

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7687952号  
(P7687952)

(45)発行日 令和7年6月3日(2025.6.3)

(24)登録日 令和7年5月26日(2025.5.26)

(51)国際特許分類	F I		
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	Z N A	
C 1 2 N 5/0783(2010.01)	C 1 2 N 5/0783		
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00		
C 0 7 K 16/00 (2006.01)	C 0 7 K 16/00		
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/54		
請求項の数 45 (全58頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2021-542089(P2021-542089)	(73)特許権者	517171347 アディセット セラピューティクス, インク. アメリカ合衆国 カリフォルニア 94065, レッドウッド シティ, ブリッジパークウェイ 1000
(86)(22)出願日	令和1年10月1日(2019.10.1)	(74)代理人	110002077 園田・小林弁理士法人
(65)公表番号	特表2022-501074(P2022-501074A)	(72)発明者	サトバエフ, ダウレット カディル アメリカ合衆国 カリフォルニア 94025, メンロー パーク, コンステイション ドライブ 200, シーノオー アディセット バイオ, インコーポレイテッド
(43)公表日	令和4年1月6日(2022.1.6)	(72)発明者	ヘルマン, マリッサ アン
(86)国際出願番号	PCT/US2019/054132		最終頁に続く
(87)国際公開番号	WO2020/072536		
(87)国際公開日	令和2年4月9日(2020.4.9)		
審査請求日	令和4年10月3日(2022.10.3)		
(31)優先権主張番号	62/739,822		
(32)優先日	平成30年10月1日(2018.10.1)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

(54)【発明の名称】 血液腫瘍を治療するための遺伝子操作している T細胞及び遺伝子操作していない T細胞に関する組成物及び方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

1 T細胞であって、  
a . キメラ抗原受容体 ( C A R ) をコードする核酸であって、前記 C A R が、  
( i ) 血液腫瘍細胞の表面で発現される腫瘍関連抗原 ( T A A ) に特異的に結合する結合ドメイン；  
( i i ) C D 8 ヒンジドメイン；  
( i i i ) C D 8 膜貫通ドメイン；  
( i v ) 共刺激シグナル伝達領域；及び  
( v ) C D 3 シグナル伝達ドメイン；を含む C A R をコードする核酸、

10

を含むか、または

b . 前記 a . に記載の核酸によりコードされるアミノ酸配列を含む C A R を含むポリペプチド、を含み、

前記 1 T細胞が、前記ポリペプチドの結合ドメインまたは前記 1 T細胞の表面上で前記核酸によりコードされた C A R を機能的に発現する、 1 T細胞。

【請求項2】

前記共刺激シグナル伝達領域が、 4 - 1 B B ( C D 1 3 7 ) 共刺激シグナル伝達領域及び C D 2 7 共刺激シグナル伝達領域から選択される、請求項1に記載の 1 T細胞。

【請求項3】

前記 ( i ) ~ ( v ) が、 5 ' から 3 ' の順序である、請求項1または2に記載の 1

20

T細胞。

【請求項4】

前記結合ドメインがCD20に特異的に結合する、請求項1から3のいずれか一項に記載の1 T細胞。

【請求項5】

前記結合ドメインが、3B9、3H7、2B7及び9C11からなる群から選択される抗CD20抗体の相補性決定領域を含む、請求項4に記載の1 T細胞。

【請求項6】

前記抗CD20抗体が3H7である、請求項5に記載の1 T細胞。

【請求項7】

前記結合ドメインが、

- a. 重鎖可変領域(HCVR)及び軽鎖可変領域(LCVR)配列の配列番号がそれぞれ99及び107である、前記HCVR配列及びLCVR配列；
- b. 配列番号101、103及び105それぞれの重鎖相補性決定領域1、2及び3配列と、配列番号109、111及び113それぞれの軽鎖相補性決定領域1、2及び3配列、ここで、前記結合ドメインがCD20に特異的に結合する；及び/または
- c. 配列番号がそれぞれ339及び347、195及び203ならびに243及び251からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)配列と軽鎖可変領域(LCVR)配列を含む、請求項1から6のいずれか一項に記載の1 T細胞。

【請求項8】

前記結合ドメインがCD19またはBCMAに特異的に結合する、請求項1から3のいずれか一項に記載の1 T細胞。

【請求項9】

前記結合ドメインがBCMAに特異的に結合する、請求項8に記載の1 T細胞。

【請求項10】

前記結合ドメインが、配列番号27及び28、配列番号29及び30、ならびに配列番号31及び32からなる群から選択される配列を有する抗BCMA結合領域の相補性決定領域を含む、請求項9に記載の1 T細胞。

【請求項11】

前記CARが、

- a. 配列番号1 (PTPAPTIIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY)または配列番号2 (TTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY)を含むCD8 ヒンジドメイン、
- b. 配列番号3 (IWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC)を含むCD8 膜貫通ドメイン及び/または

c.

(i) 配列番号4 (RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR)もしくは、

(ii) 配列番号5 (RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR)を含むCD3 シグナル伝達ドメイン

を含む、請求項1から10のいずれか一項に記載の1 T細胞。

【請求項12】

前記CARが、

- a. 配列番号6 (KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL)を含む4-1BB共刺激シグナル伝達領域もしくは
- b. 配列番号7 (QRRKYRSNKGESVPEPAEPCHYSCPREEEGST

10

20

30

40

50

I P I Q E D Y R K P E P A C S P ) を含む C D 2 7 共刺激シグナル伝達領域

を含み、または、

前記核酸が、配列番号 6 を含む前記 4 - 1 B B 共刺激シグナル伝達領域及び配列番号 7 を含む前記 C D 2 7 共刺激シグナル伝達領域をコードする、請求項 1 1 に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 3】

前記核酸が、

- a . 分泌されたサイトカイン
- b . 分泌された共通ガンマ鎖インターロイキン ;
- c . 分泌された I L - 1 5 ; または
- d . 分泌された共通ガンマ鎖インターロイキン、及びインターロイキンまたはインターロイキン分泌シグナルのアミノ末端のマルチシストロン性リンカー領域

をさらにコードする、請求項 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 4】

前記 c . における I L - 1 5 が、

配列番号 3 4 の配列、

配列番号 3 3 の分泌シグナル配列に動作可能に連結された配列番号 3 4 の配列、または配列番号 4 9 の分泌シグナル配列に動作可能に連結された配列番号 3 4 の配列を含む、請求項 1 3 に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 5】

前記 d . における分泌された共通ガンマ鎖インターロイキンが I L - 1 5 であり、マルチシストロン性リンカー領域が :

配列番号 4 3 ~ 4 5、4 7 もしくは、5 2 ~ 5 5 もしくはそれらの組み合わせのいずれか 1 つの配列を含む、または

配列番号 5 6 または 6 0 に記載の配列を含む内部リボソーム侵入部位をコードする、請求項 1 3 に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 6】

前記結合ドメインが C D 2 0 に特異的に結合し、かつ前記核酸が配列番号 8、9、1 0、1 1、1 2、2 0、4 6、4 8、5 7、または 5 8 に記載のペプチドをコードする、請求項 1 から 7 または 1 1 から 1 5 のいずれか一項に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 7】

前記核酸が、配列番号 1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、5 0、5 1、または 5 9 の配列を含む、請求項 1 6 に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 8】

前記結合ドメインが B C M A に特異的に結合し、かつ前記核酸が配列番号 3 5、3 6、3 7、または 3 8 に記載のペプチドをコードする、請求項 1 から 3 または 8 から 1 5 のいずれか一項に記載の 1 T 細胞。

【請求項 1 9】

前記核酸が、配列番号 3 9、4 0、4 1、または 4 2 の配列を含む、請求項 1 8 に記載の 1 T 細胞。

【請求項 2 0】

前記 1 T 細胞が、腫瘍関連抗原 ( T A A ) の細胞表面発現または過剰発現を示す細胞との接触に应答して増殖し、腫瘍関連抗原 ( T A A ) の細胞表面発現を示す細胞が、正常な血液細胞である、請求項 1 に記載の 1 T 細胞。

【請求項 2 1】

前記 1 T 細胞が、腫瘍関連抗原 ( T A A ) の細胞表面発現または過剰発現を示す細胞との接触に应答して増殖し、腫瘍関連抗原 ( T A A ) の細胞表面発現または過剰発現を示す細胞が、血液腫瘍細胞である、請求項 1 から 2 0 のいずれか一項に記載の 1 T 細胞。

【請求項 2 2】

10

20

30

40

50

50%超の、請求項1から2.1のいずれか1項に記載の1 T細胞を含む、細胞集団。

【請求項23】

少なくとも $10^8$ の1 T細胞を含む、請求項2.2に記載の細胞集団。

【請求項24】

$10^8$ の1 T細胞から $10^{11}$ の1 T細胞を含む、請求項2.2に記載の細胞集団。

【請求項25】

少なくとも60%の1 T細胞を含む、請求項2.2から2.4のいずれか一項に記載の細胞集団。

【請求項26】

60%から95%の1 T細胞を含む、請求項2.5に記載の細胞集団。

【請求項27】

請求項1から2.1のいずれか一項に記載の1 T細胞または請求項2.2から2.5のいずれか一項に記載の細胞集団を作製する方法であって、前記方法が、請求項1から2.1のいずれか一項に記載の核酸を含むコンストラクトで1 T細胞(複数可)をトランスフェクトすることを含む、方法。

【請求項28】

前記方法がレトロウイルス形質導入を含む、請求項2.7に記載の方法。

【請求項29】

*ex vivo*での前記1 T細胞(複数可)の増殖を含み、前記*ex vivo*での増殖が、前記核酸のトランスフェクションの前及び/または後に実施される、請求項2.7または2.8に記載の方法。

