ以上の核酸（ベクター等）の導入は、限定されるものではないが、リン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染等を含むあらゆる方法によって達成され得る。非限定的な例示的な方法は、例えばSambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)に記載されている。核酸は、任意の適切な方法に従って、所望の宿主細胞に一過的又は安定的にトランスフェクションされ得る。

【0181】

本明細書に記載される核酸又はベクターのいずれかを含む宿主細胞も提供される。幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを発現する宿主細胞が提供される。宿主細胞で発現された $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、任意の適切な方法によって精製され得る。そのような方法としては、限定されるものではないが、親和性マトリックス又は疎水性相互作用クロマトグラフィーの使用が挙げられる。適切なアフィニティリガンドとしては、ROR1 ECD及びFc領域に結合する作用物質が挙げられる。例えば、プロテインA、プロテインG、プロテインA/G、又は抗体アフィニティカラムを使用して、Fc領域に結合することで、Fc領域を含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを精製することができる。疎水性相互作用クロマトグラフィー、例えば、ブチルカラム又はフェニルカラムもまた、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。イオン交換クロマトグラフィー（例えば、陰イオン交換クロマトグラフィー及び／又は陽イオン交換クロマトグラフィー）もまた、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。混合モードクロマトグラフィー（例えば、逆相／陰イオン交換、逆相／陽イオン交換、親水性相互作用／陰イオン交換、親水性相互作用／陽イオン交換等）も、抗体等の幾つかのポリペプチドを精製するのに適切であり得る。ポリペプチドを精製する多くの方法が当該技術分野で知られている。

20

30

【0182】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、無細胞系において産生される。非限定的な例示的な無細胞系は、例えば、Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009)、Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004)、Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003)に記載されている。

40

【0183】

幾つかの実施形態においては、上記の方法によって作製された $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが提供される。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、宿主細胞において作製される。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、無細胞系において作製される。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは精製される。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを含む細胞培養培地が提供される。

【0184】

幾つかの実施形態においては、上記の方法によって作製された抗体を含む組成物が提供される。幾つかの実施形態においては、該組成物は、宿主細胞において作製された $\gamma\delta$ T

50

細胞結合ポリペプチドを含む。幾つかの実施形態においては、該組成物は、無細胞系において作製された $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを含む。幾つかの実施形態においては、該組成物は、精製された $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを含む。

【0185】

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを使用して疾患を治療する例示的な方法

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを投与することを含む、個体における疾患を治療する方法が提供される。このような疾患としては、T細胞、例えば $\gamma\delta$ T細胞⁺T細胞の増殖及び活性化の増加から恩恵を受けるあらゆる疾患が挙げられる。幾つかの実施形態においては、個体における癌を治療する方法が提供される。幾つかの実施形態においては、癌を治療する方法は、 $\gamma\delta$ T細胞結合VHHと、免疫細胞活性化サイトカイン、又は $\gamma\delta$ T細胞以外の腫瘍細胞抗原に結合する抗原結合ドメインとを含む $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを投与することにより、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖及び／又は活性化を増加させることを含む。

10

【0186】

上記方法は、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを有効量、個体に投与することを含む。そのような治療方法は、ヒト又は動物における治療方法であり得る。幾つかの実施形態においては、ヒトを治療する方法が提供される。本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを使用して治療することができる非限定的な例示的な癌としては、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌、胃腸癌、膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓癌又は腎癌、喉頭癌、肝臓癌、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌、卵巣癌、脾臓癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃部癌、精巣癌、甲状腺癌、子宮又は子宮内膜癌、泌尿器系癌、並びに外陰癌、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、B細胞リンパ腫、低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）、小リンパ球（SL）NHL、中悪性度／濾胞性NHL、中悪性度びまん性NHL、高悪性度免疫芽球性NHL、高悪性度リンパ芽球性NHL、高悪性度小型非分割細胞NHL、巨大病変NHL、マントル細胞リンパ腫、AIDS関連リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（CLL）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、有毛細胞白血病、並びに慢性骨髄芽球性白血病が挙げられる。

20

30

【0187】

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、必要に応じて被験体に投与され得る。投与の頻度の決定は、治療される病態、治療される被験体の年齢、治療される病態の重症度、治療される被験体の全般的健康状態等の考慮に基づいて、主治医等の当業者によって行われ得る。幾つかの実施形態においては、有効用量の $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが被験体に1回以上投与される。幾つかの実施形態においては、有効用量の $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが、被験体に毎日、週に2回、毎週、2週間ごとに、月に1回等で投与される。有効用量の $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドが被験体に少なくとも1回投与される。幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドの有効用量は、少なくとも1ヶ月、少なくとも6ヶ月、又は少なくとも1年間にわたる複数回を含む複数回で投与され得る。

40

【0188】

幾つかの実施形態においては、医薬組成物は、癌を治療する（癌の予防を含む）及び／又はT細胞増殖を増加させるのに有効な量で投与される。治療有効量は、典型的には、治療される被験体の体重、その被験体の身体的状態若しくは健康状態、治療される病態の広範さ、又は治療される被験体の年齢に依存する。一般に、抗体は、用量当たり約0.05 mg/kg（体重）～約100 mg/kg（体重）の範囲の量で投与され得る。

【0189】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、限定されるものではないが、静脈内、動脈内、非経口、腹腔内、又は皮下を含む様々な経路によってin vi

50

v oで投与され得る。意図される用途に応じて、適切な製剤及び投与経路を選択することができる。

【0190】

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを使用する治療的処置は、T細胞の増殖及び／又は活性化を増加させることによって、及び／又は $\gamma\delta$ T細胞を癌細胞に接触させることによって達成される。幾つかの実施形態においては、T細胞の増殖及び／又は活性化の増加は、癌の成長を阻害する。

【0191】

医薬組成物

幾つかの実施形態においては、 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを含む組成物は、多種多様な薬学的に許容可能な担体を含む製剤で提供される（例えば、Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts 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）。賦形剤、アジュバント、及び希釈剤を含む様々な薬学的に許容可能な担体が利用可能である。さらに、pH調整剤及び緩衝剤、張性調整剤、安定剤、湿潤剤等の様々な薬学的に許容可能な補助物質も利用可能である。非限定的な例示的な担体としては、生理食塩水、緩衝生理食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、及びそれらの組合せが挙げられる。

【0192】

幾つかの実施形態においては、医薬組成物は、少なくとも10mg/mLの濃度で $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを含む。

【0193】

併用療法

$\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、単独で又は他の抗癌剤等の他の治療方式と組み合わせて投与され得る。 $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、他の治療方式の前、実質的にそれと同時に、又はその後に供給され得る（すなわち、併用して又は連続的に）。幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される治療方法は、放射線療法、化学療法、ワクチン接種、標的腫瘍療法、CAR-T療法、腫瘍溶解性ウイルス療法、癌免疫療法、サイトカイン療法、外科的切除、クロマチン修飾、切除、冷却療法、腫瘍標的に対するアンチセンス剤、腫瘍標的に対するsiRNA剤、腫瘍標的に対するマイクロRNA剤若しくは抗癌剤／抗腫瘍剤、又は抗体、サイトカイン若しくは受容体細胞外ドメイン-Fc融合物等の生物製剤を施すことを更に含み得る。

【0194】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、第2の療法剤、例えば、PD-1又はPD-L1療法薬と併用して与えられる。PD-1／PD-L1療法薬の例としては、ニボルマブ（BMS）、ピディリズマブ（CureTech、CT-011）、ペンブロリズマブ（Merck）、デュルバルマブ（Medimmune/AstraZeneca）、アテゾリズマブ（Genentech/Roche）、アベルマブ（Pfizer）、AMP-224（Amplimmune）、BMS-936559、AMP-514（Amplimmune）、MDX-1105（Merck）、TSR-042（Tesar/ApaptysBio、ANB-011）、STI-A1010（Sorrento Therapeutics）、STI-A1110（Sorrento Therapeutics）、及びプログラム死-1（PD-1）又はプログラム死リガンド1（PD-L1）に対する他の作用物質が挙げられる。

【0195】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドは、免疫刺激剤、例えば腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー（TNFRSF）のメンバー又はB7ファミリーのメンバーのアゴニストと併用して与えられる。免疫刺激性TNFRSFメンバーの非限定的な例としては、OX40、GITR、41BB、CD27、及び

H V E Mが挙げられる。B 7ファミリーメンバーの非限定的な例としては、C D 2 8及びI C O Sが挙げられる。したがって、幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される γ δ T細胞結合ポリペプチドは、O X 4 0、G I T R、4 1 B B、C D 2 7、H V E M、C D 2 8、及び／又はI C O Sのアゴニスト、例えばアゴニスト抗体と併用して与えられる。

【0196】

幾つかの実施形態においては、本明細書で提供される γ δ T細胞結合ポリペプチドは、C A R - T（キメラ抗原受容体T細胞）療法薬、腫瘍溶解性ウイルス療法薬、サイトカイン療法薬、及び／又はV I S T A、g p N M B、B 7 H 3、B 7 H 4、H H L A 2、C T L A 4、T I G I T等の他のチェックポイント分子を標的とする作用物質と併用して与えられる。

10

【0197】

診断及び治療の非限定的な例示的な方法

幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される方法は、被験体及び／又は被験体（例えば、癌患者）からの検体を評価するのに有用である。幾つかの実施形態においては、評価は、診断、予後診断、及び／又は治療への奏効のうちの1つ以上である。

【0198】

幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される方法は、タンパク質の存在、非存在、又はレベルを評価することを含む。幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される方法は、核酸の存在、非存在、又は発現のレベルを評価することを含む。これらの測定に本明細書に記載される組成物を使用することができる。例えば、幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される方法は、腫瘍の検体又は腫瘍から培養された細胞を、本明細書に記載される療法剤と接触させることを含む。

20

【0199】

幾つかの実施形態においては、評価により、治療（本明細書に記載される抗体による治療を含む）が指示され得る。幾つかの実施形態においては、評価により、切除後の補助療法を使用する又は差し控えることが指示され得る。補助治療とも呼ばれる補助療法は、一次治療、主治療、又は初回治療に加えてなされる治療である。非限定的な例として、補助療法は、全ての検出可能な疾患が取り除かれたが、潜在疾患のため再燃の統計的リスクが残っている場合に、通常は手術後になされる追加の治療であり得る。幾つかの実施形態においては、上記抗体は、癌の治療における補助療法薬として使用される。幾つかの実施形態においては、上記抗体は、癌の治療における単独補助療法薬として使用される。幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される抗体は、癌の治療における補助療法薬としては差し控えられる。例えば、患者が本明細書に記載される抗体に応答する可能性が低い又は最小限の応答しか有しない場合に、生活の質のために、及び無効な化学療法による不必要な毒性を避けるために、治療を施さなくてもよい。このような場合に、緩和ケアが使用される場合がある。

30

【0200】

幾つかの実施形態においては、切除前に術前補助療法薬として上記分子が投与される。幾つかの実施形態においては、術前補助療法薬は、任意の手術の前に腫瘍を縮小及び／又はダウングレードする療法薬を指す。幾つかの実施形態においては、術前補助療法薬は、手術前に癌患者に投与される化学療法薬を意味する。幾つかの実施形態においては、術前補助療法薬は、手術前に癌患者に投与される抗体を意味する。術前補助化学療法薬が通常考慮される癌型としては、例えば、乳癌、結腸直腸癌、卵巣癌、子宮頸癌、膀胱癌、及び肺癌が挙げられる。幾つかの実施形態においては、上記抗体は、癌の治療における術前補助療法薬として使用される。幾つかの実施形態においては、その使用は切除前である。

40

【0201】

幾つかの実施形態においては、本明細書に記載される方法で企図される腫瘍微小環境は、腫瘍血管系、腫瘍浸潤リンパ球、線維芽細胞、内皮前駆細胞（E P C）、癌関連線維芽細胞、周皮細胞、他の間質細胞、細胞外マトリックス（E C M）の成分、樹状細胞、

50

抗原提示細胞、T細胞、制御性T細胞、マクロファージ、好中球、及び腫瘍の近位に位置する他の免疫細胞の1つ以上である。

【0202】

キット

本明細書に記載される $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドのいずれか及び適切な包装を含む製造品及びキットも提供される。幾つかの実施形態においては、本発明は、(i) $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドと、(ii) 該キットを使用して $\gamma\delta$ T細胞結合ポリペプチドを個体に投与するための使用説明書とを備えるキットを含む。

【0203】

本明細書に記載される組成物に適切な包装は、当該技術分野で知られており、例えば、バイアル（例えば、密封バイアル）、容器、アンプル、ボトル、広口瓶、フレキシブルな包装（例えば、密封マイラー又はプラスチックバッグ）等が含まれる。これらの製造品は、更に滅菌及び／又は密封され得る。本明細書に記載される組成物を含む単位剤形も提供される。これらの単位剤形は、単回又は多回単位剤形で適切な包装内で保存され得て、更に滅菌及び密封もされ得る。本発明のキットに提供される使用説明書は、典型的には、ラベル又は添付文書（例えば、キットに含まれる紙シート）に書かれた指示であるが、機械可読の指示（例えば、磁気記憶ディスク又は光学記憶ディスクに保持された指示）も許容可能である。抗体の使用に関する使用説明書は一般に、意図された治療又は工業的使用のための投与量、投与スケジュール、及び投与経路に関する情報を含む。キットは、個々の適切な治療を選択することの説明を更に含み得る。

【0204】

容器は、単位用量、バルク包装（例えば、多回用量包装）又はサブユニット用量であり得る。例えば、1週間、2週間、3週間、4週間、6週間、8週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月以上のいずれかの概数の期間等の長期間にわたって個体に効果的な治療をもたらすのに十分な用量の本明細書に開示される分子を含むキットも提供され得る。キットはまた、多回単位用量の分子及び使用説明書を含むことができ、薬局、例えば、病院薬局及び調剤薬局での保存及び使用に十分な量で包装され得る。幾つかの実施形態においては、キットは、再構成、再懸濁、又は再水和することで、一般的に抗体の安定な水性懸濁液を形成することができる乾燥（例えば、凍結乾燥）組成物を含む。

【実施例】

【0205】

以下で論じられる実施例は、本発明を純粹に例示することが意図され、決して本発明を限定するとみなされるべきではない。これらの実施例は、以下の実験が、実施された全て又は唯一の実験であることを表すとは意図されない。使用される数値（例えば、量、温度等）に関して正確さを保証するための努力がなされたが、幾らかの実験誤差及び偏差が考慮に入れられるべきである。特段の指示がない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、圧力は大気圧であるか又は近大気圧である。

【0206】

実施例1： $\gamma\delta$ TCR標的化IL-2は、 $\gamma\delta$ T細胞においてSTAT5シグナル伝達経路を活性化する

IL-2シグナル伝達を介したT細胞活性化は、転写因子STAT5のリン酸化をもたらす。PBMCを健康なドナーのleukopakからlymphoprep密度勾配遠心分離によって分離した。以下の蛍光コンジュゲート抗体：非競合抗 $\gamma\delta$ TCR-FITC、抗CD3-BV785、及び抗CD56-BV421を用いて細胞を室温で20分間標識した。洗浄後、1ウェル当たり200000個のPBMCを96ウェルプレートに播種した。細胞を、どちらも弱毒化IL-2ポリペプチドであり、抗 $\gamma\delta$ TCR-5C8又は抗 $\gamma\delta$ TCR-6C4のいずれかのC末端に融合した、IL-2-X又はIL-2-Yのいずれかを含む融合タンパク質の滴定によって処理し、100nMの初期濃度から開始し、二連でプレート全体を1：5で滴定した。プレートを37℃/5%CO₂で20分間

10

20

30

40

50

インキュベートした。細胞をBD Cytotfix/Cytoperm (商標) (BD Biosciences) で固定し、90%氷冷メタノール中で透過処理し、リン酸化STAT5 (「pSTAT5」) のレベルを、リン酸化特異的 (phospho-specific) 抗pSTAT5-PE抗体 (1:70) を用いたフローサイトメトリーによって測定し、 $\gamma\delta$ T細胞を同定するためにCD3-BV785⁺ $\gamma\delta$ TCR-FITC⁺、NK細胞を同定するためにCD56-BV421⁺CD3-BV785⁻、 $\alpha\beta$ T細胞を同定するためにCD3-BV785⁺ $\gamma\delta$ TCR-FITC⁻に対してゲーティングした。

【0207】

図1A~図1Hに示されるように、二価又は一価の抗 $\gamma\delta$ TCR-5C8又は抗 $\gamma\delta$ TCR-6C4標的化IL-2__X若しくはIL-2__Yによる処理は、pSTAT5⁺ $\gamma\delta$ T細胞の割合及び $\gamma\delta$ T細胞上のpSTAT5中央蛍光強度の用量依存的な増加をもたらした。対照的に、100nM未満では、NK細胞又は $\alpha\beta$ T細胞上のpSTAT5活性化は殆ど見られなかった。

【0208】

実施例2： $\gamma\delta$ TCR標的化低親和性IL-2__Xによる処理後の $\gamma\delta$ T細胞の増殖及び蓄積の増強

IL-2は、T細胞集団の活性化及び増殖を促進する。増殖に対する $\gamma\delta$ TCR標的化IL-2__Xの影響を評価するために、PBMCを健康なドナーのleukopakからlymphoprep密度勾配培地を用いて分離した。細胞をCellTrace Violet増殖色素を用いて37℃で10分間標識した。洗浄後、細胞をRPMI+10%FBSに再懸濁し、1ウェル当たり300000個の細胞を96ウェルプレートに添加した。細胞を、抗 $\gamma\delta$ TCR-5C8又は標的化されていないコントロールVHHのいずれかのC末端に融合したIL-2__Xを含む融合タンパク質の滴定によって処理し、100nMの初期濃度から開始し、二連でプレート全体を1:5で滴定した。プレートを37℃/5%CO₂で7日間インキュベートした。細胞を以下の蛍光コンジュゲート抗体：CD3-BV785、 $\gamma\delta$ TCR-FITC、及び生存率色素ヨウ化プロピジウムを用いて4℃で30分間標識した。細胞を洗浄し、フローサイトメトリーによって分析した。

【0209】

図2A~図2Dに示されるように、抗 $\gamma\delta$ TCR-5C8標的化IL-2__Xによる処理は、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖の用量依存的な増加をもたらした。全CD3⁺集団中の $\gamma\delta$ T細胞の割合も、付随する $\alpha\beta$ T細胞の減少とともに、抗 $\gamma\delta$ TCR-5C8標的化IL-2__X処理によって増加した。 $\alpha\beta$ T細胞集団は、抗 $\gamma\delta$ TCR-5C8標的化IL-2__Xによる処理に応答して増殖しなかったため、この影響は、 $\gamma\delta$ T細胞に特異的であった。IL-2__Xに融合した標的化されていないVHHは、 $\gamma\delta$ T細胞又は $\alpha\beta$ T細胞のいずれの増殖も促進せず、標的特異性が示された。

【0210】

実施例3： $\gamma\delta$ TCR標的化IL-2は、V δ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞においてSTAT5シグナル伝達を活性化する

IL-2シグナル伝達は、転写因子STAT5のリン酸化及び下流遺伝子発現の活性化をもたらす。STAT5リン酸化を評価するために、PBMCを健康なヒトドナーの全血からlymphoprep密度勾配遠心分離によって分離した。以下の蛍光コンジュゲート抗体：非競合抗 $\gamma\delta$ TCR-FITC、抗CD3-BV785、及び抗V δ 2-BV421を用いて細胞を室温で20分間標識した。洗浄後、1ウェル当たり400000個のPBMCを96ウェルプレートに播種した。細胞を、抗 $\gamma\delta$ TCR-1D7のC末端に融合したいずれかのIL-2__Xを含む融合タンパク質の滴定によって処理し、50nMの初期濃度から開始し、二連でプレート全体を1:3で滴定した。プレートを37℃/5%CO₂で20分間インキュベートした。細胞をBD Cytotfix/Cytoperm (商標) (BD Biosciences) で固定し、90%氷冷BD Phosflow (商標) Perm Buffer III (BD Biosciences) 中で透過処理し、V δ 2⁺ $\gamma\delta$ T細胞又はV δ 2⁻ $\gamma\delta$ ⁻ $\alpha\beta$ T細胞上のリン酸化STAT5 (「pSTAT5」) のレベ

10

20

30

40

50

ルを、リン酸化特異的抗 p S T A T 5 - P E 抗体 (1 : 7 0) を用いたフローサイトメトリーによって測定した。

【 0 2 1 1 】

図 3 A 及び図 3 B に示されるように、一価抗 $\gamma \delta$ T C R - 1 D 7 標的化 I L - 2 _ X による処理は、p S T A T 5 + V δ 2 + $\gamma \delta$ T 細胞の割合 (図 3 A) 及び V δ 2 + $\gamma \delta$ T 細胞上の p S T A T 5 中央蛍光強度 (図 3 B) の用量依存的な増加をもたらした。対照的に、試験したいずれの濃度でも、 $\alpha \beta$ T 細胞上には検出可能な p S T A T 5 は存在しなかった。

【 0 2 1 2 】

実施例 4 : $\gamma \delta$ T C R 標的化低親和性 I L - 2 _ X による処理は、V δ 2 + $\gamma \delta$ T 細胞を強く増加させる

I L - 2 は、 $\gamma \delta$ T 細胞の増殖及びエフェクター機能を増強する。増殖に対する $\gamma \delta$ T C R 標的化 I L - 2 _ X の影響を決定するために、実施例 2 に記載されるように P B M C を分離し、C e l l T r a c e V i o l e t で標識し、1 ウェル当たり 3 0 0 0 0 0 個を添加した。細胞を、抗 $\gamma \delta$ T C R - 1 D 7 又は標的化されていないコントロール V H H のいずれかの C 末端に融合した I L - 2 _ X を含む融合タンパク質の滴定によって処理し、1 0 0 n M の初期濃度から開始し、二連でプレート全体を 1 : 5 で滴定した。プレートを 3 7 ° C / 5 % C O ₂ で 7 日間インキュベートした。細胞を以下の蛍光コンジュゲート抗体 : C D 3 - B V 7 8 5 、 $\gamma \delta$ T C R - F I T C 、V δ 2 - P E 、及び生存率色素ヨウ化プロピジウムを用いて 4 ° C で 3 0 分間標識した。細胞を洗浄し、フローサイトメトリーによって分析した。

【 0 2 1 3 】

図 4 A 及び図 4 B に示されるように、抗 $\gamma \delta$ T C R - 1 D 7 (c x 1 1 0 2 6) 標的化 I L - 2 _ X による処理は、V δ 2 $\gamma \delta$ T 細胞の増殖の用量依存的な増加をもたらした (図 4 A) 。さらに、全 C D 3 + T 細胞集団中の $\gamma \delta$ T 細胞の割合は、抗 $\gamma \delta$ T C R - 1 D 7 標的化 I L - 2 _ X 処理によって実質的に増加した (図 4 B) 。I L - 2 _ X に融合した標的化されていない V H H (c x 9 4 5 2) は、いずれの V δ 2 $\gamma \delta$ T 細胞の増殖も促進せず、標的特異性が示された。

【 0 2 1 4 】

実施例 5 : $\gamma \delta$ T C R 結合 V H H ドメインの開発

ヒト $\gamma \delta$ T C R を標的とするシングルドメイン抗体を、富化 $\gamma \delta$ T 細胞と、短縮エフェクターホール F c を含むヒト δ 2 細胞外ドメインと対になった短縮エフェクターノブ F c でクローニングしたヒト γ 9 細胞外ドメインからなるヘテロ二量体ノブインホール構築物とでラマを免疫化することによって生成した。特異的な抗 $\gamma \delta$ T C R 抗体価の発現後に、ラマ末梢血単核細胞 (P B M C) を免疫化動物の血液 5 0 0 m L から単離し、Q i a g e n R N e a s y M a x i K i t を用いて全 m R N A を単離し、続いて T h e r m o S u p e r s c r i p t I V R e v e r s e T r a n s c r i p t a s e 及びオリゴ d T プライミングを用いてファーストストランド c D N A に変換した。c D N A を鋳型として用いた P C R によって V H H 配列を特異的に増幅し、V H H - F c - A G A 2 融合タンパク質として酵母表面提示ベクターにクローニングした。F c はヒト I g G 1 F c (配列番号 3 2) 、又は場合によっては、エフェクター機能が低下した変異体 I g G 1 F c であった (例えば、F c x E L L ; 配列番号 3 3) 。

【 0 2 1 5 】

V H H - F c - A G A 2 融合タンパク質を提示する酵母ライブラリーを、磁気ビーズ単離に続く蛍光活性化細胞選別 (F A C S) により、 $\gamma \delta$ T C R E C D の組換え型を用いて富化した。選別された酵母をプレートアウトし、単離したコロニーを 9 6 ウェルブロックに採取し、培地中で成長させて、表面提示された V H H - F c からの発現を培地への分泌に切り替えた。9 6 ウェルの酵母分泌培養物からの上清を、 $\gamma \delta$ T C R で一過的にトランスフェクションした 2 9 3 F 細胞 ($\gamma \delta$ T C R 陽性) 又はトランスフェクションしていない 2 9 3 F 細胞 ($\gamma \delta$ T C R 陰性) に適用し、洗浄し、フルオロフォア標識抗ヒト I g

10

20

30

40

50

G1 Fc 二次抗体で処理し、96 ウェルフローサイトメトリーによって分析した。

【0216】

$\gamma\delta$ TCR 陽性細胞に結合し、 $\gamma\delta$ TCR 陰性細胞に結合しない VHH をコードする核酸配列を、ヒト Fc x ELL コード領域とインフレームで哺乳動物発現ベクターにクローニングし、ポリエチレンイミンを用いた HEK293 Freestyle 細胞 (293F 細胞) 又は CHO 細胞における一過性トランスフェクションにより発現させた。3 日～7 日後に上清を回収し、分泌された組換えタンパク質をプロテイン A クロマトグラフィーによって精製し、280 nm での吸光度及び吸光係数から濃度を算出した。

【0217】

$\gamma\delta$ TCR 結合 VHH である 1D7、及びヒンジ Fc NNT を欠く非二量体化ヒト IgG1 Fc 変異領域を用いて単量体 VHH-hIgG1-Fc 融合タンパク質としてフォーマットされたそのヒト化型の結合を、新鮮な又は凍結した増加ヒト $V\delta 2^+ \gamma\delta$ T 細胞上でフローサイトメトリーによって評価した。 $V\delta 2^+ \gamma\delta$ T 細胞は、健康なヒトドナー末梢血 leukopak に由来する PBMC から増加させた。新鮮分離 PBMC を、10% FBS、5 μ M ソレドロネート、及び 500 IU/mL IL-2 を添加した完全 RPMI 培地に 1.0×10^6 細胞/mL で再懸濁した。3 日目に培地の半分を除去し、IL-2 を 500 IU/mL の最終濃度で添加した。増加の残りの期間については、培地を交換し、IL-2 を 500 IU/mL の最終濃度で合計 2 週間にわたって 2、3 日に 1 回添加した。純度をフローサイトメトリーによって評価し、通常 80% 超の $V\delta 2^+ \gamma\delta$ T 細胞であった。新鮮な増加 $\gamma\delta$ T 細胞を 1 ウェル当たり 30000 個の細胞で 96 ウェルプレートにプレーティングするか、又は解凍した増加 $\gamma\delta$ T 細胞を FACS バッファー (PBS、1% BSA、0.1% NaN₃、pH 7.4) 中、1 ウェル当たり 50000 個の細胞で 96 ウェルプレートにプレーティングした。トランスフェクションしていない HEK293F 細胞を $\gamma\delta$ TCR ネガティブコントロールとして使用し、別のプレートに 1 ウェル当たり 30000 個の細胞でプレーティングした。次いで、試験ポリペプチドを最終濃度 1000 nM の 2 倍に希釈し、3 倍、4 倍、及び 5 倍の段階希釈を行った。ポリペプチドを含まない FACS バッファーを二次抗体のみのコントロールとして使用した。ポリペプチド希釈物を等容量の細胞に添加し、アッセイプレートを 4℃ で 30 分間インキュベートした。1 ウェル当たり 150 μ L の FACS バッファーで 2 回洗浄した後、結合を検出するために 1000 倍又は 2000 倍希釈した蛍光標識抗ヒト Fc 抗体を含む FACS バッファーに細胞を再懸濁した。アッセイプレートを 4℃ で 20 分間インキュベートし、1 ウェル当たり 150 μ L の FACS バッファーで 1 回洗浄した。 $\gamma\delta$ T 細胞への結合を、Intellicyte iQue Plus を用いるフローサイトメトリーによって決定し、オンボードソフトウェアを用いて抗ヒト A647 中央蛍光強度を算出した。データをプロットし、GraphPad Prism 分析ソフトウェアを用いて分析した。初期のヒト化 1D7 VHH 融合タンパク質の結合曲線を図 5A～図 5I に示す。改善されたヒト化変異体 1D7v158 の結合曲線を図 5J に示し、この変異体は、より好適な pI プロファイルを有し、親 VHH と同等の結合親和性を有する。1D7v158 をベースとした付加的なヒト化変異体も生成した。親 1D7v158 及び更なる変異体の結合曲線を図 5K に示す。

【0218】

1D7 (「1D7-p」) 及びそのヒト化型の親和性 (K_D) を、非線形適合モデルを用いてフローサイトメトリー結合データから決定し、表 2 に示す。

【0219】

1D7 VHH 及びそのヒト化型のアミノ酸配列を、以下に示す或る特定の配列の表に提示する。開示された 1D7 VHH ドメインのいずれかにおける残基 114 のアミノ酸がリジン (K)、アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)、又はアルギニン (R) であり得ることが提示される。例えば、親 1D7 VHH (配列番号 2) は、残基 114 にリジン (K) を含み、hu1D7v39 VHH (配列番号 97) は、残基 114 にアルギニン (R) を含み、hu1D7v158 (配列番号 158) は、残基 114 にグルタミ

ン酸（E）を含む。したがって、114位の残基は、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、又はアルギニンで置換され得る。