【請求項30】

薬学的に受容可能な賦形剤と、請求項1から2.1のいずれか一項に記載の1 T細胞、または請求項2.2から2.5のいずれか一項に記載の細胞集団とを含む医薬組成物。

【請求項31】

血液腫瘍細胞を殺傷するための医薬であって、腫瘍細胞の殺傷に有効な量である請求項1から2.1のいずれか一項に記載の1 T細胞、請求項2.2から2.5のいずれか一項に記載の細胞集団または請求項3.0に記載の医薬組成物を含み、前記血液腫瘍細胞が、腫瘍細胞の殺傷に有効な量である前記1 T細胞、前記細胞集団または前記医薬組成物と接触させられる、医薬。

【請求項32】

治療上有効な量である前記1 T細胞(複数可)または前記医薬組成物が、前記血液腫瘍細胞を含む宿主生物に導入される、請求項3.1に記載の医薬。

【請求項33】

前記血液腫瘍細胞を含む宿主生物に、治療上有効な量である前記1 T細胞(複数可)または前記医薬組成物が導入され、同時にまたは連続して、共通ガンマ鎖サイトカイン(複数可)を上昇させる1つまたは複数の薬剤が投与される、請求項3.2に記載の医薬。

【請求項34】

前記共通ガンマ鎖サイトカイン(複数可)を上昇させる1つまたは複数の薬剤を投与することが、前記1 T細胞(複数可)の導入と同時にまたは連続して、共通ガンマ鎖サイトカイン(複数可)の有効量を投与することを含み、それにより前記導入した1 T細胞(複数可)の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはその組み合わせが増大させられる、請求項3.3に記載の医薬。

【請求項35】

前記共通ガンマ鎖サイトカイン(複数可)が、IL-2及び/またはIL-15である、請求項3.4に記載の医薬。

【請求項36】

前記共通ガンマ鎖サイトカイン(複数可)を上昇させる1つまたは複数の薬剤が、前記

10

20

30

40

50

1 T細胞（複数可）を導入する前及び/または導入後に、前記導入した 1 T細胞（複数可）の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはその組み合わせを増大させるのに有効な量の共通ガンマ鎖サイトカイン（複数可）を含む、請求項3 4または3 5に記載の医薬。

【請求項 3 7】

前記共通ガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる 1つまたは複数の薬剤が、前記 1 T細胞（複数可）を導入する前のリンパ球を枯渇化させる、請求項3 3から3 6のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項 3 8】

前記共通ガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる 1つまたは複数の薬剤が、前記導入した 1 T細胞（複数可）からの 1種または複数種の共通ガンマ鎖サイトカイン（複数可）の分泌を誘導する、請求項3 3から3 6のいずれか一項に記載の医薬。

10

【請求項 3 9】

前記医薬が、対照の生物と比較して、前記宿主生物の *in vivo* 腫瘍量を減少させ、及び/または前記宿主生物の平均生存時間を増加させ、そこにおいて前記対照の生物が、前記 1 T細胞（複数可）または前記医薬組成物によって処置されない、請求項3 2から3 8のいずれか一項に記載の医薬。

【請求項 4 0】

前記医薬が、治療が必要な対象のがんを治療するためのものである、請求項3 1から3 9のいずれか一項に記載の医薬。

20

【請求項 4 1】

腫瘍細胞の殺傷に有効な量である、請求項 1 から 2 1のいずれか一項に記載の 1 T細胞、請求項2 2から2 5のいずれか一項に記載の細胞集団、または請求項3 0に記載の医薬組成物の、治療が必要な対象の血液腫瘍細胞癌を治療するための医薬の製造における、使用。

【請求項 4 2】

治療が必要な対象のがんを治療するための医薬組成物であって、  
 a . 治療上有効な量の請求項 1 から 7、1 1 から 1 7、2 0、または 2 1のいずれか一項に記載の 1 T細胞、ここで、前記がんが CD 2 0 の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞を含む；または、  
 b . 治療上有効な量の請求項 1 から 3、8 から 1 0、1 1 から 1 5、または 1 8から 2 1のいずれか一項に記載の 1 T細胞、ここで、前記がんが、BCMA の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞を含む、  
 を含む、医薬組成物。

30

【請求項 4 3】

1 T細胞の投与と同時に、または連続して共通ガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる 1つまたは複数の薬剤が投与される、請求項 4 2に記載の医薬組成物。

【請求項 4 4】

前記 1 T細胞の複数回投与が実施され、前記複数回投与の間隔が、少なくとも 1 週間である、請求項 4 2または 4 3に記載の医薬組成物。

40

【請求項 4 5】

1 T細胞の複数回投与が 6 か月に 1 回以下で実施される、請求項 4 3または 4 4に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本出願は、2 0 1 8 年 1 0 月 1 日出願の米国仮出願第 6 2 / 7 3 9 8 2 2 号の優先権を主張し、その内容は、あらゆる目的のために本明細書全体に組み込まれる。

【0 0 0 2】

50

## 配列表

本出願は、A S C I I形式で電子的に提出された配列表を含み、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。2019年12月17日に作成された上記のA S C I Iコピーは、A D C - 0 0 0 5 - P C T \_ S L . t x tという名前で、サイズは147616バイトである。

## 【背景技術】

## 【0003】

養子免疫細胞療法は、基本的なリンホカイン活性化及び/または腫瘍浸潤に焦点を当てた初期から、キメラ抗原受容体(CAR)などの遺伝子操作された抗原受容体を発現させるために、これらの免疫細胞を遺伝子操作するようなごく最近の戦略まで、30年間以上、絶え間なく繰り返し受けられてきた。その中で、これらのアプローチの治癒上の可能性についていくつかのヒント及び兆候が見られていたが、まだ行うべきことが多く存在している。特に、CAR-Tリンパ球による腫瘍根絶の成功は、CAR-T細胞の持続性及びエフェクター機能に依存するが、そのどちらかが過剰になると、患者の移植片対宿主効果が誘発される可能性がある。したがって、当技術分野では、有効性と安全性のバランスをとることを目的として、T細胞とNK細胞の両方、特にT細胞で無数の共刺激戦略を試験している。注目すべきことに、T細胞と比較して、T細胞の共刺激要件に関する現状の理解の欠如を考慮すると、同種異系T細胞へのこれらの様々なアプローチの任意の実際の翻訳は、よく見ても不確実である。例えば、Ribot et al., 「Searching for "signal 2": costimulation requirements of T cells」、Cell.Mol.Life Sci.(2011)68:2345-2355を参照のこと。

## 【0004】

したがって、細胞の特異性または選択性を改善するために、例えば移植片対宿主(GVH)効果を低減または回避することにより、細胞の安全性を改善するために、例えばエフェクター機能の抑制を回避して細胞の有効性を改善するためならびに対象への投与時の細胞の活性及び/または生存を改善するために、依然として、戦略を改善する必要がある。そのような二-ズを満たす方法、細胞、組成物、キット及びシステムを提供する。

## 【発明の概要】

## 【0005】

本発明の態様は、キメラ抗原受容体(CAR)をコードする単離した核酸配列を含み、そこにおいてCARは、血液腫瘍細胞の表面で発現する腫瘍関連抗原(TAA)に特異的に結合する結合ドメインを含み、この結合ドメインは、例えば、CD8のヒンジドメイン、例えば、CD8の膜貫通ドメイン、共刺激シグナル伝達領域などであり、そこにおいて、共刺激シグナル伝達領域は、4-1BB(CD137)共刺激シグナル伝達領域及びCD27共刺激シグナル伝達領域、ならびにCD3シグナル伝達ドメインから任意に選択される。

## 【0006】

本発明の態様は、本明細書に記載される通り遺伝子操作していないT細胞、ならびに本明細書に記載される通りCARコンストラクトをコードする核酸を含むT細胞をさらに含み、そこにおいてT細胞は、T細胞の表面上のCARをコードする核酸を機能的に発現する。本発明の態様は、本明細書に記載される通り、複数の遺伝子操作されたまたは遺伝子操作されていないT細胞をさらに含む。本発明の態様は、本明細書に記載のT細胞または複数のT細胞を作製する方法をさらに含み、そこにおいてこの方法は、本明細書に記載のコンストラクトでT細胞(複数可)をトランスフェクトすることを含む。本発明の態様は、本明細書に記載される通り、薬学的に受容可能な賦形剤及びT細胞または複数のT細胞を含む医薬組成物をさらに含む。本発明の態様は、本明細書に記載される通り、腫瘍細胞傷害の有効量であるT細胞と、血液腫瘍細胞を接触させることをさらに含む。

## 【0007】

10

20

30

40

50

一態様において、本発明は、キメラ抗原受容体（CAR）をコードする単離した核酸配列を提供し、そこにおいて、CARは、（a）血液腫瘍細胞の表面で発現する腫瘍関連抗原（TAA）と特異的に結合する結合ドメインと、（b）CD8 ヒンジドメインなどのヒンジドメインと、（c）CD8 膜貫通ドメインなどの膜貫通ドメインと、（d）共刺激シグナル伝達領域または共刺激シグナル伝達領域の組み合わせであり、任意で、そこにおいて、共刺激シグナル伝達領域は、4-1BB（CD137）共刺激シグナル伝達領域及びCD27共刺激シグナル伝達領域から選択される共刺激シグナル伝達領域と、（e）CD3 シグナル伝達ドメインなどのシグナル伝達ドメインとを含む。いくつかの実施形態において、前述の要素（a）～（e）は、単離した核酸のセンス鎖上に5'から3'の順でコードされている。

10

## 【0008】

いくつかの実施形態において、結合ドメインは、CD20と特異的に結合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、3B9、3H7、2B7及び9C11、好ましくは3H7からなる群から選択された抗CD20抗体が結合するCD20中のエピトープと選択的に結合する、またはその抗CD20抗体と共に結合するために競合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、3B9、3H7、2B7及び9C11、好ましくは3H7からなる群から選択される抗CD20抗体の相補性決定領域を含む。