【0220】

【表2】

表2

クローン	K _D (nM)	クローン	K _D (nM)	クローン	K _D (nM)
1D7-p	6.09	1D7v35	8.40	1D7v86	126.20
1D7v1	5.23	1D7v36	1505.00	1D7v87	44.90
1D7v2		1D7v37	17.45	1D7v88	61.47
1D7v3	51.15	1D7v38	20172.00	1D7v89	1950.00
1D7v4	8858.00	1D7v39	7.99	1D7v90	95.56
1D7v5	108.40	1D7v57	10.49	1D7v91	154.10
1D7v6	35.14	1D7v58	8.07	1D7v92	104.00
1D7v7		1D7v59	23.79	1D7v93	1087.00
1D7v8	7873.00	1D7v60	9.67	1D7v94	752.20
1D7v9	17.93	1D7v61	41.28	1D7v95	196.30
1D7v10	60.94	1D7v62		1D7v96	191.40
1D7v11	42.22	1D7v63	14.73	1D7v97	1047.00
1D7v12		1D7v64	195.30	1D7v98	113.80
1D7v13	18.20	1D7v65	347.40	1D7v99	115.90
1D7v14	21.47	1D7v66	93.27	1D7v100	61.91
1D7v15	16.42	1D7v67	1744.00	1D7v101	270.50
1D7v16	24.63	1D7v68	722.30	1D7v102	17.96
1D7v17	20.09	1D7v69	1014.00	1D7v112	226.5
1D7v18	42.48	1D7v70	440.80	1D7v113	191.8
1D7v19	26.73	1D7v71	135.40	1D7v124	72.19
1D7v20		1D7v72	181.90	1D7v125	59.04
1D7v21		1D7v73	180.20	1D7v139	340.8
1D7v22	29.14	1D7v74	60.39	1D7v158	6.544*
1D7v23	18.13	1D7v75	118.10	1D7v158	2.962^
1D7v24	9444.00	1D7v76	125.10	1D7v158-1	205.0
1D7v25	約866246	1D7v77	155.60	1D7v158-2	3.281
1D7v26	29.04	1D7v78	481.20	1D7v158-3	27.97
1D7v27	9.59	1D7v79	496.80	1D7v158-4	3.126
1D7v28	15.68	1D7v80	646.20	1D7v158-5	2.820
1D7v29	7231.00	1D7v81	843.40	1D7v158-6	2.816
1D7v30	38.40	1D7v82	30.47	1D7v158-7	3.468
1D7v31	16.69	1D7v83	36.32	1D7v158-8	2.930
1D7v32	35.74	1D7v84	43.63	1D7v158-9	20.01
1D7v33	12.98	1D7v85	168.30	1D7v158-10	4.975
1D7v34	11.66				

*図6Jのデータから決定した

^ 図6Kのデータから決定した

【0221】

実施例6： $\gamma\delta$ TCR標的化IL-2を用いて増加させたPBMCは、腫瘍細胞株の広範なパネルにわたって強力な細胞傷害作用を示す

$\gamma\delta$ TCR標的化IL-2分子（cx11026）を用いて増加させたPBMCが、様々な血液腫瘍及び固形腫瘍に由来する標的細胞株を死滅させる能力を評価した。簡潔に述べると、Leuko 75から分離したPBMCを、基本的に実施例7に記載されるよう

に、 1 nM の c x 1 1 0 2 6 を用いて増加させ、2週間の増加プロトコル後に、死滅アッセイのために細胞を 2.0×10^6 細胞/ mL まで再懸濁した。 1×10^6 個 $\sim 2 \times 10^6$ 個の標的細胞をHBSSで洗浄し、キットの説明書に従ってCytotox Redで6分間標識した後、細胞を完全RPMI培地に再懸濁し、 $100\text{ }\mu\text{L}$ /ウェル（ 10000 個の細胞）で播種した。非処理PBMCを用いるか、又は標的細胞のみを含むコントロールウェルを含めた。接着細胞は、平底にプレーティングし、非接着性細胞は、Poly-Lコーティング96ウェルプレート上にプレーティングし、プレートを室温で20分間、続いて 37°C / $5\% \text{ CO}_2$ で2時間インキュベートしてから、エフェクター細胞を添加した。次いで、標的細胞に対して10:1の比率のエフェクター細胞を $50\text{ }\mu\text{L}$ 容量で 100000 個/ ウェル 添加した。カスパーゼ3/7-緑色を $1.25\text{ }\mu\text{M}$ の最終濃度で1ウェル当たり $50\text{ }\mu\text{L}$ 添加した。細胞を室温で20分間静置し、Incucyteセルイメージャーを用いて細胞死滅を分析した。30分間温度を平衡化した後、カスパーゼ3/7-greenとCytotox Redとの重なりにより、標的細胞死滅を1.5時間に1回評価した。標的細胞及び死細胞について重なりをマスクした後、データをプロットし、GraphPad Prism分析ソフトウェアを用いて分析した。

10

【0222】

図6A及び図6Bに示されるように、 $\gamma\delta\text{TCR}$ 標的化IL-2分子（1D7xIL-2-X）によるPBMCの処理は、 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞の増加、並びにTHP-1急性単球性白血病、HT29大腸腺癌、Daudiバーキットリンパ腫、NCI-H460肺癌、MM1S多発性骨髄腫、及びA375悪性黒色腫細胞株を含む広範な細胞株にわたる幅広い抗腫瘍死滅活性をもたらした。

20

【0223】

実施例7： $\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}20$ 二重特異性分子の活性

抗 $\gamma\delta\text{VHH}$ ドメイン1D7v9、抗 $\text{CD}20$ VHHドメイン及びヘテロ二量体ノブインホールFc領域を含む、 $\gamma\delta\text{TCR}$ 及び代表的な標的抗原 $\text{CD}20$ （ $\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}20$ ）に結合する二重特異性 $\gamma\delta\text{TCR}$ 分子（ c x 1 1 4 9 8 ）の結合活性を、 $\text{CD}20$ を発現するRaji標的細胞及び $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞上でフローサイトメトリーによって評価した。PBMC及びRaji細胞を解凍し、FACSバッファー中で 1.0×10^6 細胞/ mL まで再懸濁した。 100000 個のPBMC又はRaji細胞を96ウェルプレートに播種した。被験物質を 50 nM の最終開始濃度で添加し、プレート全体を1:4で滴定した。細胞を抗体とともに 4°C で30分間インキュベートし、遠沈し、FACSバッファーで4回洗浄した。細胞を抗ヒトFc γ -A647（Jackson ImmunoResearch）で標識し、PBMCも抗ヒト $\gamma\delta\text{TCR}$ -FITC（Biolegend）を用いて $50\text{ }\mu\text{L}$ のFACS中、 4°C で30分間標識した。プレートをFACSバッファーで2回洗浄し、FACSバッファーに再懸濁し、IQueフローサイトメーターで読み取った。抗ヒトFc γ -A647の平均蛍光強度を、オンボードソフトウェアを用いて算出し、GraphPad Prismを用いてグラフ化した。 $\gamma\delta\text{TCR} \times$ 抗原分子は、抗原（ $\text{CD}20$ ）を発現するRaji細胞（図7A）及び $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞（図7B）の両方に滴定依存的に結合した。

30

【0224】

$\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}20$ 分子（ c x 1 1 4 9 8 ）及び抗 $\text{CD}20$ 抗体リツキシマブの配列類似体（Invivogen、 $\text{hcd}20\text{-mab}164\text{-}43\text{-}01$ ）の $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞媒介死滅活性を、Raji細胞及び新鮮分離 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞又は増加 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞を用いるFACSベース死滅アッセイにおいて評価した。新鮮分離 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞は、Stemcell EasySep Human $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞分離キットを用いて、完全培地中のCTL解凍バッファーで洗浄した解凍PBMCから分離し、細胞を $2\% \text{ FBS} / \text{PBS}$ に再懸濁し、 $\text{V}\delta 2\text{-PE}$ 抗体で20分間染色し、洗浄し、 $2\% \text{ FBS} / \text{PBS}$ に再懸濁し、セルソーターにかけて $\text{V}\delta 2^+\text{T}$ 細胞を選択的に選別し、選別した細胞を完全アッセイ培地中で 2×10^6 細胞/ mL まで再懸濁してから使用した。増加 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞は、解凍PBMCから調製し、PBMCを完全培地中のCTL解凍

40

50

バッファーで短時間洗浄し、フラスコ内で 1.0×10^6 細胞/mLまで再懸濁し、 1 nM の一価 $\gamma\delta\text{TCR}$ 標的化 IL-2 分子 1D7xIL-2_X ($c \times 11026$)を投与し、フラスコを $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ で7日間インキュベートし、3日目に細胞を遠沈し、再懸濁し、 1 nM の 1D7xIL-2_X を再投与し、7日間の増加後に細胞を 20×10^6 細胞/mLに再懸濁し、完全培地中で $\text{V}\delta 2\text{-PE}$ について30分間染色し、洗浄し、 $2\% \text{FBS}/\text{PBS} + 1 \text{ mM EDTA}$ に再懸濁し、セルソーターにかけて純粋な $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞を分離した。 Raji 細胞を Far Red 細胞トレーサー (ThermoFisher) で標識した後、1ウェル当たり 10000 個の細胞を $50 \mu\text{L}$ でプレATINGし、選別した $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞 (新鮮分離又は増加) を $4:1$ の (エフェクター: 標的) 細胞の比率にて $50 \mu\text{L}$ で添加し、プレートを $1:2$ で滴定した。 $25 \mu\text{L}$ の被験物質 (RPMI中、最終濃度 5 nM の8倍の濃度) 又は培地単独を細胞に添加し、培地を $200 \mu\text{L}$ の最終容量まで添加し、細胞を $37^\circ\text{C}/5\% \text{CO}_2$ で一晩インキュベートした。翌日、細胞を以下の成分: 抗ヒト CD3-BV785 、抗ヒト $\text{V}\delta 2\text{-PE}$ 、 Apotracker-green 、及び PI を用いて FACS バッファー中、 4°C で30分間標識した。その後、プレートを洗浄し、フローサイトメトリー (Quanteon) によって解析した。アポトーシス細胞の割合を、 Apotracker-green を用いて標識 Raji 標的細胞について決定した。

10

【0225】

図7C及び図7Dに示されるように、 $\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}20$ ポリペプチド ($c \times 11498$) による処理は、新鮮分離 (図7C) 及び抗 $\text{V}\gamma 9 \times \text{IL}2\text{-X}$ により増加させた $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞 (図7D) の両方による Raji 標的細胞の $\gamma\delta\text{T}$ 細胞媒介死滅の増加をもたらした。 1D7xIL-2_X により増加させた $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞は、抗 $\text{CD}20 \times \text{V}\gamma 9\text{-1D7v9}$ の存在下及び非存在下で、新鮮分離 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞と比較して優れた死滅活性を示した。さらに、リツキシマブによる処理は、新鮮分離 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞による Raji 細胞死滅には殆ど影響を与えなかったが、 1D7xIL-2_X により増加させた $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞の死滅活性を増加させた。これにより、抗 1D7xIL-2_X による処理が、 ADCC 活性の改善を含む複数の機構によって腫瘍細胞死滅活性を高めることが示される。これらのデータから、二重特異性又は従来の ADCC 抗体のいずれかによる付加的な標的化が、 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞の標的細胞死滅活性を改善することが示される。

20

30

【0226】

実施例8: $\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}33$ 二重特異性分子の活性

抗 $\gamma\delta\text{VHH}$ ドメイン 1D7v9 、抗 $\text{CD}33\text{ VHH}$ ドメイン及びヘテロ二量体ノブインホール Fc 領域を含む、 $\gamma\delta\text{TCR}$ 及び代表的な標的抗原 $\text{CD}33$ ($\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}33$) に結合する二重特異性 $\gamma\delta\text{TCR}$ 分子 ($c \times 12083$) の結合活性を、 $\text{CD}33$ を発現する標的細胞である MOLM-13 及び MV-411 細胞株、並びに $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞上でフローサイトメトリーによって評価した。 $\gamma\delta\text{TCR VHH}$ ドメインの代わりに無関連の第2の VHH ドメインを含む単一特異性 $\text{CD}33$ 構築物 ($\text{CD}33 \times \text{UT}$; $c \times 12056$) も試験した。簡潔に述べると、凍結 PBMC ($\gamma\delta\text{T}$ 細胞を増加させるためにゾレドロネートで予め処理した) を解凍し、アッセイ培地中の 1×10^6 細胞/mLまで再懸濁し、 96 ウェルプレートにプレATINGした (100000 細胞/ウェル)。被験物質を最終開始濃度 200 nM の4倍で各ウェルに $50 \mu\text{L}$ 添加し、全体を $1:4$ で滴定した。 $50 \mu\text{L}$ の FACS バッファーを添加して最終総容量を $200 \mu\text{L}$ とした。細胞を被験物質とともに 4°C で30分間インキュベートし、3回洗浄し、 $\text{V}\delta 2\text{-PE}$ 、 $\text{CD}3\text{-BV785}$ 、及び抗ヒト A647 抗体を用いて FACS バッファー中、 4°C で30分間染色した。次いで、細胞を FACS バッファーで2回洗浄し、 $70 \mu\text{L}$ の FACS バッファーに再懸濁し、 Novocyte で読み取った。全ての分子が、 $\text{CD}33$ を発現する MOLM-13 (図8A) 及び MV4-11 (図8B) 細胞に滴定依存的に結合した。しかしながら、二重特異性 $\gamma\delta\text{TCR} \times \text{CD}33$ 分子のみが、 $\text{V}\gamma 9\text{V}\delta 2\text{T}$ 細胞 (図8C) に

40

50

滴定依存的に結合した。

【0227】

$\gamma\delta$ TCR $\times$ CD33分子(c $\times$ 12083)及びCD33 $\times$ UTコントロール分子のV γ 9V δ 2T細胞媒介死滅活性を、MOLM-13及びMV-411標的細胞、並びに増加V γ 9V δ 2T細胞を用いるFACSベース死滅アッセイにおいて評価した。V δ 2 $^{+}$ $\gamma\delta$ T細胞を、健康なヒトドナーの末梢血leukopackから分離した凍結PBMCから増加させ、10%FBSを含む完全RPMI培地に 1.0×10^6 細胞/mLで再懸濁した。初日に1nMの抗V γ 9 $\times$ IL2-Xを培地に添加した。4日目に細胞を遠沈し、1nMの抗V γ 9 $\times$ IL2-Xを再び添加した。細胞を合計8日間増加させた。増加させた細胞を、生存率色素PI及び抗V δ 2-PEを用いて2%FBS/PBS中で標識した。生存V γ 9V δ 2T細胞を、ソニー株式会社のSH800セルソーターを用いてV δ 2 $^{+}$ PI $^{-}$ 細胞に対してゲーティングすることにより分離した。純度をフローサイトメトリーによって評価し、95%超のV δ 2 $^{+}$ $\gamma\delta$ T細胞であった。MOLM-13及びMV-411細胞を培養物から取り出し、完全RPMIで1回洗浄した後、0.1%BSA/PBSバッファーで洗浄し、1000倍希釈のCellTrace Violetを用いて37℃で10分間標識した。標的細胞を完全RPMI培地に再懸濁し、counting 96ウェルU底プレート上に100 μ L/ウェル(10000細胞)で播種した。選別したV γ 9V δ 2T細胞を5:1のエフェクター細胞対標的細胞の比率にて50 μ L容量で添加した。処理群を二連でプレーティングした。被験物質CD33 $\times$ 1D7v9又は非標的化コントロールCD33 $\times$ UTを50 μ Lの完全RPMI中、最終濃度100nMの4倍で各プレートに添加した。細胞を37℃/5%CO₂で一晩インキュベートした。翌日、細胞を遠沈し、以下の成分:抗ヒトCD3-BV785、抗ヒトV δ 2-PE、Apotracker-green、及びPIを用いて50 μ LのFACSバッファー中、4℃で30分間染色した。その後、プレートをFACSバッファーで2回洗浄し、70 μ LのFACSバッファーに再懸濁し、Quanteonフローサイトメーターで読み取った。死細胞の割合を、Apotracker green及びPIを用いて標識MOLM-13又はMV-411標的細胞について決定した。