## 【0009】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖可変領域（HCVR）配列及び軽鎖可変領域（LCVR）配列をコードする。例えば、そこにおいて、このHCVR配列及びLCVR配列は、それぞれ配列番号99及び107であり、配列番号がそれぞれ101、103及び105の重鎖相補性決定領域1、2及び3配列と、配列番号がそれぞれ109、111及び113の軽鎖相補性決定領域1、2及び3配列と、重鎖相補性決定領域3（HC DR3）及び軽鎖CDR3（LC DR3）であって、そこにおいて、HC DR3及びLC DR3は、配列番号345及び353、201及び209、ならびに249及び257からなる群から選択されるHC DR3及びLC DR3と、重鎖可変領域（HCVR）配列及び軽鎖可変領域（LCVR）配列であって、そこにおいてHCVR配列及びLCVR配列は、配列番号339及び347、195及び203ならびに243及び251からなる群から選択されるHCVR配列及びLCVR配列、及び/または、重鎖相補性決定領域3（HC DR3）ドメイン及び軽鎖CDR3（LC DR3）ドメインであって、そこにおいて、HC DR3ドメインは、式X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19のアミノ酸配列を含み、式中、X1=A、VまたはT、X2=K、X3=D、X4=P、FまたはG、X5=SまたはH、X6=Y、X7=G、X8=SまたはH、X9=GまたはF、X10=SまたはY、X11=Y、NまたはS、X12=Y、GまたはH、X13=G、LまたはS、X14=Y、MまたはD、X15=Y、DまたはV、X16=G、Vまたは非存在、X17=Mまたは非存在、X18=Dまたは非存在、X19=Vまたは非存在（配列番号369）であり、LC DR3ドメインは、X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9のアミノ酸配列を含み、式中、X1=Q、X2=Q、X3=RまたはS、X4=N、YまたはF、X5=N、D、またはY、X6=W、X7=P、X8=L、X9=T（配列番号370）である。

20

30

40

## 【0010】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、CD19またはBCMAに特異的に結合する結合ドメインをコードする。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、BCMAに特異的に結合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、配列番号27及び28、配列番号29及び30、ならびに配列番号31及び32からなる群から選択される配列を有する抗BCMA結合領域と結合したBCMAのエピトープと選択的に結合する、またはその抗BCMA結合領域と結合するために競合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、配列番号27及び28、配列番号29及び30、ならびに配列番号31及び32からなる群から選択される配列を有する抗BCMA結合領域の相補性決定

50

領域を含む。

【0011】

前述のいずれか1つまたは本明細書に記載される通りのいくつかの実施形態において、CARは、配列番号1 (PTPAPTIIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY) または配列番号2 (TTTPAPRPPTPAPTIIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY) を含むCD8 ヒンジドメインを含む。前述のいずれか1つまたは本明細書に記載される通りのいくつかの実施形態において、CARは、配列番号3 (IWAPLAGTCTGVLLLSLVITLYC) を含むCD8 膜貫通ドメインを含む。

【0012】

前述のいずれか1つまたは本明細書に記載される通りいくつかの実施形態において、CARは、配列番号4 (RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQAL PPR) または配列番号5 (RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR) を含むCD3 シグナル伝達ドメインを含む。

【0013】

前述のいずれか1つまたは本明細書に記載される通りのいくつかの実施形態において、CARは、配列番号6 (KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGGCEL) を含む4-1BB共刺激シグナル伝達領域または配列番号7 (QRRKYRSNKGESPEPAEPCHYSCPREEEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP) を含むCD27共刺激シグナル伝達領域を含む。前述のいずれか1つまたは本明細書に記載される通りのいくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号6を含む4-1BB共刺激シグナル伝達領域及び配列番号7を含むCD27共刺激シグナル伝達領域をコードする。

【0014】

前述のいずれか1つまたは本明細書に記載される通りのいくつかの実施形態において、単離した核酸は、分泌されたサイトカイン、もしくは分泌された一般的なガンマ鎖インターロイキンまたは、IL-15などの分泌された一般的なガンマ鎖インターロイキンをコードし、好ましくは、IL-15などのこの分泌された一般的なガンマ鎖インターロイキンは、分泌シグナル配列(例えば、配列番号33または49の分泌シグナル)に動作可能に連結されたインターロイキンポリペプチド配列を含む。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、分泌されたIL-15をコードし、好ましくは、そこにおいてIL-15は、配列番号34の配列を含み、より好ましくは、そこにおいてIL-15は、配列番号33の分泌シグナル配列に動作可能に連結された34の配列を含む、またはそこにおいてIL-15は、配列番号49の分泌シグナル配列に動作可能に連結された配列番号34の配列を含む。場合によっては、分泌されたサイトカイン、一般的なガンマ鎖インターロイキン及び/またはIL-15は、結合領域、ヒンジ及び膜貫通ドメイン、シグナル伝達ドメイン及び/または共刺激エンドドメインにカルボキシ末端がコードされている。場合によっては、分泌されたサイトカイン、一般的なガンマ鎖インターロイキン及び/またはIL-15は、結合領域、ヒンジ及び膜貫通ドメイン、シグナル伝達ドメイン及び/または共刺激エンドドメインのセンス鎖3'にコードされる。

【0015】

いくつかの実施形態において、核酸は、CAR及び分泌されたサイトカイン、一般的なガンマ鎖サイトカイン、または別々のポリペプチドとしてIL-15の翻訳を容易にするように構成されたマルチシストロン性リンカー領域をコードする。いくつかの実施形態において、マルチシストロン性リンカー領域は、自己切断配列及び/または切断ポリペプチド配列をコードする。場合によっては、自己切断配列は、P2A、F2A、T2A、また

10

20

30

40

50

はE2A自己切断配列である。場合によっては、切断配列は、フェーリン切断配列である。場合によっては、切断配列（例えば、フェーリン切断配列）は、自己切断配列のアミノ末端である。いくつかの実施形態において、マルチシストロン性リンカー領域は、内部リボソーム侵入部位をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、インターロイキンもしくはサイトカインまたはインターロイキンもしくはサイトカイン分泌シグナルに、マルチシストロン性リンカー領域のアミノ末端をコードし、好ましくは、そこにおいてこのマルチシストロン性リンカー領域は、配列番号43～45、47もしくは52～55またはそれらの組み合わせのいずれか1つの配列を含む、または例えば配列番号56もしくは60の内部リボソーム侵入部位をコードする。

#### 【0016】

いくつかの実施形態において、結合ドメインは、CD20に特異的に結合し、核酸は、配列番号8、9、10、11、12、46、48、または57及び58をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号13、14、15、16、17、50、51または59の配列を含む。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、BCMAに特異的に結合し、核酸は、配列番号35、36、37または38をコードする。いくつかの実施形態において、核酸は、配列番号39、40、41または42の配列を含む。

#### 【0017】

いくつかの態様において、本発明は、前述の単離した核酸のいずれか1つにより、または本明細書に記載される通りコードされるポリペプチドまたは複数のポリペプチドを提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、前述のポリペプチドまたは複数のポリペプチドのいずれか1つを含む T細胞などのT細胞を提供する。いくつかの実施形態において、T細胞は、T細胞の表面上に本明細書に記載される通り機能性結合ドメインを発現する。いくつかの実施形態において、T細胞は、IL-15などの一般的なガンマ鎖インターロイキンなどのサイトカインを分泌する。

#### 【0018】

いくつかの実施形態において、T細胞は、腫瘍関連抗原(TAA)の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞に対して、*in vitro*及び/または*in vivo*の細胞傷害活性を示す。いくつかの実施形態において、これらの例えば、T細胞の血液腫瘍細胞傷害活性は、例えば、T細胞などのCARコンストラクトを含まない対照において、*in vitro*及び/または*in vivo*の血液腫瘍細胞傷害活性の生来のレベルよりも大きい。いくつかの実施形態において、例えば、T細胞は、HLAクラスI<sup>+</sup>血液腫瘍細胞に対して血液腫瘍細胞傷害活性が増大する。いくつかの実施形態において、血液腫瘍細胞傷害活性または血液腫瘍細胞傷害活性の増大は、血液腫瘍細胞との最初の接触後、約、少なくとも、または少なくとも約6日から180日間持続する。

#### 【0019】

いくつかの実施形態において、例えば、T細胞は、腫瘍関連抗原(TAA)の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞との接触に应答して増殖する。いくつかの実施形態において、T細胞などの表面上でCARをコードする核酸を機能的に発現しない、T細胞などの対照と比較して、例えば、T細胞は、腫瘍関連抗原(TAA)の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞との接触に应答して増殖が増大する。いくつかの実施形態において、例えば、T細胞は、腫瘍関連抗原(TAA)の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞を含む宿主生物において増殖する。

#### 【0020】

いくつかの実施形態において、T細胞などの細胞増殖またはT細胞の細胞増殖の増大は、血液腫瘍細胞との最初の接触後、約、少なくとも、または少なくとも約6日から180日間持続する。いくつかの実施形態において、例えば、T細胞は、血液腫瘍細胞との接触後に、腫瘍壊死因子アルファ及び/またはインターフェロンガンマなどの炎症誘発性サイトカイン(複数可)を発現する。いくつかの実施形態において、例えば、T細胞は、血液腫瘍細胞との接触後に、細胞表面でCARをコードした核酸を機能的に発現しない対照であるT細胞よりも多い量で、腫瘍壊死因子アルファ及び/また

10

20

30

40

50

はインターフェロンガンマなどの炎症誘発性サイトカイン（複数可）を発現する。

【0021】

いくつかの実施形態において、同種異系宿主が投与された T細胞によって示された移植片対宿主応答と比較して、同種異系宿主が導入された場合、例えば、 T細胞で示される移植片対宿主応答が、低下、実質的な低下、実質的にない、またはなくなる。いくつかの実施形態において、T細胞は T細胞である。いくつかの実施形態において、T細胞は T細胞である。いくつかの実施形態において、T細胞は T細胞である。いくつかの実施形態において、T細胞は、 1、 2、 3または 4 T細胞であり、好ましくは 2 T細胞、より好ましくは 1 T細胞である。いくつかの実施形態において、T細胞は、 1、 2、 3または 4 T細胞であり、好ましくは 2 T細胞、より好ましくは 1 T細胞である。