10

20

【0228】

図8D及び図8Eに示されるように、CD33 $\times$ 1D7v9による処理は、増加V γ 9V δ 2T細胞によるMOLM-13(図8D)及びMV-411(図8E)標的細胞の死滅の増加をもたらした。 $\gamma\delta$ TCR結合ドメインを欠くCD33 $\times$ UT分子が抗体なしのコントロールと比較して死滅の増加をもたらさなかったため、死滅活性にはCD33とV γ 9との連結が必要とされた。

30

【0229】

実施例9:様々な親和性の $\gamma\delta$ TCR $\times$ 5T4二重特異性分子の活性

抗5T4 VHHドメイン、低親和性ヒト化抗 $\gamma\delta$ VHHドメイン1D7v9(1D7v9 $\times$ 5T4)又は高親和性ヒト化抗 $\gamma\delta$ VHHドメイン1D7v158(1D7v158 $\times$ 5T4)、及びヘテロ二量体ノブインホールFc領域を含む、 $\gamma\delta$ TCR及び代表的な標的抗原5T4($\gamma\delta$ TCR $\times$ 5T4)に結合する二重特異性 $\gamma\delta$ TCR分子のV γ 9V δ 2T細胞媒介死滅活性を、CellTiter-Glo(商標)細胞傷害作用アッセイにおいて評価した。簡潔に述べると、5T4陽性(A375)細胞(及び5T4陰性細胞(A375 Δ 5T4))をCYTO-ID Redで標識し、洗浄し、96ウェルプレートに完全RPMI中でプレーティングし(10000細胞/ウェル)、37℃で2時間接着させた。凍結PBMC($\gamma\delta$ T細胞を増加させるためにゾレドロネートで予め処理した)を完全RPMI培地中で解凍し、標的細胞に対して5:1の(エフェクター:標的細胞)の比率で添加した。処理群を二連でプレーティングした。被験物質を50nMの初期濃度で添加し、アポトーシスを起こしている細胞の核DNAを蛍光標識するカスパーゼ3/7 green試薬とともにプレート全体を1:3で滴定した。プレートを37℃で22時間インキュベートした。Incucyte(商標)を用いてアッセイプレートを定期的に画像化した。赤色/緑色の重なり対象領域の合計を測定することによって標的細胞

40

50

死を決定した。22時間後に上清を除去し、残存する接着（生存標的）細胞をPBSで穏やかに洗浄した後、ATP（生存細胞）の存在下で生物発光を生じるルシフェラーゼベースの試薬であるCell Titer - Glo（商標）2.0を用いて分析した。

【0230】

図9A及び図9Bに示されるように、両方の二重特異性 $\gamma\delta$ TCR $\times$ 5T4分子が、A549細胞において $\gamma\delta$ T細胞媒介カスパーゼ-3/7活性化を誘導したが、A375 Δ 5T4細胞においては誘導しなかった。図9C及び図9Dに示されるように、 $\gamma\delta$ TCR $\times$ 5T4分子によって誘導された標的依存性カスパーゼ活性化は、標的依存性の $\gamma\delta$ T細胞媒介細胞傷害作用（細胞生存により評価される）と相関していた。図9A及び図9Bに示すEC50値から分かるように、各分子の効力は、抗 $\gamma\delta$ TCR VHHドメインの親和性に影響され、1D7v158を含む分子は、1D7v9を含む分子よりも約2倍高い効力を示した。したがって、親和性の異なる抗 $\gamma\delta$ TCR VHHドメインを用いて分子の効力を調節することができる。

10

【0231】

実施例10：抗 $\gamma\delta$ TCR結合VHH 1D7は、カニクイザル $\gamma\delta$ T細胞に結合し、融合分子を効果的に標的化する

ヒトIgG1 Fc x ELL（配列番号33）に融合した抗 $\gamma\delta$ TCR結合VHH（1D7又は1D7v9）を含む二価分子が、カニクイザルPBMCに由来するV γ 9V δ 2サブセットに特異的に結合する能力を試験した。簡潔に述べると、カニクイザルドナーに由来する増加 $\gamma\delta$ T細胞を解凍し、CTL解凍試薬を用いて2回洗浄し、完全アッセイ培地に 0.5×10^6 細胞/mLで再懸濁した。200 μ Lの再懸濁細胞、又は10000細胞/ウェルを非滅菌96ウェルU底プレートに添加した。細胞を遠沈し、100 μ LのFACSバッファをウェルに添加した。抗体をU底プレートに最終開始濃度100nMの2倍で100 μ L添加し、プレートをFACSバッファ中1:5で滴定した。被験物質を添加しないウェルについては、100 μ L/ウェルのFACSバッファを代わりに添加した。プレートを4℃で30分間インキュベートした。細胞をFACSバッファで2回洗浄し、CD3-BV421、抗V γ 9-FITC、及び抗ヒトFc γ -A647を用いて50 μ LのFACSバッファ中、4℃で30分間染色した。インキュベーション後、プレートをFACSバッファで2回洗浄し、70 μ LのFACSバッファに再懸濁し、 $\gamma\delta$ T細胞への結合をNovocyteでフローサイトメトリーによって決定した。

20

30

【0232】

図10Aに示されるように、両方の二価分子が用量依存的にV γ 9+ $\gamma\delta$ T細胞サブセットに特異的に結合した。1D7v9 VHHを含む二価分子は、カニクイザル $\gamma\delta$ T細胞に対してより低い結合親和性を示し、このヒト化変異体に対するより低い親和性は、ヒト $\gamma\delta$ T細胞に対しても観察された（上記実施例5を参照されたい）。

【0233】

抗 $\gamma\delta$ TCR結合VHH 1D7を含む一価 $\gamma\delta$ TCR標的化IL-2-X分子（cx11026）が、STAT5リン酸化を介したIL2-シグナル伝達を増強する能力を、数匹のカニクイザルPBMCドナーにわたって試験した。簡潔に述べると、3匹のドナーからPBMCを分離し、完全培地中で一晩静置した。細胞を以下の蛍光コンジュゲート抗体：非競合抗V γ 9-FITC、抗CD3-B421を用いて室温で20分間標識した。洗浄後、1ウェル当たり400000個のPBMCを96ウェルプレートに播種した。最終開始濃度100nMの4倍で添加される、抗 $\gamma\delta$ TCR-1D7のC末端に融合したIL-2-Xを含む融合タンパク質（cx11026）の滴定によって細胞を処理し、プレート全体をアッセイ培地（50 μ L）中1:5で滴定した。最終総容量は200 μ L/ウェルとした。プレートを37℃/5%CO₂で20分間インキュベートした。細胞を100 μ L/ウェルのBD Fixation/Permeabilization buffer中で45分間固定した後、100 μ L/ウェルのBD Permeabilization buffer IIIで1時間透過処理し、FACSバッファで3回洗浄し

40

50

た。次いで、 $50\mu\text{L}$ ／ウェルのFACS希釈pSTAT5抗体を用いて細胞を 4°C で一晩染色した。翌日、細胞をFACSバッファーで2回洗浄し、 $70\mu\text{L}$ のFACSバッファーに再懸濁し、 $\text{V}\gamma 9^{+}\gamma\delta\text{T}$ 細胞又は $\text{V}\gamma 9^{-}\gamma\delta^{-}\alpha\beta\text{T}$ 細胞のリン酸化STAT5（「pSTAT5」）のレベルをQuanteonフローサイトメーターでフローサイトメトリーによって測定した。

【0234】

図10Bに示されるように、一価抗 $\gamma\delta\text{TCR}-1\text{D}7$ 標的化IL-2__Xによる処理は、3つ全てのカニクイザルPBMCドナー試料にわたってpSTAT5 $^{+}\text{V}\gamma 9^{+}\gamma\delta\text{T}$ の割合の用量依存的な増加をもたらした。いずれのドナーの $\alpha\beta\text{T}$ 細胞上にも検出可能なpSTAT5は存在しなかった。

【0235】

抗 $\gamma\delta\text{TCR}$ 結合VHH 1D7を含む一価 $\gamma\delta\text{TCR}$ 標的化IL-2__X分子（cx11026）が $\text{V}\gamma 9^{+}\gamma\delta\text{T}$ 細胞増殖を増強する能力を、数匹のカニクイザルPBMCドナーにわたって試験した。簡潔に述べると、実施例2に記載されるように、PBMCを新鮮なカニクイザル血液試料から新鮮分離し、CellTrace Violetで標識し、1ウェル当たり300000個添加した。抗 $\gamma\delta\text{TCR}-1\text{D}7$ （cx11026）又は標的化されていないコントロールVHH（cx9452）のいずれかのC末端に融合したIL-2__Xを含む融合タンパク質を最終開始濃度100nMの4倍で $50\mu\text{L}$ 添加し、全体をアッセイ培地中1：5で滴定した。 $50\mu\text{L}$ の培地を添加して最終総容量を $200\mu\text{L}$ ／ウェルとし、アッセイプレートを 37°C ／5%CO₂で7日間インキュベートした。以下の蛍光コンジュゲート抗体：CD3-APC、 $\text{V}\gamma 9-\text{FITC}$ 、DNAM1-PE、NKGD-APC／Cy7及び生存率色素ヨウ化プロピジウムを用いて細胞を 4°C で30分間標識した。細胞を洗浄し、Quanteonフローサイトメーターでフローサイトメトリーによって分析した。

【0236】

2匹の代表的なドナーからのデータを図10C～図10Fに提示し、抗 $\gamma\delta\text{TCR}-1\text{D}7$ （cx11026）標的化IL-2__Xによる処理が $\text{V}\gamma 9\gamma\delta\text{T}$ 細胞の増殖の用量依存的な増加をもたらしたことを示す（図10C及び図10E）。さらに、全CD3 ^{+}T 細胞集団中の $\text{V}\gamma 9\gamma\delta\text{T}$ 細胞の割合は、抗 $\gamma\delta\text{TCR}-1\text{D}7$ 標的化IL-2__X処理によって実質的に増加した（図10D及び図10F）。IL-2__Xに融合した標的化されていないVHH（cx9452）は、 $\text{V}\gamma 9\gamma\delta\text{T}$ 細胞の増殖を促進せず、標的特異性が示された。

【0237】

これらの研究を総合すると、ヒト $\gamma\delta\text{TCR}$ 結合VHHである1D7及びヒト化型がカニクイザル $\gamma\delta\text{T}$ 細胞と特異的に交差反応し、これらのVHHドメインが融合分子（例えば、 $\gamma\delta\text{TCR}\times\text{IL}-2_X$ ）をカニクイザル $\gamma\delta\text{T}$ 細胞に効果的に標的化することが示される。

【0238】

本開示は、本発明の趣旨又は本質的な特徴から逸脱することなく、他の特定の形態で具体化され得る。したがって、上述の実施形態は、全ての点で例示としてみなされるべきであって、本開示を限定するものとはみなされない。したがって、本開示の範囲は、上述の詳細な説明ではなく、添付の特許請求の範囲によって示されるため、特許請求の範囲の意味及び均等の範囲内にある全ての変更は、本明細書に含まれることが意図される。

【0239】

10

20

30

40

50

【表 3】

或る特定の複合体の表

複合体	ポリペプチド‡	配列番号
c x 7 5 3 0 一価 5 C 8 VHH 修飾 I L - 2	O p r I 1 8 v 1 3 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	9、70； 修飾 I L - 2
	5 C 8 VHH-F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	10
c x 1 0 7 6 2 二価 5 C 8 VHH 修飾 I L - 2	5 C 8 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	11；修飾 I L - 2
	5 C 8 VHH-F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	10
c x 1 0 7 7 4 二価 6 C 4 VHH 修飾 I L - 2	6 C 4 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	12；修飾 I L - 2
	6 C 4 VHH-F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	13
c x 1 0 7 6 7 一価 6 C 4 修飾 I L - 2	6 C 4 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	12；修飾 I L - 2
	4 0 1 A 9 v 1 VHH-F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	14
c x 1 1 0 0 5 一価 5 C 8 VHH 修飾 I L - 2	5 C 8 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	11；修飾 I L - 2
	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	48
c x 9 4 5 2 標的化されていない修飾 I L - 2	4 0 1 A 9 v 1 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	15；修飾 I L - 2
	4 0 1 A 9 v 1 VHH-F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	14
c x 1 1 0 2 6 一価 1 D 7 VHH 修飾 I L - 2	1 D 7 VHH-F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ 修飾 I L - 2	16；修飾 I L - 2
	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	48
c x 1 1 4 9 8 γ δ TCR x C D 2 0	h u 1 D 7 v 9 1 F c 領域 I g G 1 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	78
	抗 C D 2 0 VHH F c 領域 I g G x E L L ノブ	79
c x 1 2 0 8 3 γ δ TCR x C D 3 3	抗 C D 3 3 VHH F c 領域 x E L L ノブ	181
	1 D 7 v 9 VHH F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	182
c x 1 2 0 5 6 C D 3 3 x U T (非標的化)	抗 C D 3 3 I g G x E L L - h F c - ノブ	183
	4 G F T v 1 VHH-F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	184

‡ O p r I 1 8 v 1 3 VHH、4 G F T v 1 VHH及び4 0 1 A 9 v 1 VHHドメインは、無関連抗原に結合し、非結合コントロールVHHドメインとして使用される

【0240】

10

20

30

40

50

【表 4】

或る特定の配列の表

配列番号	説明	配列
1	ヒト γ δ TCRサブユニット	AGHLEQPQISSTKTLSTARLECVVSGITISATSVYWRERPGVEVIQF LVSISYDGTVRKESGIPSGKFEVDRIPESTSTLTIHNVEKQDIATYY CALWEAQQELGKKIKVFGPGTKLIITDKQLDADVSPKPTIFLPSIAET KLQKAGTYLCLLEKFFPDVIKIHWEKKSNLILGSQEGNTMKTNDTYM KFSWLTVPKSLDKHEHCIVRHENNKNGVDQEIIFFPIIP
2	1 D 7 V H H	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMNSLKPEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTQVTVKP
3	1 D 7 及びヒト化 1 D 7 (h u 1 D 7) v 1、v 2、v 9 ~ v 28、v 30 ~ v 39、v 57 ~ v 102、v 112、v 113、v 124、v 125、v 139、v 158 及び v 158 - 1 ~ v 158 - 10 の C D R 1	RGKISQYRMG
144	h u 1 D 7 v 3 の C D R 1	GGKISQYRMG
145	h u 1 D 7 v 4 の C D R 1	RFKISQYRMG
146	h u 1 D 7 v 5 の C D R 1	RGTISQYRMG
147	h u 1 D 7 v 6 の C D R 1	RGKFSQYRMG
148	h u 1 D 7 v 7 及び h u 1 D 7 v 29 の C D R 1	RGKISSYRMG
149	h u 1 D 7 v 8 の C D R 1	RGKISQYAMG
4	1 D 7 及び h u 1 D 7 v 1 ~ v 10、v 18 ~ v 29、v 31 ~ v 39、v 57 ~ v 102、v 112、v 113、v 124、v 125、v 139、v 158 及び v 158 - 1、v 158 - 2、v 158 - 4 ~ v 158 - 10 の C D R 2	HISNTGDAAE
150	h u 1 D 7 v 11 及び v 153 - 5 の C D R 2	AIISNTGDAAE
151	h u 1 D 7 v 12 の C D R 2	HISGTGDAAE
152	h u 1 D 7 v 13 の C	HISNSGDAAE