10

【0022】

別の態様において、本発明は、前述 T細胞などのいずれか1つの複数、または本明細書に記載される通り T細胞などの複数を提供する。いくつかの実施形態において、複数は、少なくとも約  $10^8$  の例えば、 T細胞、好ましくは約  $10^8$  の例えば、 T細胞、約  $10^{11}$  の例えば、 T細胞を含む。いくつかの実施形態において、複数は、少なくとも60%、80%、または約60%もしくは80%から約90%もしくは95%の 1、 2、 3、または 4 T細胞、好ましくは 1または 2 T細胞、より好ましくは 2 T細胞、最も好ましくは 1 T細胞である組成物を含む。

20

【0023】

いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書に記載される通り例えば T細胞、または本明細書に記載される通り複数の T細胞などを作製する方法を提供し、そこにおいて、この方法は、本明細書に記載される通り単離した核酸配列を含むコンストラクトを有するT細胞（複数可）をトランスフェクトすることを含む。場合によっては、この方法は、例えば、ガンマ、レトロウイルス形質導入を含む。場合によっては、この方法は、ex vivoでのT細胞（複数可）の増殖を含み、そこにおいて、このex vivoでの増殖は、単離した核酸配列のトランスフェクションの前及び/または後に実施される。場合によっては、この方法は、ex vivoでのT細胞（複数可）の増殖を含み、そこにおいて、このex vivoでの増殖は、単離した核酸配列のトランスフェクションの前及び後に実施される。場合によっては、この方法は、ex vivoでのT細胞（複数可）の増殖を含み、そこにおいて、このex vivoでの増殖は、単離した核酸配列のトランスフェクションの後に実施される。いくつかの実施形態において、この方法は、トランスフェクションの約30日以内に、本明細書に記載のCARを機能的に発現する、約  $10^8$  の例えば T細胞から、約  $10^{11}$  の例えば T細胞を作製することを含む。

30

【0024】

別の態様において、本発明は、薬学的に受容可能な賦形剤及び本明細書に記載される T細胞などを含む医薬組成物を提供する。

【0025】

別の態様において、本発明は、血液腫瘍細胞を殺傷する方法を提供し、この方法は、腫瘍細胞殺傷に有効な量の、例えば、 T細胞、複数のそのような細胞及び/または本明細書に記載される通りそのような細胞を含む医薬組成物と、血液腫瘍細胞を接触させることを含む。いくつかの実施形態において、この方法は、治療上有効な量の、例えば、 T細胞（複数可）または医薬組成物を、血液腫瘍細胞を含む宿主生物に導入することを含む。いくつかの実施形態において、方法には、血液腫瘍細胞を含む宿主生物に、治療上有効な量である、例えば、 T細胞（複数可）または医薬組成物を導入し、同時にまたは連続して、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法を含む。

40

【0026】

50

いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の投与方法は、例えば、  
、T細胞（複数可）の導入と同時に、または一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）の有効量を連続して投与することで、その導入した例えば  
、T細胞（複数可）の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはその組み合わせを増大させ、好ましくは、そこにおいてこの方法はIL-2を投与することを含み、より好ましくは、そこにおいて、この方法は、IL-15を投与することを含む。いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法は、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）の有効な量を投与することで、T細胞（複数可）を導入する前及び/または導入後に、導入したT細胞（複数可）の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはその組み合わせを増大させることを含む。いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法は、T細胞（複数可）を導入する前のリンパ球の枯渇化を含む。

10

## 【0027】

いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法は、導入したT細胞（複数可）からの1種または複数種の一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）の分泌を含む。いくつかの実施形態において、この方法は、対照の生物と比較して、宿主生物の*in vivo*腫瘍量を減少させ、及び/または宿主生物の平均生存時間を増加させ、そこにおいて、対照の生物は、T細胞（複数可）または医薬組成物とともに処置しない。いくつかの実施形態において、この方法は、治療が必要な対象のがんを治療する方法である。いくつかの実施形態において、本発明は、例えば、  
、T細胞、複数の例えば、  
、T細胞（複数可）、または治療が必要な対象の血液腫瘍細胞を治療する際に用いるための本明細書に記載の医薬組成物を提供する。

20

## 【0028】

一態様において、本発明は、治療上有効な量の  
T細胞を投与することでがんを治療する方法を提供し、そこにおいて、がんはCD20の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞であり、または、治療上有効な量の  
T細胞を投与することでがんを治療する方法を提供し、そこにおいて、がんはBCMAの細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞を含む。いくつかの実施形態において、この方法は、  
T細胞の投与と同時に、または連続して、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法を投与することを含む。いくつかの実施形態において、この方法は、  
T細胞の複数回投与を実施することを含み、そこにおいて、この複数回投与の間隔は、少なくとも約1週間、好ましくは少なくとも約2、3、4、5、6、7、8または12週間、及び/または6か月または12か月に1回以下である。いくつかの実施形態において、本発明は、前述の治療方法のいずれか1つを用いるための医薬組成物を提供する。

30

## 【0029】

参照による援用

本明細書で言及される全ての出版物、特許及び特許出願は、各出版物、特許または特許出願が、参照により組み込まれるために、個別的かつ具体的に示された場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。

## 【図面の簡単な説明】

40

## 【0030】

【図1】1つの共刺激シグナル伝達エンドドメイン（左）または2つの共刺激シグナル伝達エンドドメイン（右）を含むキメラ抗原受容体（CAR）の実施形態の概略図を示す。本明細書で用いる共刺激シグナル伝達エンドドメインは、共刺激エンドドメイン（*costimulation endodomain*）または共刺激エンドドメイン（*costimulatory endodomain*）とも呼ばれる。模範的なCARにおいて有用である模範的な共刺激シグナル伝達エンドドメインには、CD28、CD137（41BB）、CD278（ICOS）、CD27、CD134（OX40）、TLR2及びそれらの組み合わせが含まれるがこれらに限定されない。

【図2】CD20内のエピトープに特異的に結合する結合ドメインの配列を示す。図2で

50

は、登場順に、それぞれ、配列番号 335 ~ 363、99、364、107 及び 365 ~ 368 を開示する。

【図 3】形質導入していない V<sub>1</sub> 細胞及び様々な CD20 特異的 CAR コンストラクトで形質導入された V<sub>1</sub> 細胞による CD20 発現正常 B 細胞のアポトーシス誘導を示す。

【図 4】リンパ腫細胞株に対する CD20 特異的 CAR T 細胞の強力な細胞毒性活性を示す。

【図 5】Raji 細胞に対して本明細書に記載の遺伝子操作された CAR T 細胞の細胞毒性を示す。上：3B9、2B7、3H7 及び 9C11 の CDR を含む結合ドメインは、4-1BB 共刺激エンドドメイン及び CD3 シグナル伝達ドメインをコードする CAR コンストラクトで試験している。

10

【図 6】Raji 細胞に対して本明細書に記載の遺伝子操作された CAR T 細胞の細胞毒性を示す。上：3H7 の CDR を含む結合ドメインを試験している。下：示す通り、3H7 結合ドメイン、CD3 シグナル伝達ドメイン及び様々な共刺激エンドドメインを含む CAR を発現する T 細胞の Raji 細胞に対する細胞毒性を示している。3H7-CD27z CAR には、3H7 結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、CD27 共刺激エンドドメインならびに CD3 シグナル伝達ドメインがある。3H7-5.1 には、3H7 結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB 共刺激エンドドメインならびに CD3 シグナル伝達ドメインがある。

【図 7】示した T 細胞の再投与を伴う細胞毒性アッセイの結果を示す。矢印は再投与の時間を示している。

20

【図 8】皮下 Raji 細胞 NOD scid ガンマ (NSG) マウスモデルにおける本明細書に記載の T 細胞の *in vivo* 有効性を示す。

【図 9】*in vivo* の腫瘍内の CD20 特異的 CAR-T 細胞の表を説明しており、CAR-T 細胞の *in vivo* 増殖及び腫瘍の排除を示す。

【図 10】CD20<sup>+</sup>リンパ腫腫瘍及び他の器官における CD20 特異的 CAR-T 細胞の *in vivo* 増殖を示す。

【図 11】播種性 Raji 細胞 NOD scid ガンマ (NSG) マウスモデルにおける本明細書に記載の T 細胞の *in vivo* 有効性を示す。

【図 12】移植片対宿主 (GVH) 応答を誘導することなく、ヒト IL-15 を発現する SRG-15 マウスモデルにおける CD20 特異的 CAR-T 細胞による播種性 Raji 腫瘍の有効な治療を示す。対照的に、CD20 特異的 CAR-T 細胞は致死的な GVH 応答を誘発する。

30

【図 13】遺伝子操作された CAR-T 細胞及び遺伝子操作していない CAR-T 細胞を製造するための製造工程を示す。

【図 14】Raji 細胞を皮下移植した後に異なる移植部位で Raji 細胞を再投与した (62 日目) NSG マウスにおける sIL15 を発現する CD20 CAR V<sub>1</sub> T 細胞の治療の有効性及び持続性を示す。

【図 15】示した抗 B 細胞成熟抗原 (BCMA) scFv CAR コンストラクトを有する V<sub>1</sub> 細胞の形質導入効率を示す。BCMA は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー 17 (TNFRSF17) としても知られている。

40

【図 16】多発性骨髄腫 BCMA + 細胞株パネルに対する様々な抗 BCMA CAR コンストラクトで形質導入された V<sub>1</sub> T 細胞の細胞毒性活性を示す。SCABER-Luc 細胞株は、BCMA 陰性の対照細胞株である。

【図 17】多発性骨髄腫及びパーキットリンパ腫 BCMA + 細胞株パネルに対する様々な抗 BCMA CAR コンストラクトで形質導入された V<sub>1</sub> T 細胞の細胞毒性活性を示す。

【図 18】皮下移植した NCI-H929 細胞に対する抗 BCMA CAR V<sub>1</sub> T 細胞の *in vivo* での治療の有効性を示す。

【発明を実施するための形態】

【0031】

定義：

50

本明細書を解釈する目的のために、下の定義を適用するが、適当と認められる場合には、単数形で用いられる用語はその複数形も含み、逆もまた同様である。説明される任意の定義が、参照により本明細書に組み込まれる任意の文書と矛盾する場合には、下記に説明する定義が優先されるものとする。別段に定義されない限り、本明細書で用いられる全ての技術的及び科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者により一般に理解されるものと同じ意味を有する。