10

20

30

40

50

	D R 2	
153	h u 1 D 7 v 1 4 の C D R 2	HISNTGGAAE
154	h u 1 D 7 v 1 5 の C D R 2	HISNTGDSAE
155	h u 1 D 7 v 1 6 の C D R 2	HISNTGDATE
156	h u 1 D 7 v 1 7 及び h u 1 D 7 v 3 0 の C D R 2	HISNTGDAAY
5	1 D 7 及び h u 1 D 7 v 1 ~ v 3 9、v 5 7 ~ v 1 0 2 及び v 1 5 8 の C D R 3	VEDILA
6	5 C 8 V H H	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRPFSSNYAMGWFRQAPGKEREFV AAISWSGGSTSYADSVKGRFTISRDNKNTVYLMNSPKPEDTAIYYC AAQFSGADYGFRLGIRGYEYDYWGQGTQVTVKP
7	6 C 4 V H H	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSVRTFSDYRMGWFRQAPGKEREFV STISWSGGLTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLMNSLKPEDTAVYYC AAGGGYAGGTYYHPEEWGQGTQVTVKP
8	4 0 1 A 9 v 1 (標的 化されていない) V H H	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSINSINVMWYRQAPGKERDLV AGITSDGDTNYAESVKGRFTISRDNKNTLYLMSSSLRAEDTAVYYCR ARDWGS�TDYWGQGTLLVTVKP
9	O p r I 1 8 v 1 3 (標的 化されていない) V H H	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASETIFRNTMAWYRQAPGKRREL GYITWAGRTGYAESVEGRFTISRDNKNTVYLMSSSLRAEDTAVYYCN KHGSSFTQDYWGQGTLLVTVKP
17	h u 1 D 7 v 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
18	h u 1 D 7 v 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASRGKISQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
19	h u 1 D 7 v 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASGGKISQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
20	h u 1 D 7 v 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRFKISQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
21	h u 1 D 7 v 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGTISQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
22	h u 1 D 7 v 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKFSQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
23	h u 1 D 7 v 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISSYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP
24	h u 1 D 7 v 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYAMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLLVTVKP

10

20

30

40

50

25	h u 1 D 7 v 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
26	h u 1 D 7 v 1 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV SHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
27	h u 1 D 7 v 1 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AAISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
28	h u 1 D 7 v 1 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISGTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
29	h u 1 D 7 v 1 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNSGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
30	h u 1 D 7 v 1 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGGAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
31	h u 1 D 7 v 1 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDSAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
72	h u 1 D 7 v 1 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDATEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
73	h u 1 D 7 v 1 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAYYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
74	h u 1 D 7 v 1 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYAESVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
75	h u 1 D 7 v 1 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
76	h u 1 D 7 v 2 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRDNKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
77	h u 1 D 7 v 2 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRDSAKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
80	h u 1 D 7 v 2 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNTVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
81	h u 1 D 7 v 2 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKP
82	h u 1 D 7 v 2 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NAVEDILAWGQGTLVTVKP
83	h u 1 D 7 v 2 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC ASVEDILAWGQGTLVTVKP

10

20

30

40

84	h u 1 D 7 v 2 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKGLEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYYC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
85	h u 1 D 7 v 2 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
86	h u 1 D 7 v 2 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
87	h u 1 D 7 v 2 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISSYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
88	h u 1 D 7 v 3 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
89	h u 1 D 7 v 3 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
90	h u 1 D 7 v 3 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVESVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
91	h u 1 D 7 v 3 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
92	h u 1 D 7 v 3 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRDNKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
93	h u 1 D 7 v 3 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
94	h u 1 D 7 v 3 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYYC NSVEDILAWGQGTLVTVKPG
95	h u 1 D 7 v 3 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVKPG
96	h u 1 D 7 v 3 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NVVEDILAWGQGTLVTVKPG
97	h u 1 D 7 v 3 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVRPG
98	h u 1 D 7 v 5 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVRP
99	h u 1 D 7 v 5 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVRP
100	h u 1 D 7 v 5 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVAPVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTLVTVRP

10

20

30

40

50

101	h u 1 D 7 v 6 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRDNAKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
102	h u 1 D 7 v 6 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVRP
103	h u 1 D 7 v 6 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVAPVKDRFTISRDNAKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVRP
104	h u 1 D 7 v 6 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVAPVKDRFTISRDNAKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVRP
105	h u 1 D 7 v 6 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVESVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
106	h u 1 D 7 v 6 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDAVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
107	h u 1 D 7 v 6 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDTVDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
108	h u 1 D 7 v 6 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC QSVEDILAWGGGTLVTVRP
109	h u 1 D 7 v 6 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC SSVEDILAWGGGTLVTVRP
110	h u 1 D 7 v 6 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC TSVEDILAWGGGTLVTVRP
111	h u 1 D 7 v 7 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC ESVEDILAWGGGTLVTVRP
112	h u 1 D 7 v 7 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDVVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
113	h u 1 D 7 v 7 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDLVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
114	h u 1 D 7 v 7 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDIVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
115	h u 1 D 7 v 7 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVASVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
116	h u 1 D 7 v 7 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVGSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
117	h u 1 D 7 v 7 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP

10

20

30

40

50

118	h u 1 D 7 v 7 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC YSVEDILAWGGGTLVTVRP
119	h u 1 D 7 v 7 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NAVEDILAWGGGTLVTVRP
120	h u 1 D 7 v 7 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NLVEDILAWGGGTLVTVRP
121	h u 1 D 7 v 8 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NVVEDILAWGGGTLVTVRP
122	h u 1 D 7 v 8 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC ASVEDILAWGGGTLVTVRP
123	h u 1 D 7 v 8 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVESVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
124	h u 1 D 7 v 8 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDGKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
125	h u 1 D 7 v 8 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVEGKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
126	h u 1 D 7 v 8 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVSGKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
127	h u 1 D 7 v 8 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVGGKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
128	h u 1 D 7 v 8 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVQSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
129	h u 1 D 7 v 8 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVQGVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
130	h u 1 D 7 v 8 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC QGVEDILAWGGGTLVTVRP
131	h u 1 D 7 v 9 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC SGVEDILAWGGGTLVTVRP
132	h u 1 D 7 v 9 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC GGVEDILAWGGGTLVTVRP
133	h u 1 D 7 v 9 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC QNVEDILAWGGGTLVTVRP
134	h u 1 D 7 v 9 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLMSSSLRAEDTAVYKC NQVEDILAWGGGTLVTVRP

10

20

30

40

50

135	h u 1 D 7 v 9 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
136	h u 1 D 7 v 9 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC SSVEDILAWGGGTLVTVRP
137	h u 1 D 7 v 9 6 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
138	h u 1 D 7 v 9 7 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC YSVEDILAWGGGTLVTVRP
139	h u 1 D 7 v 9 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVLSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
140	h u 1 D 7 v 9 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVSSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
141	h u 1 D 7 v 1 0 0 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYYC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
142	h u 1 D 7 v 1 0 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC AAVEDILAWGGGTLVTVRP
143	h u 1 D 7 v 1 0 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVRP
175	1 D 7 v 1 1 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDVVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
176	1 D 7 v 1 1 3 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDLVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
177	1 D 7 v 1 2 4 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVDGVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
178	1 D 7 v 1 2 5 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVEGVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
179	1 D 7 v 1 3 9 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKERELV AHISNTGDAAEYVLSVKDRFTISRSTKNALYLQMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGGTLVTVRP
158	h u 1 D 7 v 1 5 8 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELV AHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVEP
159	h u 1 D 7 v 1 5 8 — 1 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELV AHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVEP
166	h u 1 D 7 v 1 5 8 — 2 V H H	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELV SHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGGGTLVTVEP

10

20

30

40

50

167	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 3 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AAISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
168	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 4 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AHISNTGDAAEYAAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
169	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 5 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AHISNTGDAAEYVEPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
170	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 6 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AHISNTGDAAEYVASVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
171	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 7 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
172	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 8 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AHISNTGDAAEYAESVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
173	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 9 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKREFV AHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYKC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
174	h u 1 D 7 v 1 5 8 – 1 0 V H H	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQRELVA AHISNTGDAAEYVAPVKGRFTISRDNAKNALYLQMNSLRAEDTAVYYC NTVEDILAWGQGTLVTVEP
180	コンセンサスヒト化 1 D 7 (c 1 D 7)	EVQLLES ~~GGGEV~~ QPGGSLRLSCX ₁ ASX ₂ GX ₃ X ₄ SQYRMGWYRQAPGKX ₅ X ₆ EX ₇ VX ₈ X ₉ ISNX ₁₀ GX ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ YX ₁₅ X ₁₆ X ₁₇ VKX ₁₈ RFTISRDX ₁₉ X ₂₀ K NX ₂₁ X ₂₂ YLQMX ₂₃ SLRAEDTAVYX ₂₄ CX ₂₅ X ₂₆ VEDILAWGQGTLVTVX ₂₇ P ここで、X ₁ はV又はAであり、X ₂ はR又はGであ り、X ₃ はK又はTであり、X ₄ はI又はFであり、 X ₅ はQ、G又はEであり、X ₆ はR又はLであり、 X ₇ はL、W又はFであり、X ₈ はA又はSであり、 X ₉ はH又はAであり、X ₁₀ はT又はSであり、X ₁₁ はD又はGであり、X ₁₂ はA又はSであり、X ₁₃ はA又はTであり、X ₁₄ はE又はYであり、X ₁₅ は V又はAであり、X ₁₆ はD、E、A、G、V、S、 Y、L又はQであり、X ₁₇ はS、P、T、A、V、 L、I、又はGであり、X ₁₈ はG又はDであり、X ₁₉ はS又はNであり、X ₂₀ はT又はAであり、X ₂₁ はA又はTであり、X ₂₂ はV又はLであり、X ₂₃ は N又はSであり、X ₂₄ はK又はYであり、X ₂₅ はN 、S、E、Y、A、S、G、Qであり、X ₂₆ はS、 T、A、L、V、N又はGであり、X ₂₇ はK、R、 E、又はDである。
32	ヒト I g G 1 F c 領 域	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
33	ヒト I g G 1 F c x E L L	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

157	ヒ ト I g G 1 F c N N T	GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLNSTLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
34	F c 領域 M 2 5 2 Y 及 び M 4 2 8 V (Y V) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	F c 領域 M 2 5 2 Y、 M 4 2 8 V、H 4 3 5 R (Y V R) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
36	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNRYTQKSLSLSPGK
37	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
38	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
39	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 L 、H 4 3 5 R (Y L R)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
40	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 V 、H 4 3 5 R (Y V R)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSVVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
41	F c 領域 x E L L S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
42	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNRYTQKSLSLSPGK
43	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V) S 3 5 4	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSLKLTVDKSRWQQGNVSCSV MHEALHNRYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

	C T 3 6 6 W ノブ	LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
44	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 L 、H 4 3 5 R (Y L R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
46	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 V 、H 4 3 5 R (Y V R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノブ	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
47	F c 領域 x E L L T 3 6 6 S、L 3 6 8 A 、Y 4 0 7 V ホール	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
48	F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S 、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
49	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 V (Y V) T 3 6 6 S 、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y 及び M 4 2 8 L (Y L) T 3 6 6 S 、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
51	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 L 、H 4 3 5 R (Y L R) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホー ル	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
52	F c 領域 x E L L M 2 5 2 Y、M 4 2 8 V 、H 4 3 5 R (Y V R) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホー ル	DKHTCPCPPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
53	F c 領域 H 4 3 5 R	DKHTCPCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS

10

20

30

40

50

		LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK
54	F c 領域 M 2 5 2 Y 及 び M 4 2 8 V (Y V)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55	F c 領域 M 2 5 2 Y 及 び M 4 2 8 L (Y L)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
56	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 L 、 H 4 3 5 R (Y L R)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
57	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 V 、 H 4 3 5 R (Y V R)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
58	F c 領域 S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
59	F c 領域 H 4 3 5 R S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK
60	F c 領域 M 2 5 2 Y 及 び M 4 2 8 L (Y L) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNHYTQKSLSLSPGK
61	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 L 、 H 4 3 5 R (Y L R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
62	F c 領域 M 2 5 2 Y 、 M 4 2 8 V 、 H 4 3 5 R (Y V R) S 3 5 4 C T 3 6 6 W ノ ブ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVHEALHNRYTQKSLSLSPGK
63	F c 領域 T 3 6 6 S 、 L 3 6 8 A 、 Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVS LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

64	F c 領域 H 4 3 5 R、 T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISRDELTKNQVS LSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNRYTQKSLSLSPGK
65	F c 領域 M 2 5 2 Y 及 び M 4 2 8 V (Y V) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISRDELTKNQVS LSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMEALHNRYTQKSLSLSPGK
66	F c 領域 M 2 5 2 Y 及 び M 4 2 8 L (Y L) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISRDELTKNQVS LSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
67	F c 領域 M 2 5 2 Y、 M 4 2 8 L、H 4 3 5 R (Y L R) T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISRDELTKNQVS LSCAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVLHEALHNRYTQKSLSLSPGK
68	F c 領域 x E L L P 3 2 9 G、H 4 3 5 R 、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホー ル (C 末端リジンを欠 く)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISRDELTKNQVSLSC AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMEALHNRYTQKSLSLSPG
69	F c 領域 x E L L P 3 2 9 G ノブ (C 末端 リジンを欠く)	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMEALHNRYTQKSLSLSPG
70	F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMEALHNRYTQKSLSLSPG
71	野生型 ヒト I L - 2	APTSSSTKKTQLQLEHLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPK KATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLEL KGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT
10	5 C 8 V H H - F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRPFSSNYAMGFRQAPGKEREFV AAISWSGGSTSYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSPKPEDTAIYYC AAQFSGADYGFGRGLIRGYEYDYWGQGTQVTVKPGGGGDKTHTCPPCP APGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVCTLPISRDELTKNQVSLSCAVKGFPYSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK
11	5 C 8 V H H - F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRPFSSNYAMGFRQAPGKEREFV AAISWSGGSTSYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSPKPEDTAIYYC AAQFSGADYGFGRGLIRGYEYDYWGQGTQVTVKPGGGGDKTHTCPPCP APGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI

10

20

30

40

50

		AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
12	6 C 4 V H H - F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSVRTFSDYRMGWFRQAPGKEREFV STISWSGGLTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYC AAGGGYAGGTYHHPEEWGQGTQVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSV FLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT I SKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
13	6 C 4 V H H - F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 V ホール	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAVSVRTFSDYRMGWFRQAPGKEREFV STISWSGGLTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYC AAGGGYAGGTYHHPEEWGQGTQVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSV FLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT I SKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNRYTQKSLSLSPGK
14	4 0 1 A 9 v 1 V H H - F c 領域 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、Y 4 0 7 Vホール	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSINSINVMEWYRQAPGKERDLV AGITSDGDTNYAESVKGRFTISRDN AKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCR ARDWGS L TDYWGQGT L VTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPK PKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQ KSLSLSPGK
15	4 0 1 A 9 v 1 V H H - F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSINSINVMEWYRQAPGKERDLV AGITSDGDTNYAESVKGRFTISRDN AKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCR ARDWGS L TDYWGQGT L VTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPK PKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
16	1 D 7 V H H - F c 領域 2 I g G 1 x E L L ノブ	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKQREL V AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRDN SKNAVY L QMNSLKPEDTAVYKC NSVEDILAWGQGTQVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPK D TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
78	h u 1 D 7 v 9 F c 領域 I g G 1 x E L L H 4 3 5 R、T 3 6 6 S、L 3 6 8 A、 Y 4 0 7 Vホール	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEW V AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRDN SKNAVY L QMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGQGT L VTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPK D TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKS LSLSPGK
79	抗 C D 2 0 V H H F c 領域 I g G x E L L ノブ	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSMGWFRQAPRKEREFAAI T YSGGSPYYASSVRGRFTISRDN AKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAR LTYGSTWSAENWGQGTQVTVKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPP

10

20

30

40

50

		KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
181	抗CD33 VHH Fc領域 x ELLノブ	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVA EISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNA HSFLDLVGAWGGTGLTVTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK LSLSLSPGK
182	1D7v9 VHH Fc領域 x ELL H 435R、T366S 、L368A、Y40 7Vホール	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCVASRGKISQYRMGWYRQAPGKELEWV AHISNTGDAAEYVDSVKGRFTISRSTKNAVYLMSSLRAEDTAVYKC NSVEDILAWGGTGLTVTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKP DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNRYTQKS LSLSLSPGK
183	抗CD33 IgG x ELL-hFc-ノ ブ	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCAASRSSGIDVMGWYRQAPGKERELVA EISGVGDTNYAASLADRFTVSRDNAKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNA HSFLDLVGAWGGTGLTVTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK LSLSLSPGK
184	4GFTv1 VHH -Fc領域 x ELL H435R、T366 S、L368A、Y4 07Vホール	EVQLVESGGGEVQPGGSLRLSCSAAPERAFSANYAMGWRQAPGKGRF VAGITGSGRSQYYAESVKGRFTISRDNAKNTLYLMSSLRAEDTAVYY CAARVVPVFSESTKGYVYWGQGLTVTKPGGGGDKTHTCPPCPAPGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHE ALHNRYTQKSLSLSLSPGK

10

20

30

【図面】

【図1A】

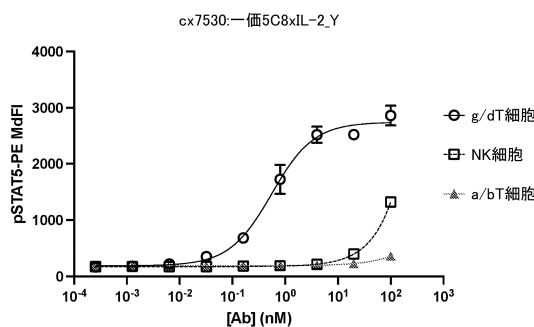


FIG. 1A

【図1B】

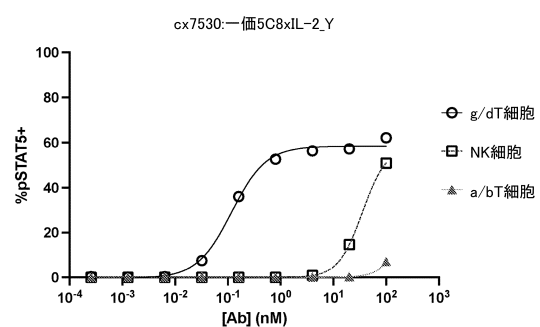


FIG. 1B

40

50

【図 1 C】

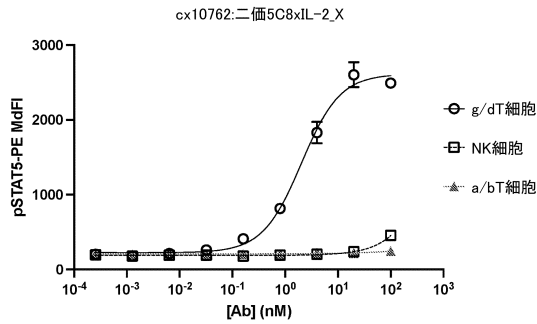


FIG. 1C

【図 1 D】

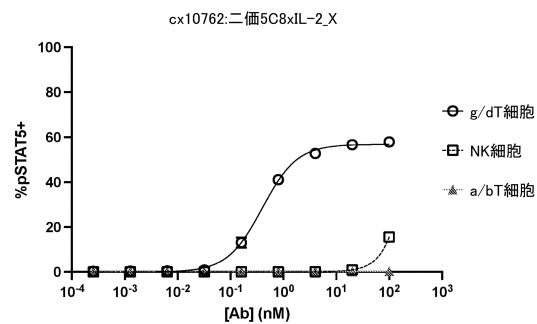


FIG. 1D

【図 1 E】

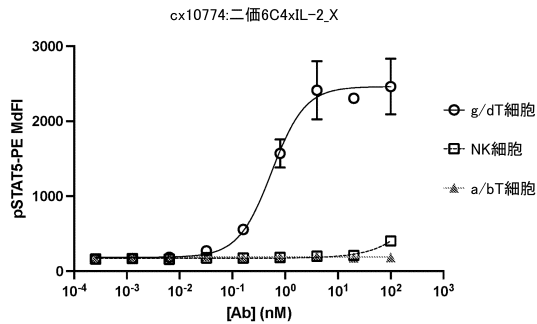


FIG. 1E

【図 1 F】

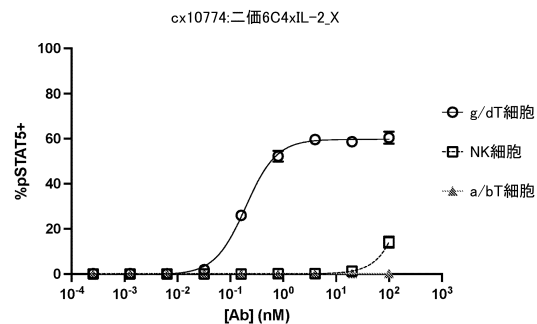


FIG. 1F

【図 1 G】

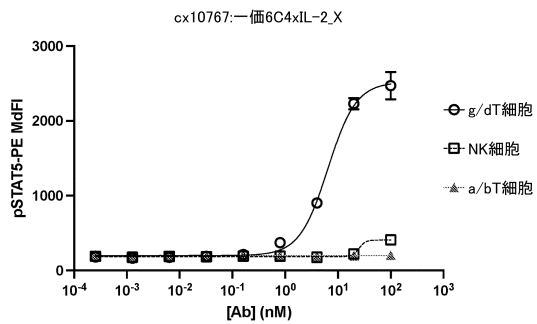


FIG. 1G

【図 1 H】

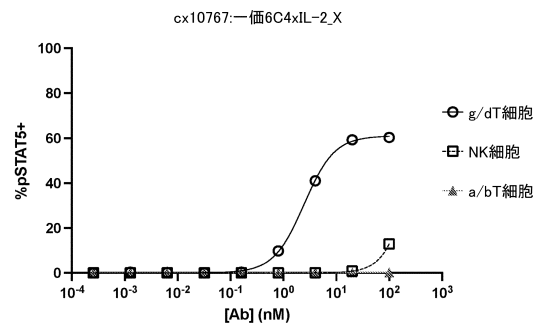


FIG. 1H

10

20

30

40

50

【図 2 A】

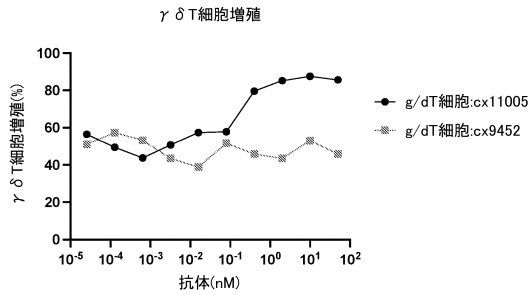


FIG. 2A

【図 2 B】

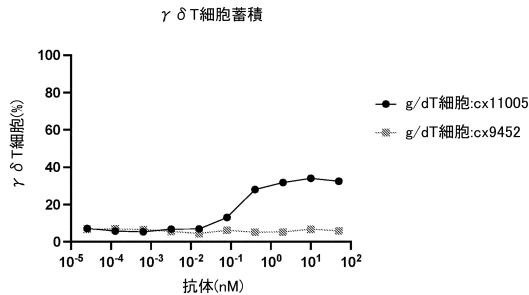


FIG. 2B

10

【図 2 C】

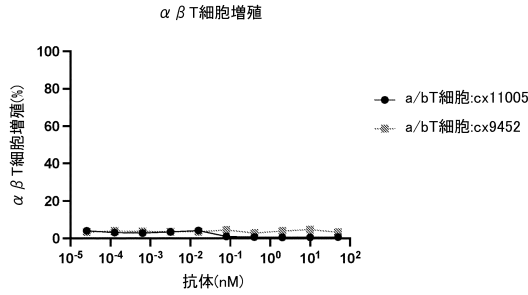


FIG. 2C

【図 2 D】

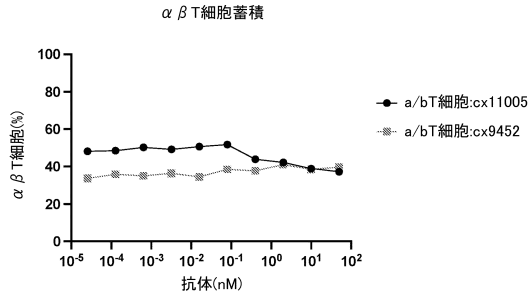


FIG. 2D

20

【図 3 A】

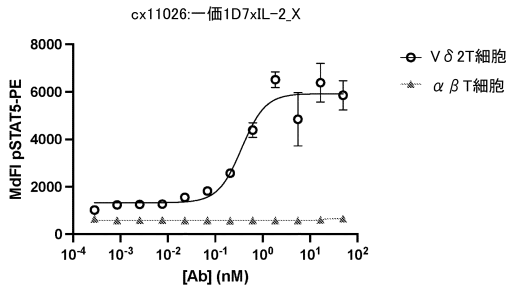


FIG. 3A

【図 3 B】

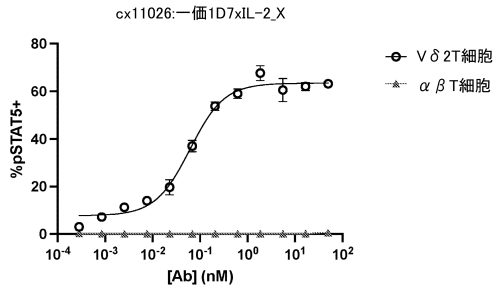


FIG. 3B

30

40

50

【図 4 A】

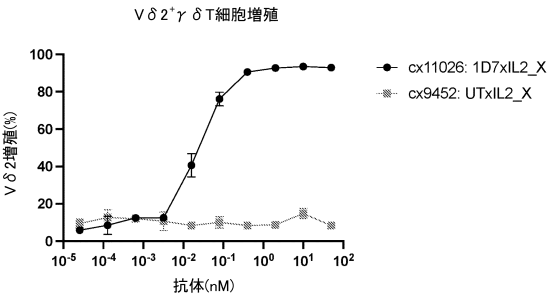


FIG. 4A

【図 4 B】

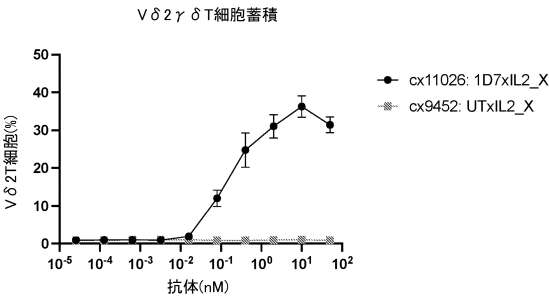


FIG. 4B

10

【図 5 A】

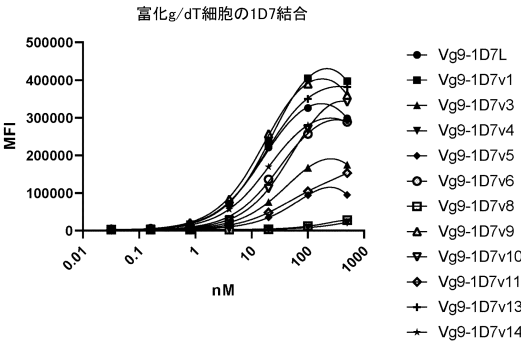


FIG. 5A

【図 5 B】

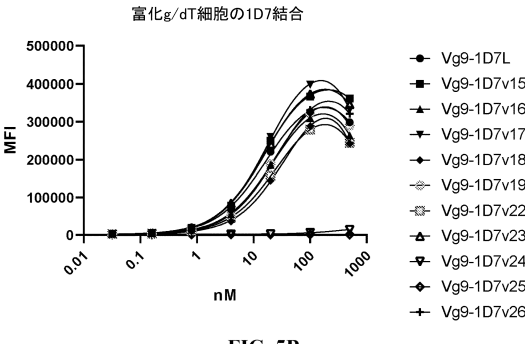


FIG. 5B

20

【図 5 C】

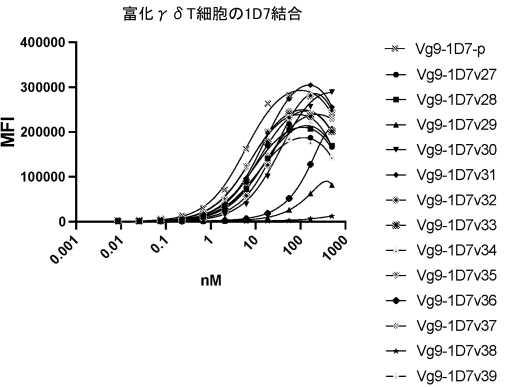


FIG. 5C

【図 5 D】

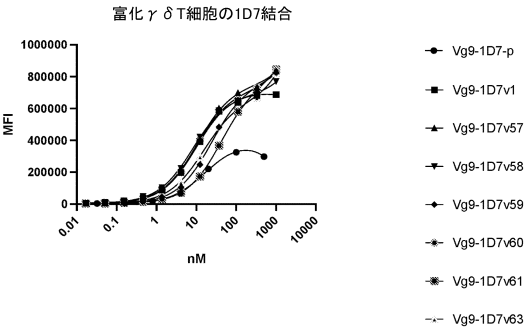


FIG. 5D

30

40

50

【図 5 E】

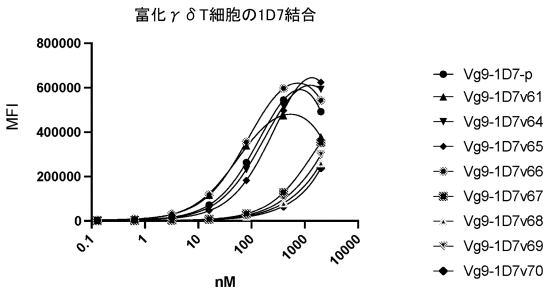


FIG. 5E

【図 5 F】

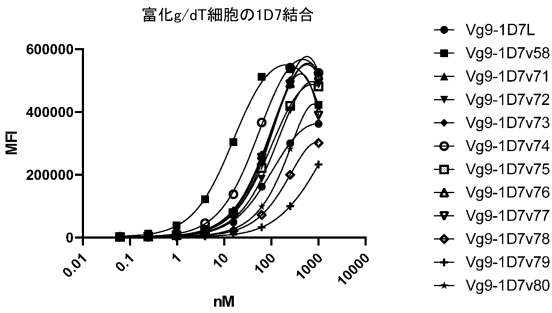


FIG. 5F

10

【図 5 G】

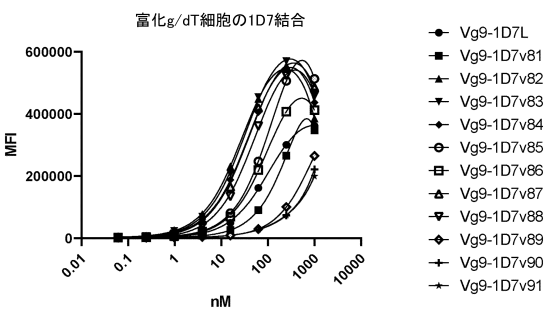


FIG. 5G

【図 5 H】

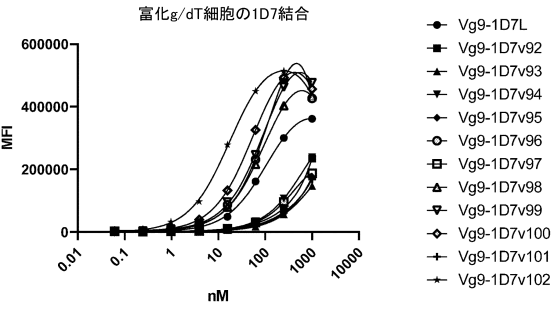


FIG. 5H

20

【図 5 I】

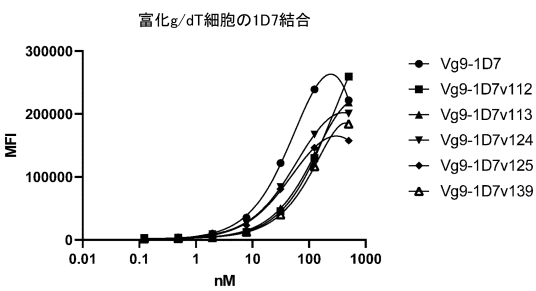


FIG. 5I

【図 5 J】

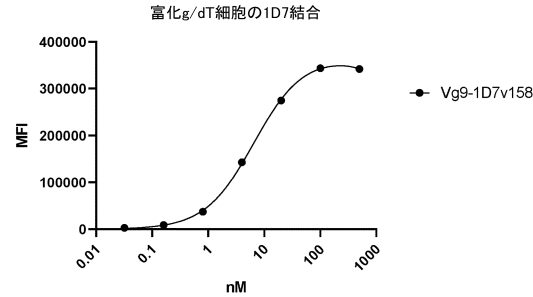


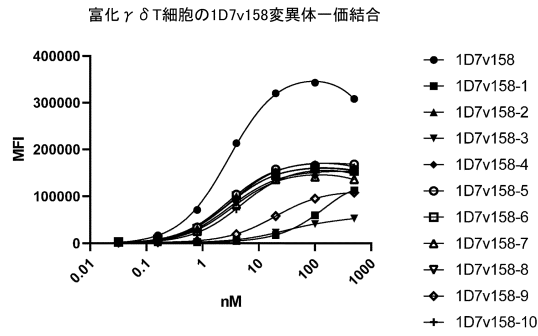
FIG. 5J

30

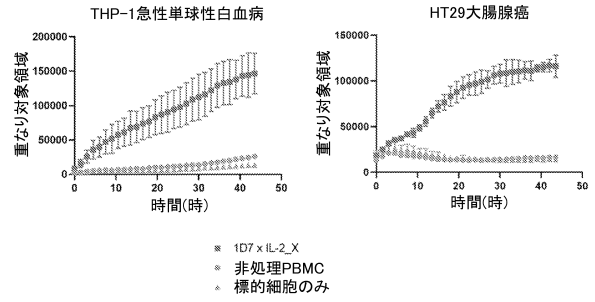
40

50

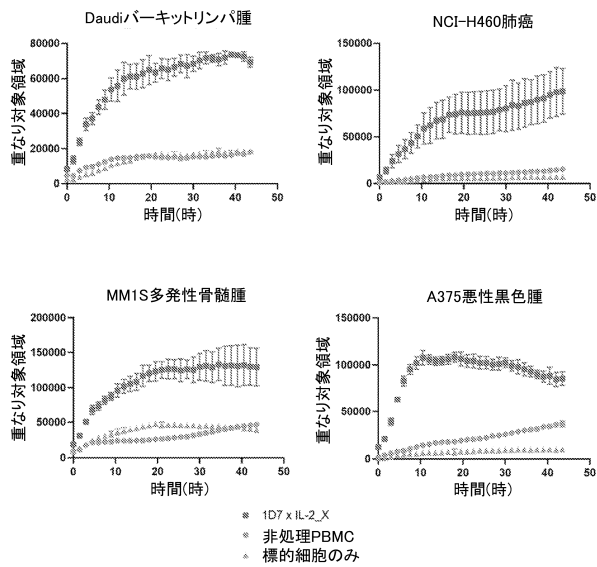
【図 5 K】



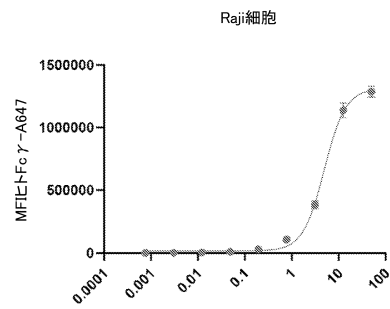
【図 6 A】



【図 6 B】



【図 7 A】



10

20

30

40

50

【図 7 B】

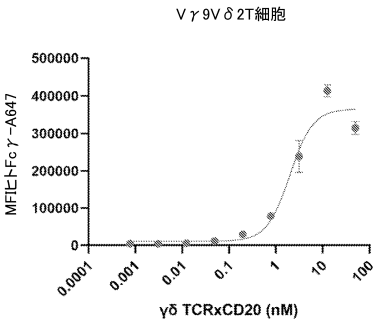


FIG. 7B

【図 7 C】

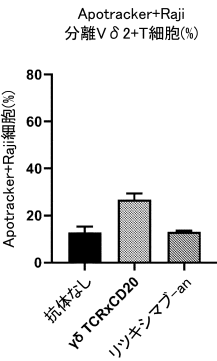


FIG. 7C

【図 7 D】

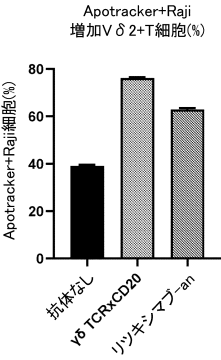


FIG. 7D

【図 8 A】

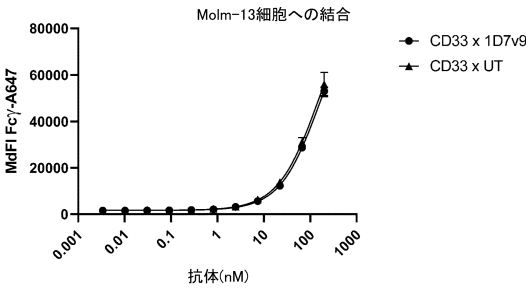


FIG. 8A

【図 8 B】

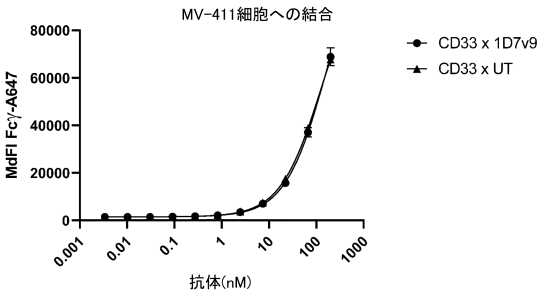


FIG. 8B

【図 8 C】

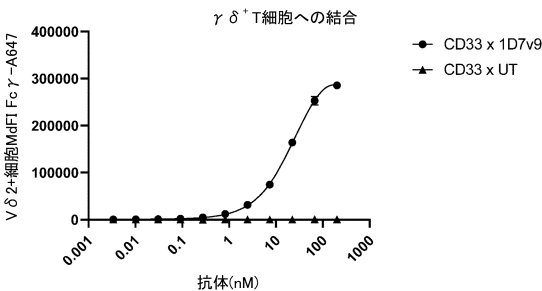


FIG. 8C

10

20

30

40

50

【図 8 D】

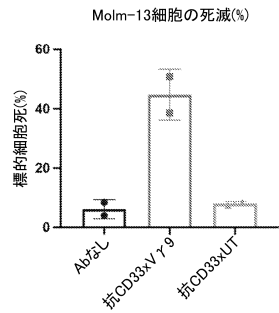


FIG. 8D

【図 8 E】

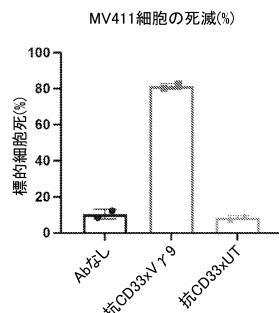


FIG. 8E

10

【図 9 A】

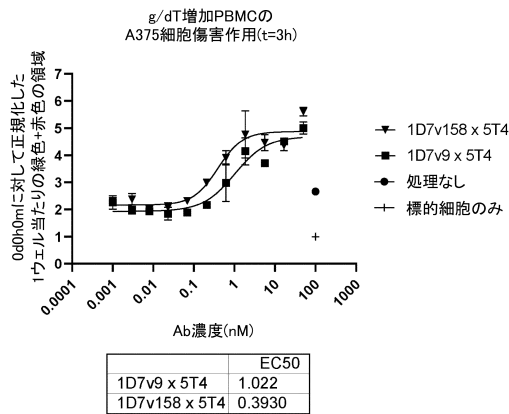


FIG. 9A

【図 9 B】

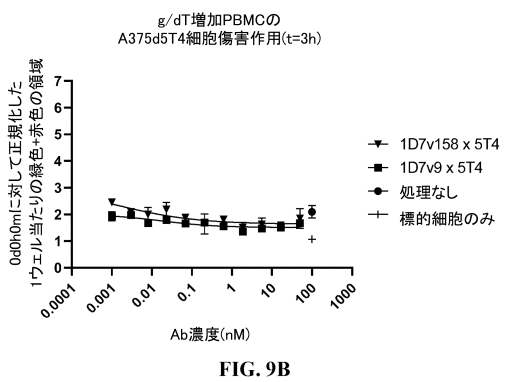


FIG. 9B

20

【図 9 C】

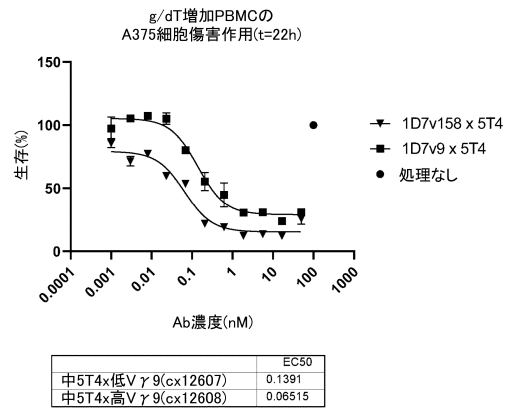


FIG. 9C

【図 9 D】

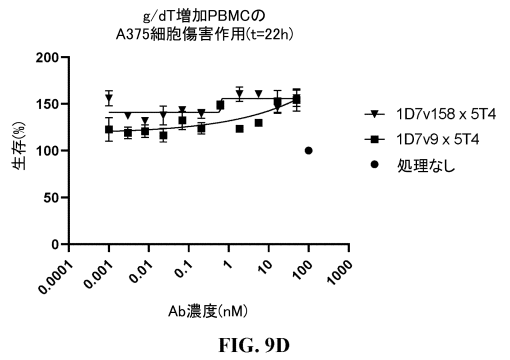


FIG. 9D

30

40

50

【図 10 A】

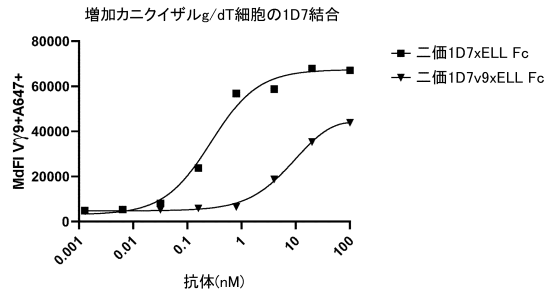


FIG. 10A

【図 10 B】

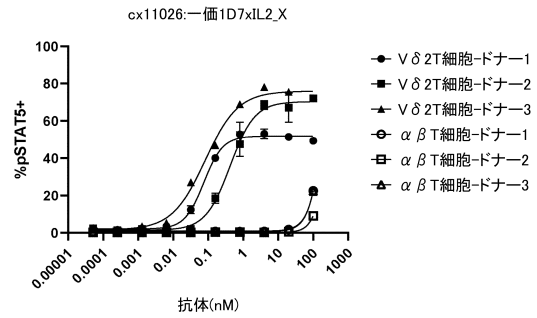


FIG. 10B

10

【図 10 C】

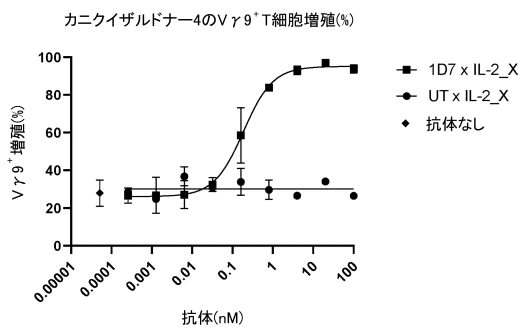


FIG. 10C

【図 10 D】

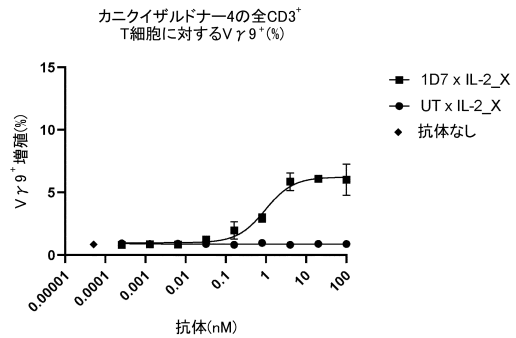


FIG. 10D

20

【図 10 E】

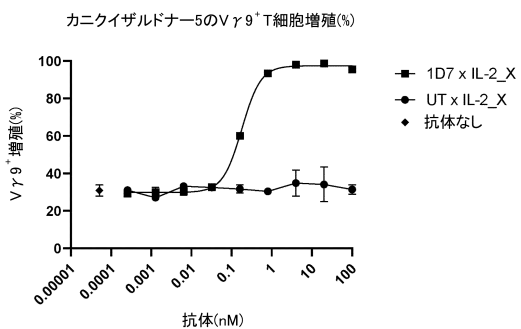


FIG. 10E

【図 10 F】

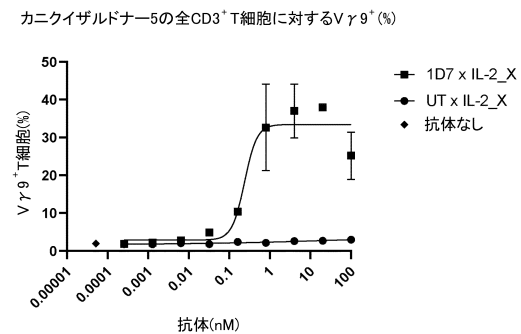


FIG. 10F

30

40

50

【図 1 1 A】

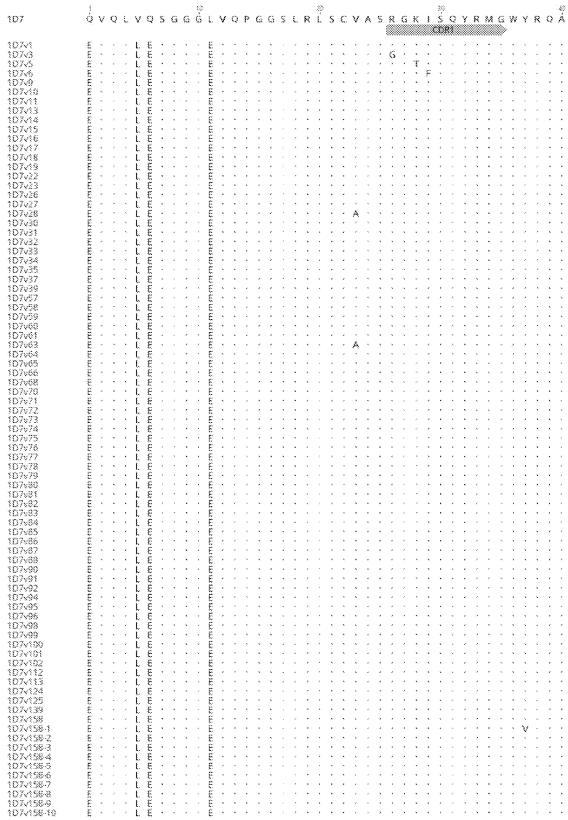


FIG. 11A

【図 1 1 B】

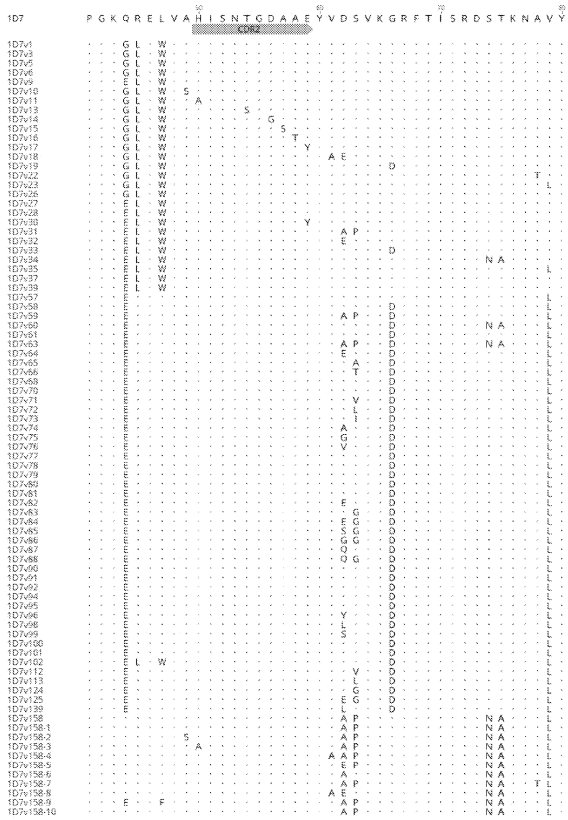


FIG. 11B

【図 1 1 C】

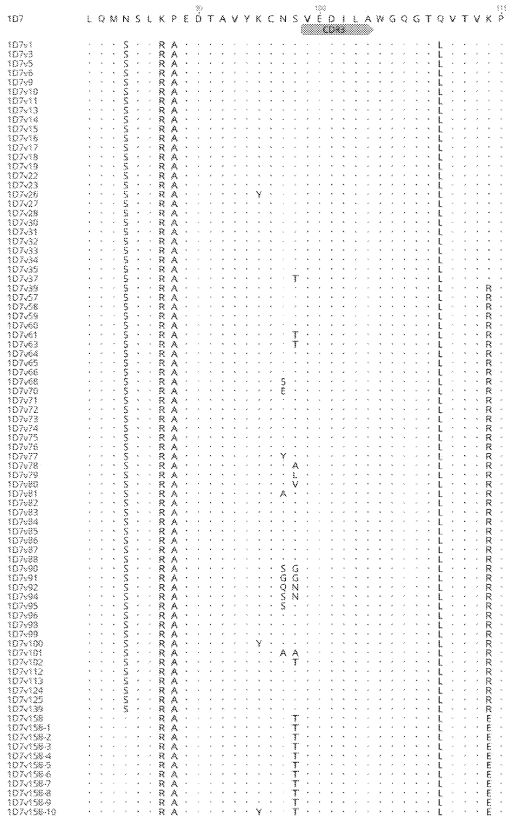


FIG. 11C

【図 1 1 D】

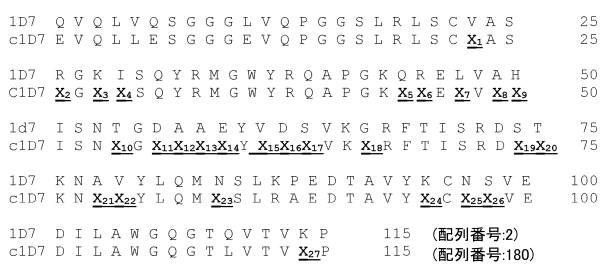


FIG. 11D

10

20

30

40

50

【図 1 2 A】

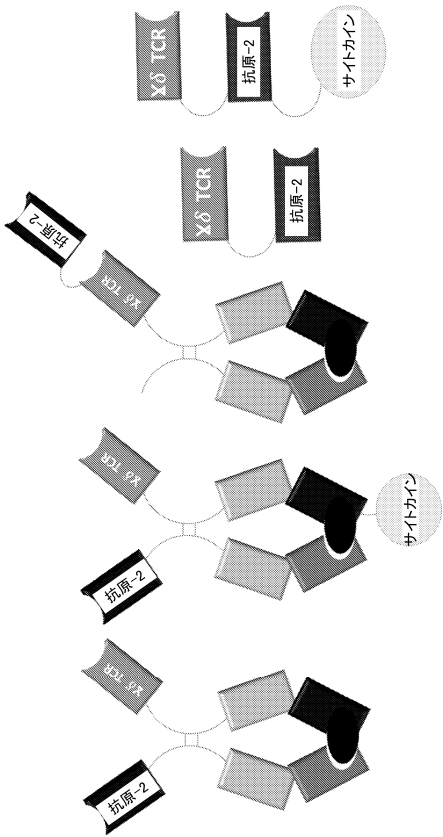


FIG. 12A

【図 1 2 B】

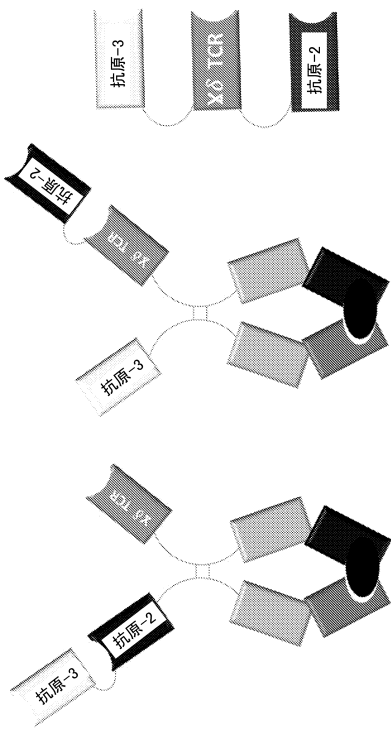


FIG. 12B

【配列表】

2025504363000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/060074

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

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

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

EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE BRUIN RENÉE C G ET AL: "Highly specific and potentially activating V[gamma]9V[delta]2-T cell specific nanobodies for diagnostic and therapeutic applications", CLINICAL IMMUNOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 169, 30 June 2016 (2016-06-30), pages 128-138, XP029675864, ISSN: 1521-6616, DOI: 10.1016/J.CLIM.2016.06.012	1-9, 18-61
Y	page 130, items 2.7-2.11; table 1	10-17
X	WO 2020/159368 A1 (LAVA THERAPEUTICS BV [NL]; STICHTING VUMC [NL]) 6 August 2020 (2020-08-06)	1-9, 18-61
Y	example 1	10-17
	----- -/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 March 2023

Date of mailing of the international search report

29/03/2023

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Klee, Barbara

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2023/060074

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2021/113558 A2 (ADICET BIO INC [US]) 10 June 2021 (2021-06-10) claims 1, 33-37 -----	10-12, 15-17
A	WO 2021/176373 A1 (JANSSEN BIOTECH INC [US]) 10 September 2021 (2021-09-10) claims 1-22 -----	10-12, 15-17
X	WO 2015/156673 A1 (STICHTING VU VUMC [NL]) 15 October 2015 (2015-10-15) claims 1, 18, 21 -----	1-9, 18-61 10-17
Y	Creative Biolabs: "Anti-CD8 Antibody-Cytokine Fusion Protein, IL2-IgG (OKT8)", , 4 September 2020 (2020-09-04), XP055732499, Retrieved from the Internet: URL:https://www.creative-biolabs.com/anti- glycan-antibodies/products.htm [retrieved on 2020-09-21] the whole document -----	10-12, 15-17