【0032】

本明細書で用いられる用語「約」は、量、時間的な持続期間などの測定可能な値を指す場合には、開示される方法を実施するためにその変動が適切であるように、特定値から±20%または±10%、より好ましくは±5%、さらにより好ましくは±1%及びさらには

10

【0033】

本明細書で用いられる用語「 $\gamma$  T細胞（ガンマデルタT細胞）」は、1つの鎖及び1つの鎖で構成される、異なるT細胞受容体（TCR）、すなわちTCRがそれらの表面で発現するT細胞のサブセットを指す。「 $\gamma$  T細胞」という用語は、ナイーブ、エフェクターメモリ、セントラルメモリ及び最終分化型 $\gamma$  T細胞と同様に、特に、V1及びV2、V3 $\gamma$  T細胞を含むがこれらに限定されない $\gamma$  T細胞の全てのサブセットを含む。さらなる例として、「 $\gamma$  T細胞」という用語は、V2、V3、V5、V8、V9、V10及びV11 $\gamma$  T細胞と同様に、V4、V5、V7及びV8 $\gamma$  T細胞を含む。いくつかの実施形態において、 $\gamma$  T細胞は、V1-

20

$\gamma$  T細胞及び/またはそれらのサブタイプを作製及び用いるための組成物及び方法には、US2016/0175358、WO2017/197347、US9499788、US2018/0169147、US9907820、US2018/0125889及びUS2017/0196910に記載されているものが含まれるが、これらに限定されない。これらのそれぞれの内容は、この遺伝子操作した及び遺伝子操作していない $\gamma$  T細胞及び/またはそれらのサブタイプを作製及び用いるための組成物及び方法などが、あらゆる目的のために参照により組み込まれる。本出願はさらに、任意で機能性TCRを形成するために第2のポリペプチドと組み合わせ、1つの鎖または1つの鎖を発現するT細胞、または他の遺伝子操作された白血球もしくはリンパ球について考察する。1つの鎖または1つの鎖を発現するこのような遺伝子操作された白血球またはリンパ球は、本方法において用いられてもよく、または本明細書に記載の組成物中に存在してもよい。

30

【0034】

本明細書で用いる用語「Tリンパ球」または「T細胞」は、CD3（CD3+）及びT細胞受容体（TCR+）を発現する、または発現した免疫細胞を指す。T細胞は細胞性免疫において中心的な役割を果たす。CD3及びTCRを「発現した」T細胞は、CD3及び/またはTCR細胞表面の発現を排除するように遺伝子操作されている。

【0035】

本明細書で用いる用語「TCR」または「T細胞受容体」は、アルファ-ベータもしくはガンマ-デルタ受容体またはそれらの組み合わせを形成する二量体異種細胞表面シグナル伝達タンパク質を指す。TCRは、MHC分子により提示される抗原を認識するが、 $\gamma$  TCRはMHCの提示とは独立して抗原を認識することが可能である。

40

【0036】

「MHC」（主要組織適合遺伝子複合体）という用語は、細胞表面の抗原提示タンパク質をコードする遺伝子のサブセットを指す。ヒトの場合、これらの遺伝子はヒト白血球抗原（HLA）遺伝子と言う。本明細書では、略語MHCまたはHLAは、区別なく用いられる。

【0037】

本明細書で用いる「活性化」は、検出可能な細胞増殖を誘導するために十分に刺激されたT細胞の状態を指す。活性化は、誘導されたサイトカイン産生及び検出可能なエフェク

50

ター機能と関連している可能性もある。「活性化T細胞」という用語は、中でも、細胞分裂を起こしているT細胞を指す。

【0038】

本明細書で用いる用語「抗体」は、抗原と特異的に結合する免疫グロブリン分子を指す。抗体は、天然由来または組換え源由来の無処置の免疫グロブリンであり得て、さらに無処置の免疫グロブリンの免疫反応性部分であり得る。典型的には、抗体は免疫グロブリン分子の四量体である。本発明の抗体は、例えば、ポリクロナール抗体、モノクロナール抗体、Fv、Fab及びF(ab)<sub>2</sub>、ならびに一本鎖抗体及びヒト化抗体を含む様々な形態で存在し得る(Harlow et al., 1999, In: Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY; Harlow et al., 1989, In: Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N.Y.; Houston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883; Bird et al., 1988, Science 242: 423-426)。

10

【0039】

「抗体フラグメント」という用語は、無処置の抗体の一部を指し、無処置の抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体フラグメントの例としては、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>及びFvフラグメント、線状抗体、scFv抗体及び抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0040】

本明細書で用いる「抗体重鎖」は、自然に存在するコンフォメーションで抗体分子に存在する2種類のポリペプチド鎖のうち大きい方を指す。

【0041】

本明細書で用いる「抗体軽鎖」は、自然に存在するコンフォメーションで抗体分子に存在する2種類のポリペプチド鎖のうち小さい方を指す。及び軽鎖は、2つの主要な抗体軽鎖アイソタイプを指す。

【0042】

本明細書で用いる用語「合成抗体」は、例えば、本明細書に記載される通りバクテリオファージにより発現される抗体のように組換えDNA技術を用いて作製される抗体を意味する。また、この用語は、抗体をコードするDNA分子を合成することで作製され、そのDNA分子は抗体タンパク質または抗体を指定するアミノ酸配列を発現する抗体を意味すると解釈されるべきであり、そこにおいて、DNAまたはアミノ酸配列は、利用可能で、当技術分野で周知の合成DNAまたはアミノ酸配列技術を用いて得られる。

30

【0043】

本明細書で用いる用語「抗原」または「Ag」は、免疫応答を誘発する分子として定義される。この免疫応答には、抗体産生もしくは特定の免疫適格細胞の活性化のどちらか、またはその両方を含み得る。当業者は、タンパク質またはペプチドを含む任意の高分子が抗原として役立ち得ることを理解するであろう。さらに、抗原は組換えまたはゲノムDNAに由来し得る。したがって、熟練者は、免疫応答を誘発するタンパク質をコードするヌクレオチド配列または部分ヌクレオチド配列を含む任意のDNAは、本明細書で用いられる用語「抗原」をコードすることを理解するであろう。さらに、当業者は、抗原が遺伝子の完全長ヌクレオチド配列によりのみコードされる必要がないことを理解するであろう。本発明が、これに限定されないが、1種以上の遺伝子の部分ヌクレオチド配列の使用を含み、さらにこれらのヌクレオチド配列が、所望の免疫応答を誘発させるために様々な組み合わせで配置されることは、容易に明らかである。さらに、熟練者は、抗原が「遺伝子」によりコードされる必要が全くないことを理解するであろう。抗原が産生される、合成される、または生体試料由来であり得ることは容易に明らかである。このような生体試料には、組織試料、腫瘍試料、細胞、または生体液が含まれ得るが、これらに限定されない。

40

【0044】

50

「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に特異的に結合することが可能な、任意のタンパク質決定因子、脂質または炭水化物決定因子を含む。エピトープ決定基は通常、アミノ酸、脂質または糖側鎖などの分子の活性表面群からなり、通常、特定の3次元構造特性ならびに特定の電荷特性を有する。平衡解離定数 ( $K_D$ ) が  $10^{-6} \sim 10^{-12}$  M の範囲にある場合、抗体は抗原に特異的に結合するとされている。

#### 【0045】

抗体3B9、9C11、3H7、2B7及び10F2は、CD20を特異的に認識する抗体の模範的な実施形態を表す。これらの抗体、そのフラグメント及びそれらの相補性決定領域は、US2009/0035322にも記載されており、それぞれ3B9-10、9C11-14、3H7-6、2B7-7及び10F2-13と呼ばれている。本明細書に記載される通り、これらの抗体、そのフラグメント及びそれらの相補性決定領域は、抗CD20キメラ抗原受容体(CAR)コンストラクトを生成する際ならびに、CD20を発現する血液腫瘍を治療するためにCAR-T細胞を遺伝子操作する及び用いる際に有用である。

10

#### 【0046】

結合ドメイン21587N、16747P、16711P及び16716Pは、BCMAを特異的に認識する結合ドメインの模範的な実施形態を示す。これらの抗体、そのフラグメント及びそれらの相補性決定領域は、2019年7月18日に出願されたUS16/516028にも記載されており、その内容は、あらゆる目的のためにその全体が、特に結合ドメイン、抗体、抗体フラグメント、相補性決定領域、この相補性決定領域を含むポリペプチド、この相補性決定領域をコードする核酸ならびに本明細書に記載のエピトープ特異性を決定するためのエピトープ特異性及びアッセイが参照により組み込まれる。場合によっては、21587N、16747P、16711P及び16716Pは、それぞれH2aM21587N、H1H16747P、H1H16711P、H1H16716Pと言う。本明細書に記載される通り、これらの抗体、そのフラグメント及びそれらの相補性決定領域は、抗BCMAキメラ抗原受容体(CAR)コンストラクトを作製する際ならびにBCMAを発現する血液腫瘍を治療するためにCAR-T細胞を遺伝子操作する及び用いる際に有用である。

20

#### 【0047】

本明細書で用いる用語「キメラ抗原受容体(CAR)」は、例えば、人工T細胞受容体、T体、一本鎖免疫受容体、キメラT細胞受容体、またはキメラ免疫受容体を指す場合があり、また特定の免疫エフェクター細胞に人工的な特異性を移植する、遺伝子操作された受容体を包含する。CARは、モノクロナール抗体の特異性をT細胞に付与するために用いられてもよく、それにより、例えば、養子細胞療法で用いるために、多数の特異的T細胞を産生させることが可能である。特定の実施形態において、CARは、例えば、腫瘍関連抗原に対する細胞の特異性を方向付ける。いくつかの実施形態において、CARは、細胞内活性化ドメイン(標的の腫瘍細胞などの標的細胞と標的部分の結合時にT細胞を活性化させることが可能になる)、膜貫通ドメイン及び長さが変化し得る細胞外ドメインを含み、さらに疾病または疾患に関連する、例えば腫瘍-抗原結合領域を含む。特定の態様において、CARは、CD3-ゼータ膜貫通ドメイン及びエンドドメインに融合した、モノクロナール抗体由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)の融合を含む。他のCARデザインの特異性は、受容体のリガンド(ペプチドナード)またはデクチンなどのパターン認識受容体に由来する場合がある。特定の場において、抗原認識ドメインの間隔を変えて、活性化誘導細胞死を減らすことが可能である。特定の場において、CARは、CD3、FcR、CD27、CD28、CD137、DAP10/12及び/またはOX40、ICOS、TLR(例えば、TLR2)などのような共刺激シグナル伝達を追加するためのドメインを含む。場合によっては、分子は、共刺激分子、イメージング(例えば、陽電子放出断層撮影)用のレポーター遺伝子、プロドラッグを付加する際に、T細胞を条件付きで切除する遺伝子産物、ホーミング受容体、ケモカイン、ケモカイン受容体、サイトカイン及びサイトカイン受容体などのCARと共に共発現され得る。さらに、当業者は

30

40

50

、共刺激ドメインが遺伝子の完全長ヌクレオチド配列によりのみコードされる必要がないことを理解するであろう。本発明が、これに限定されないが、1種以上の遺伝子の部分ヌクレオチド配列の使用を含み、さらにこれらのヌクレオチド配列が、所望の免疫応答を誘発させるために様々な組み合わせで配置されることは、容易に明らかである。

【0048】

本明細書で用いる用語「抗腫瘍効果」は、腫瘍体積の減少、腫瘍細胞数の減少、転移数の減少、平均余命の増加または、がん状態に関連する様々な生理的症状の改善により、明らかになり得る生物学的効果を指す。また、「抗腫瘍効果」は、そもそも腫瘍の発生を予防する本発明のペプチド、ポリヌクレオチド、細胞及び抗体の能力によって明らかにされ得る。

10

【0049】

「自己抗原」という用語は、本発明では、免疫系により異物であると誤って認識される任意の自己抗原を意味する。自己抗原は、細胞タンパク質、リン酸化タンパク質、細胞表面タンパク質、細胞脂質、核酸、細胞表面受容体を含む糖タンパク質を含むが、これらに限定されない。

【0050】

本明細書で用いる用語「自己由来」は、後に再導入される個体と同じ個体に由来する任意の材料を指すように意図される。

【0051】

本明細書で用いる用語「同種異系」は、後に同じ種の別の動物に導入される、動物に由来する任意の材料を指すように意図される。

20

【0052】

「治療上有効な量」という用語は、研究者、獣医師、医師または他の臨床医に求められている、組織、系または対象の生物学的または医学的応答を誘発する、組成物の量を指す。「治療上有効な量」という用語は、投与された場合に、治療中の疾患または疾病（例えば、血液癌）の兆候または症状について、その発症を予防するため、またはその兆候もしくは症状の1つもしくは複数がある程度緩和するために十分な組成物の量を含む。治療上有効な量は、組成物、疾病及びその重症度ならびに治療される対象の年齢、体重などに依存して変化する。

【0053】

本明細書で用いる用語である、疾病を「治療する」とは、対象が経験する疾病または疾患の少なくとも1つの兆候または症状について、頻度または重症度を低下させることを意味する。

30

【0054】

1種または複数種の治療薬と「併用した場合の」投与は、同時（併用）及び任意の順序の連続した投与を含む。

【0055】

本明細書で用いる用語「薬学的に受容可能な」は、化合物の生物学的活性または特性を抑制せず、かつ比較的無毒性である塩、担体または希釈剤などの材料を指すが、これらに限定されない。換言すれば、この材料は、所望されない生物学的効果を引き起こすこと、またはそれが含まれる組成物の構成成分のいずれとも有害な形で作用することもなく、個体に投与され得る。

40

【0056】

「コードする」は、ヌクレオチドの定義される配列（すなわち、rRNA、tRNA及びmRNA）またはアミノ酸の定義された配列のどちらかを有する生物学的な方法で、他のポリマー及び高分子を合成するためのテンプレートとしての役割を果たすための遺伝子、cDNA、またはmRNAなどのポリヌクレオチド中のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性と、それから得られる生物学的特性とを指す。したがって、その遺伝子に対応するmRNAの転写及び翻訳が、細胞または他の生物学的システムにおいてタンパク質を作製する場合、その遺伝子はタンパク質をコードする。mRNAの配列と同一で、通常、配列

50

表で提供されるヌクレオチド配列であるコード鎖と、遺伝子またはcDNAの転写のテンプレートとして使用される非コード鎖の両方が、その遺伝子またはcDNAのタンパク質または他の産物をコードすると言うことが可能である。

【0057】

「単離した」とは、自然状態から変化または除去したことを意味する。例えば、生きている動物中に自然に存在する核酸またはペプチドは「単離」されないが、その自然状態の共存物質から部分的または完全に分離された同じ核酸またはペプチドは「単離」される。単離した核酸またはタンパク質は、実質的に精製された形態で存在することができ、または、例えば、宿主細胞などの非天然環境に存在し得る。

【0058】

特に明記しない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、相互の縮重バージョンでありかつ同じアミノ酸配列をコードする全ヌクレオチド配列を含む。タンパク質及びRNAをコードするヌクレオチド配列はイントロンを含み得る。

【0059】

「患者」、「対象」、「個体」などの用語は、本明細書では区別なく用いられ、本明細書に記載の方法に従順な任意の動物を指す。特定の非限定的実施形態において、患者、対象または個体は、ヒトである。

【0060】

抗体に関して、本明細書で用いられる用語「特異的に結合する」は、特定の抗原を認識するが、試料中の他の分子を実質的に認識または結合しない抗体を意味する。例えば、1つの種から得た抗原に特異的に結合する抗体は、1種または複数種の種から得たその抗原とも結合し得る。しかし、そのような異種間の反応性は、それ自体が特性に応じた抗体の分類を変えるものではない。別の例において、抗原に特異的に結合する抗体は、抗原の様々な対立遺伝子と結合し得る。しかし、このような交差反応性は、それ自体が特性に応じた抗体の分類を変えるものではない。場合によっては、「特異的結合 (specific binding)」または「特異的に結合すること (specifically binding)」という用語は、抗体、タンパク質またはペプチドと第2の化学種との相互作用に関して用いられ得るが、この相互作用は、化学種の特定の構造 (例えば、抗原決定基またはエピトープ) の存在に依存する、例えば、抗体は、通常タンパク質というよりは特定のタンパク質構造を認識及び結合することを意味する。抗体がエピトープ「A」に特異的である場合、標識した「A」及び抗体を含む反応において、エピトープA (または、遊離の非標識のA) を含む分子が存在すると、抗体に結合する標識Aの量は減少する。

【0061】

いくつかの実施形態において、特異的結合は、少なくとも約  $1 \times 10^{-8}$  M以下の平衡解離定数によって特徴付けられ得る (例えば、 $K_D$  が小さいほど結合は強くなる)。2つの分子が特異的に結合するかどうかを決定するための方法は、当技術分野で周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などが含まれる。さらに、第1の抗原及び1種もしくは複数種の付加的抗原に結合する多重特異性抗体、または抗原の2つの異なる領域に結合する二重特異性抗体は、それにもかかわらず、本明細書で使用される「特異的に結合する」抗体と見なされる。

【0062】

血液癌は、血液または骨髄において起きるがんである。血液 (または血行性) がんの例には、急性白血病 (急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病及び骨髄芽球性、前骨髄細胞性、骨髄単球性、単球性及び赤白血病など)、慢性白血病 (慢性骨髄性 (顆粒球性) 白血病、慢性骨髄性白血病及び慢性リンパ性白血病)、真性多血症、リンパ腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫 (低悪性度及び高悪性度)、多発性骨髄腫、ウォルデンストロムマクログロブリン血症、重鎖病、骨髄異形成症候群、有毛細胞白血病及び骨髄異形成などの白血病が含まれる。望ましい実施形態において、血液癌は、CD20を発現または過剰発現する。望ましい実施形態において、血液癌は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー17 (TNFRSF17) としても知られているB細胞成熟抗

10

20

30

40

50

原 ( B C M A ) を発現または過剰発現する。

【 0 0 6 3 】

「発現カセット」は、発現される転写物またはポリペプチドをコードする核酸に操作可能に連結された発現制御配列を含む核酸を指す。発現カセットは、発現に十分なシス作用エレメントを含み、発現のための他のエレメントは、宿主細胞により、または *in vivo* 発現システムにおいて供給され得る。発現カセットは、コスミド、プラスミド（例えば、リポソーム中のネイキッドもしくはリポソームに含まれるもの）、またはウイルス（例えば、レンチウイルス、レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス）などのベクターの構成成分であり得る。発現カセットは、T細胞などの宿主細胞に存在し得る。

10

【 0 0 6 4 】

範囲：本開示全体を通して、本発明の様々な態様は、範囲形式で提示され得る。範囲形式での説明は、単に便宜上及び簡潔にするためのものであり、本発明の範囲に対する柔軟性のない制限として解釈されるべきではないことを理解されたい。したがって、範囲の説明は、その範囲内の個々の数値だけでなく、全ての可能な部分範囲を具体的に開示していると見なされるべきである。例えば、1から6などの範囲の記述は、1から3、1から4、1から5、2から4、2から6、3から6などの部分範囲、ならびに、1、2、2.7、3、4、5、5.3及び6などの範囲内の個々の数字を具体的に開示していると見なされるべきである。これは、範囲の幅に関係なく適用される。