Y	US 2020/347139 A1 (RASCON LUCAS [US] ET AL) 5 November 2020 (2020-11-05) claim 23; sequences 59,66 -----	13,14
A	WO 2018/202808 A2 (KING S COLLEGE LONDON [GB]) 8 November 2018 (2018-11-08) claims 1-77 -----	10-12, 15-17
Y	WO 2020/076977 A2 (INHIBRX INC [US]) 16 April 2020 (2020-04-16) page124, item 4, [0547], [0559] -----	10-12, 15-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/060074

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:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/060074

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020159368 A1	06-08-2020	AU 2020216250 A1	26-08-2021
		BR 112021015238 A2	15-02-2022
		CA 3128148 A1	06-08-2020
		CN 113993893 A	28-01-2022
		EP 3917960 A1	08-12-2021
		JP 2022519082 A	18-03-2022
		KR 20210141466 A	23-11-2021
		SG 11202108141V A	30-08-2021
		US 2022135694 A1	05-05-2022
		WO 2020159368 A1	06-08-2020
WO 2021113558 A2	10-06-2021	AU 2020398623 A1	23-06-2022
		CA 3160609 A1	10-06-2021
		CN 115397976 A	25-11-2022
		EP 4072567 A2	19-10-2022
		IL 293459 A	01-07-2022
		JP 2023504185 A	01-02-2023
		KR 20220123652 A	08-09-2022
		US 2023009275 A1	12-01-2023
		WO 2021113558 A2	10-06-2021
WO 2021176373 A1	10-09-2021	AU 2021232141 A1	22-09-2022
		BR 112022017419 A2	18-10-2022
		CA 3174074 A1	10-09-2021
		CN 115485369 A	16-12-2022
		EC SP22076334 A	31-10-2022
		EP 4114924 A1	11-01-2023
		IL 295966 A	01-10-2022
		KR 20220150918 A	11-11-2022
		US 2021355442 A1	18-11-2021
		WO 2021176373 A1	10-09-2021
WO 2015156673 A1	15-10-2015	AU 2015244489 A1	01-12-2016
		AU 2020213325 A1	27-08-2020
		CA 2948812 A1	15-10-2015
		CN 106536557 A	22-03-2017
		CN 113105550 A	13-07-2021
		EA 201692039 A1	31-05-2017
		EA 202192165 A1	31-12-2021
		EP 3129404 A1	15-02-2017
		JP 6617138 B2	11-12-2019
		JP 7094931 B2	04-07-2022
		JP 2017513521 A	01-06-2017
		JP 2020029461 A	27-02-2020
		JP 2022136078 A	15-09-2022
		KR 20170019343 A	21-02-2017
		KR 20220021015 A	21-02-2022
		SG 10202007233T A	29-09-2020
		SG 11201609417V A	29-12-2016
		US 2017029506 A1	02-02-2017
		US 2019263908 A1	29-08-2019
		US 2022098301 A1	31-03-2022
		WO 2015156673 A1	15-10-2015
US 2020347139 A1	05-11-2020	AU 2020267349 A1	11-11-2021
		CA 3138972 A1	12-11-2020
		CN 114127115 A	01-03-2022
		EP 3966243 A1	16-03-2022

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2023/060074

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		IL 287781 A	01-01-2022
		JP 2022531306 A	06-07-2022
		KR 20220004751 A	11-01-2022
		SG 11202111731W A	29-11-2021
		US 2020347139 A1	05-11-2020
		WO 2020227073 A1	12-11-2020

WO 2018202808 A2	08-11-2018	AU 2018262698 A1	12-12-2019
		BR 112019023076 A2	09-06-2020
		CA 3062386 A1	08-11-2018
		CN 110914410 A	24-03-2020
		EA 201992610 A1	23-04-2020
		EP 3619298 A2	11-03-2020
		JP 2020518289 A	25-06-2020
		KR 20200024770 A	09-03-2020
		PH 12019502485 A1	04-01-2021
		US 2021087528 A1	25-03-2021
		WO 2018202808 A2	08-11-2018

WO 2020076977 A2	16-04-2020	CA 3115089 A1	16-04-2020
		CN 113166263 A	23-07-2021
		EP 3864045 A2	18-08-2021
		JP 2022504822 A	13-01-2022
		TW 202028245 A	01-08-2020
		US 2021380679 A1	09-12-2021
		WO 2020076977 A2	16-04-2020

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 0 7 K	14/565 (2006.01)	C 0 7 K	14/565	
C 0 7 K	14/57 (2006.01)	C 0 7 K	14/57	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	38/17 (2006.01)	A 6 1 K	38/17	
A 6 1 K	38/20 (2006.01)	A 6 1 K	38/20	
A 6 1 K	38/21 (2006.01)	A 6 1 K	38/21	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	47/62	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	35/76 (2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	

,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,D
E,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,S
M,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,
AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,
ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,L
A,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,V
N,WS,ZA,ZM,ZW

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1
0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド
(72)発明者 ロビンソン ケイトリン エヌ。

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1
0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド

(72)発明者 エクルズ アンドルー エム。

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1
0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド

(72)発明者 ティマー ジョン シー。

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1
0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド

(72)発明者 エッケルマン ブレンダン ピー。

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア ラ ホーヤ ノース トーリー パインズ ロード 1 1
0 2 5 スイート 1 4 0 シー／オー インヒブルクス バイオサイエンシズ インコーポレイテッド

F ターム (参考) 4B064 AG03 AG04 AG05 AG09 AG10 AG12 AG27 CA19 DA01

4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44

4C076 AA95 CC07 CC27 CC41 EE41 EE59 FF70

4C084 AA02 AA07 AA19 BA02 BA41 DA12 DA14 DA18 DA22 DA23

DA24 MA02 NA05 NA14 ZB09 ZB21 ZB26 ZB27

4C085 AA14 AA26 BB11 BB31 DD62

F ターム (参考)	4C087	AA01 AA02 BC83 CA12 MA02 NA05 NA14 ZB09 ZB21 ZB26 ZB27
	4H045	AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA22 FA72 FA74