【 0 0 6 5 】

キメラ抗原受容体コンストラクト：

本発明の態様には、CARをコードする核酸、ならびにそのような核酸を含むコンストラクト及びベクターが含まれる。場合によっては、核酸は、例えば、異種性の、発現カセットの構成成分である。いくつかの実施形態において、核酸は、例えば、異種性の、レトロウイルスベクターの構成成分である。いくつかの実施形態において、核酸は、例えば異種性の、またはT細胞、好ましくは、T細胞の構成成分である。いくつかの実施形態において、核酸は、例えば異種性の、<sup>+</sup>T細胞及び/または<sup>+</sup>T細胞の構成成分である。いくつかの実施形態において、核酸は、例えば異種性の、<sup>-</sup>T細胞及び/または<sup>-</sup>T細胞の構成成分である。

20

【 0 0 6 6 】

本明細書に記載されているのは、血液腫瘍細胞の表面で発現される腫瘍関連抗原 ( T A A ) に特異的に結合するCAR結合ドメインをコードする核酸である。模範的なTAAには、CD19、CD20及びBCMAが含まれる。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、米国特許第9540445号に記載のCD19結合ドメインなどのCD19結合ドメインであり、その内容は、その全体ならびに、あらゆる目的のために特に結合ドメイン、抗体、抗体フラグメント、相補性決定領域、この相補性決定領域を含むポリペプチド、この相補性決定領域をコードする核酸ならびに本明細書に記載のエピトープ特異性を決定するためのエピトープ特異性及びアッセイが参照により組み込まれる。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、米国特許出願第2009/0035322に記載されているCD20結合ドメインなどのCD20結合ドメインであり、その内容は、その全体ならびに、あらゆる目的のために特に結合ドメイン、抗体、抗体フラグメント、相補性決定領域、この相補性決定領域を含むポリペプチド、この相補性決定領域をコードする核酸ならびに本明細書に記載のエピトープ特異性を決定するためのエピトープ特異性及びアッセイが参照により組み込まれる。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、WO2018/133877に記載されているBCMA結合ドメインなどのBCMA結合ドメインまたは、2019年7月18日に出願されたUS16/516028に記載のBCMA結合ドメインであり、その各内容は、その全体ならびに、あらゆる目的のために特に結合ドメイン、抗体、抗体フラグメント、相補性決定領域、この相補性決定領域を含むポリペプチド、この相補性決定領域をコードする核酸ならびに本明細書に記載のエピトープ特異性を決定するためのエピトープ特異性及びアッセイが参照により組み込まれる。典型的に

30

40

50

は、結合ドメインをコードする領域は、リンカー領域（例えば、CD8 ヒンジドメインをコードする領域）の5'である。

【0067】

いくつかの実施形態において、結合ドメインは、細胞の表面上で完全長の機能的ポリペプチドで発現されるように抗原に結合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、MHC：抗原複合体において提示されるように、抗原に結合する。いくつかの実施形態において、結合ドメインは、HLAが制限された方式で抗原に結合する。MHC：抗原複合体に対して特異性を示す結合ドメインは、例えばWO/2016/199140及びWO/2016/199141に記載されており、その各内容は、その全体ならびに、あらゆる目的のために特に結合ドメイン、抗体、抗体フラグメント、相補性決定領域、この相補性決定領域を含むポリペプチド、この相補性決定領域をコードする核酸ならびに本明細書に記載のエピトープ特異性を決定するためのエピトープ特異性及びアッセイが参照により組み込まれる。

10

【0068】

模範的なCD20結合ドメインには、3B9、3H7、2B7、9C11もしくは10F2、または3B9、3H7、2B7もしくは9C11または3H7と結合するCD20内のエピトープと選択的に結合する、あるいは、その3B9、3H7、2B7、9C11もしくは10F2、または3B9、3H7、2B7もしくは9C11または3H7と結合するために競合する結合ドメインが含まれるが、これらに限定されない。追加的または代替的に、CD20結合ドメインは、3B9、3H7、2B7、9C11及び10F2からなる群から選択される、3B9、3H7、2B7及び9C11からなる群から選択される、または3H7からなる群から選択される抗CD20抗体の相補性決定領域を含む抗CD20抗体の相補性決定領域を含み得る。本開示はまた、本明細書で提供される配列と結合するために競合するCD20、CD19及びBCMA結合ドメインについて考察する。

20

【0069】

既知の方法を用いることにより、CD20結合ドメインが、参照抗体もしくは結合ドメインと同じエピトープに結合する、またはその参照抗体もしくは結合ドメインと結合するために競合するかどうかを決定することが可能である。例えば、試験抗体が参照結合ドメインと同じエピトープに結合するかどうかを決定するためには、参照結合ドメインを飽和条件下でCD20に結合させることで可能になる。次に、CD20分子に結合する試験結合ドメインの能力を評価することが可能である。この試験する結合ドメインが、参照結合ドメインとの飽和結合に続いてCD20に結合することが可能である場合、この試験結合ドメインは、参照結合ドメインとは異なるエピトープに結合すると結論付けられる。一方で、試験結合ドメインが、参照結合ドメインとの飽和結合に続いてCD20に結合できない場合、この試験結合ドメインは、参照結合ドメインにより結合されるエピトープと同じエピトープに結合し得る。

30

【0070】

結合ドメインが、参照結合ドメインと結合するために競合する場合、上述した結合方法論は、2つの方向で実施される。第1の方向では、参照結合ドメインを飽和条件下でCD20に結合させ、続いてCD20分子への試験結合ドメインの結合を評価する。第2の方向では、試験結合ドメインを飽和条件下でCD20分子に結合させ、続いてCD20分子への参照結合ドメインの結合を評価する。両方の方向において、第1の（飽和）結合ドメインのみがCD20分子に結合可能である場合は、試験結合ドメイン及び参照結合ドメインは、CD20への結合のために競合すると結論付けられる。当業者により理解されるように、参照結合ドメインと結合するために競合する結合ドメインは、必ずしも参照結合ドメインと同一のエピトープに結合し得るとは限らないが、重複するまたは隣接するエピトープに結合することにより参照結合ドメインの結合を立体的に遮断し得る。抗CD20結合ドメインとの競合及びエピトープ結合を決定するための上述した方法は、同様に、抗CD19結合ドメイン及び抗BCMA結合ドメインに適用され得る。

40

【0071】

50

2つの結合ドメインが、それぞれが抗原への他方の結合を競争的に阻害（ブロック）する場合、同じまたは重複するエピトープに結合する。つまり、1倍、5倍、10倍、20倍、または100倍過剰な一方の結合ドメインは、競合的結合アッセイで測定される通り、他方の結合を少なくとも50%、例えば75%、90%、さらには99%阻害する（例えば、Junghans et al., Cancer Res. 1990 50:1495-1502を参照のこと）。その代わりに、一方の結合ドメインの結合を減少または排除する抗原の本質的に全てのアミノ酸変異が他方の結合を減少または排除する場合、2つの結合ドメインは同じエピトープを有する。一方の結合ドメインの結合を減少または排除するいくつかのアミノ酸変異が、他方の結合を減少または排除する場合、2つの結合ドメインは重複したエピトープを有する。

10

## 【0072】

さらに日常的な実験（例えば、ペプチド変異及び結合分析）を実施することで、観察された試験結合ドメインの結合の欠如が、実際に参照結合ドメインと同じエピトープへの結合によるものであるか、または立体的障害（または他の現象）が、観察された結合の欠如の原因であるかどうかを確かめることが可能である。この種の実験は、ELISA、RIA、表面プラズモン共鳴、フローサイトメトリー、または当技術分野で利用可能な他の任意の定量的または定性的結合アッセイを用いて実施され得る。

## 【0073】

本開示は、CDRまたはフレームワーク領域において、本明細書で提供される配列に対して「実質的同一性」または「実質的類似性」を有する抗体及びCARを提供する。用語「実質的同一性」または「実質的に同一」は、核酸またはそのフラグメントを指す場合、他の核酸（または他の核酸の相補鎖）と至適に整列させた場合、以下で述べるようにFASTA、BLASTまたはGAPなどの任意の既知の配列同一性のアルゴリズムにより測定される通り、ヌクレオチド配列の同一性が、例えば、ヌクレオチド塩基の少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、または100%存在することを示す。参照核酸分子と実質的同一性を有する核酸分子は、特定の例において、参照核酸分子によりコードされるポリペプチドと同じまたは実質的に類似のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードし得る。

20

30

## 【0074】

ポリペプチドに適用する場合、用語「実質的類似性」または「実質的に類似の」は、デフォルトのギャップウエイトを用いるプログラムGAPまたはBESTFITなどにより至適に整列させた場合、2つのペプチド配列が少なくとも80%、少なくとも81%、少なくとも82%、少なくとも83%、少なくとも84%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.5%、または100%の配列同一性を共有していることを意味する。いくつかの態様において、同一ではない残基の位置は、保存的なアミノ酸の置換により異なる。「保存的なアミノ酸の置換」とは、アミノ酸残基が、類似した化学特性（電荷または疎水性など）を有する側鎖（R基）を有する別のアミノ酸残基により置換されることである。概して、保存的なアミノ酸の置換は、タンパク質の機能特性を実質的に変化させない。2つまたは複数のアミノ酸配列が、保存的置換により互いに異なる場合、同一性のパーセントまたは程度は、置換の保存的な性質により修復するように上方調整されてもよい。この調整を行う方法は、当業者に周知である。例えば、Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24:307-331を参照のこと。そしてこれは、本明細書に参照により組み込まれる。類似の化学特性の側鎖を有するアミノ酸基の例には、

40

50

1) 脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン及びイソロイシン、2) 脂肪族ヒドロキシル側鎖：セリン及びスレオニン、3) アミド含有側鎖：アスパラギン及びグルタミン、4) 芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファン、5) 塩基性側鎖：リジン、アルギニン及びヒスチジン、6) 酸性側鎖：アスパラギン酸及びグルタミン酸ならびに7) 硫黄含有側鎖：システインとメチオニンが含まれる。好ましい保存的なアミノ酸の置換基は、バリン - ロイシン - イソロイシン、フェニルアラニン - チロシン、リジン - アルギニン、アラニン - バリン、グルタメート - アスパルテート及びアスパラギン - グルタミンである。その代わりに、保存的な置換は、G o n n e t e t a l . ( 1 9 9 2 ) S c i e n c e 2 5 6 : 1 4 4 3 4 5で開示されている、P A M 2 5 0対数尤度行列に正の値を有する任意の変化であり、参照により本明細書に組み込まれる。「適度に保存的な」置換とは、P A M 2 5 0対数尤度行列で負でない値を有する任意の変化である。

10

## 【0075】

ポリペプチドの配列同一性及び/または類似性は、典型的には、配列分析ソフトウェアを用いて測定される。タンパク質分析ソフトウェアは、保存的なアミノ酸の置換を含む種々の置換、削除及びその他の修飾に割り当てられた類似性を測定する際に用いる、類似する配列をマッチングさせる。例えば、G C Gソフトウェアはデフォルトのパラメータを用いられ得るG A P及びB E S T F I Tなどのプログラムを含み、生命体の様々な種の相同的ポリペプチドナーなどの近縁種であるポリペプチドの間または、野生型タンパク質とその変異タンパク質の間の配列相同性または配列同一性を測定する。例えば、G C G V e r s i o n 6 . 1を参照のこと。ポリペプチド配列は、デフォルトのまたは推奨のパラメータ、つまりG C G V e r s i o n 6 . 1のプログラムでF A S T Aを用いても比較され得る。F A S T A ( F A S T A 2及びF A S T A 3など)は、クエリ配列と検索配列と間の最適なオーバーラップ領域のアラインメント及び配列同一性パーセントを提供する(P e a r s o n ( 2 0 0 0 ) 上記)。配列は、ギャップ開始ペナルティが12、ギャップ拡張ペナルティが2、B L O S U M行列が62のアフィンギャップ検索を用いてS m i t h - W a t e r m a n相同性検索アルゴリズムを用いて比較し得る。様々な生命体から得た大量の配列を含むデータベースと、本明細書に開示される配列を比較する場合、他の好ましいアルゴリズムは、デフォルトのパラメータを用いるコンピュータプログラムB L A S T、特にB L A S T PまたはT B L A S T Nである。例えば、A l t s c h u l e t a l . ( 1 9 9 0 ) J . M o l . B i o l . 2 1 5 : 4 0 3 - 4 1 0及び( 1 9 9 7 ) N u c l e i c A c i d s R e s . 2 5 : 3 3 8 9 - 3 4 0 2を参照のこと。この各内容は、参照により組み込まれる。

20

30

## 【0076】

1種または複数種の置換(例えば、保存的置換)を有する本明細書に開示されるH C V R、L C V R及び/またはC D Rアミノ酸配列のいずれかの変異体を含む抗C D 2 0、抗B C M A、または抗C D 1 9 C A Rを本明細書で提供する。例えば、本開示は、本明細書で開示されたH C V R、L C V R及び/またはC D R(例えばH C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2またはL C D R 3)アミノ酸配列のいずれかと比較して、例えば、20以下、19以下、18以下、17以下、16以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下または1のアミノ酸置換を備えたH C V R、L C V R及び/またはC D Rアミノ酸配列を有する抗C D 2 0 C A Rを含む。例えば、抗C D 2 0 C A Rは、本明細書で開示されるH C V R、L C V R、及び/またはC D R(例えば、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2またはL C D R 3)アミノ酸配列のいずれかと比べて、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1のアミノ酸置換(保存的なアミノ酸の置換など)を含み得る。

40

## 【0077】

同様に、本開示は、本明細書で開示されたH C V R、L C V R及び/またはC D R(例

50

例えばHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2またはLCDR3) アミノ酸配列のいずれかと比較して、例えば、20以下、19以下、18以下、17以下、16以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下または1のアミノ酸置換を備えたHCVR、LCVR及び/またはCDRアミノ酸配列を有する抗BCMA CARを含む。例えば、抗BCMA CARは、本明細書で開示されるHCVR、LCVR、及び/またはCDR(例えば、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2またはLCDR3)アミノ酸配列のいずれかと比べて、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1のアミノ酸置換(保存的なアミノ酸の置換など)を含み得る。

10

## 【0078】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖相補性決定領域3(HCDR3)及び軽鎖CDR3(LCDR3)を有する抗CD20結合ドメインをコードし、そこにおいて、HCDR3及びLCDR3は、配列番号345(AKDPSYGSYHSYYGMDV)及び353(QQRFNWPLT)、201(VKDFHYGSYHSNYGMDV)及び209(QQSNWPLT)ならびに249(TKDGSYGHFYSGLDV)及び257(QQRYYWPLT)からなる群から選択される。

## 【0079】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖可変領域(HCVR)配列及び軽鎖可変領域(LCVR)配列を有する抗CD20結合ドメインをコードし、そこにおいて、HCVR配列及びLCVR配列は、配列番号339(EEQLVESGGDLVQPG RSLRLSCAASGFTFHDYTMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSLGYADSVKGRFTISRDNAAKKSLLYLMNSLRAEDTALY YCAKDPYGSYHSYYSYGMVWGQGTITVTVSS)及び347(EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCWASQSYISRYLVWYQQKCGQAPRLLIYEASKRATGIPVRFSGSGSGTDFTLTISSELES EDFAVYYCQQRFNWPLTFGGGTKVEIK)、195(EVQLAESGGDLVQSGRSLRLSCAASGITFHDYAMHWVRQPPGKGLEWVSGISWNSDYIGYADSVKGRFTISRDNAAKKSLLYLMNSL RPDDTALYYCVKDFHYGSYHSNYGMDVWGQGTITVTVSP)ならびに203(EIVMTQSPATLSMSPGERATLSCRASQSVSRNLAWYQQKVGQAPRLLISGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTINSLSQSEDFAVYYCQQSNWPLTFGGQGRLEIK)、243(VQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFYDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSDTIGYADSVKGRFTISRDNAAKNSLYLMNSLRAEDTALYYCTKDGSGYGHFYSGLDVWGQGTITVTVSS)及び251(EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYVASNRAATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPDDFAVYYCQQRYYWPLTFGGGTKVEIK)からなる群から選択される。

20

30

40

## 【0080】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖相補性決定領域3(HCDR3)ドメイン及び軽鎖CDR3(LCDR3)ドメインを有する抗CD20結合ドメインをコードし、そこにおいて、HCDR3ドメインは、式X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19のアミノ酸配列を含み、式中、X1=A、VまたはT、X2=K、X3=D、X4=P、FまたはG、X5=SまたはH、X6=Y、X7=G、X8=SまたはH、X9=GまたはF、X10=SまたはY、X11=Y、NまたはS、X12=Y、GまたはH、X13=G、LまたはS、X14=Y、MまたはD、X15=Y、DまたはV、X16=G、Vまたは非存在、X17=Mまたは非存在、X18=Dまたは非存在、

50

X 1 9 = V または非存在 ( 配列番号 3 6 9 ) であり、L C D R 3 ドメインは、X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 5 - X 6 - X 7 - X 8 - X 9 のアミノ酸配列を含み、式中、X 1 = Q、X 2 = Q、X 3 = R または S、X 4 = N、Y または F、X 5 = N、D、または Y、X 6 = W、X 7 = P、X 8 = L、X 9 = T ( 配列番号 3 7 0 ) である。

【 0 0 8 1 】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖可変領域 ( H C V R ) 配列及び軽鎖可変領域 ( L C V R ) 配列を有する抗 C D 2 0 結合ドメインをコードし、そこにおいて、H C V R 配列及び L C V R 配列は、配列番号 9 9 ( E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T F Y D Y A M H W V R Q A P G K G L E W V S G I S W N S G Y I G Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K D N S Y G K F Y Y G L D V W G Q G T T V T V S S ) 及び 1 0 7 ( E I V M T Q S P A T L S V S P G E R T T L S C R A S Q S V S S N L A W Y L Q K P G Q A P R L L I Y G A S T R A T G I P A R F S G S G S G T E F I L T I S S L Q S E D F A V Y Y C Q Q Y N N W P I T F G Q G T R L E I K ) である。

10

【 0 0 8 2 】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) 及び軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) を有する抗 C D 2 0 結合ドメインと同じエピトープと結合する、その抗 C D 2 0 結合ドメインと競合する、または、その抗 C D 2 0 結合ドメインそのものである抗 C D 2 0 結合ドメインをコードし、そこにおいて、H C D R 及び L C D R 配列は、それぞれ、配列番号 9 9 の H C D R 配列及び配列番号 1 0 7 の L C D R 配列である。

20

【 0 0 8 3 】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号 1 0 1 ( G F T F Y D Y A ) であるまたはそれを含む H C D R 1、配列番号 1 0 3 ( I S W N S G Y I ) であるまたはそれを含む H C D R 2 及び / または配列番号 1 0 5 ( A K D N S Y G K F Y Y G L D V ) であるまたはそれを含む H C D R 3 を有する抗 C D 2 0 結合ドメインと同じエピトープに結合する、その抗 C D 2 0 結合ドメインと競合する、またはその抗 C D 2 0 結合ドメインそのものである、抗 C D 2 0 結合ドメインをコードする。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号 1 0 9 ( Q S V S S N ) であるまたはそれを含む L C D R 1、配列番号 1 1 1 ( G A S ) であるまたはそれを含む L C D R 2 及び / または配列番号 1 1 3 ( Q Q Y N N W P I T ) であるまたはそれを含む L C D R 3 を有する抗 C D 2 0 結合ドメインと同じエピトープに結合する、その抗 C D 2 0 結合ドメインと競合する、またはその抗 C D 2 0 結合ドメインそのものである、抗 C D 2 0 結合ドメインをコードする。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号 1 0 1 であるまたはそれを含む H C D R 1、配列番号 1 0 3 であるまたはそれを含む H C D R 2、配列番号 1 0 5 であるまたはそれを含む H C D R 3、配列番号 1 0 9 であるまたはそれを含む L C D R 1、配列番号 1 1 1 であるまたはそれを含む L C D R 2 及び配列番号 1 1 3 であるまたはそれを含む L C D R 3 を有する抗 C D 2 0 結合ドメインと同じエピトープに結合する、その抗 C D 2 0 結合ドメインと競合する、またはその抗 C D 2 0 結合ドメインそのものである、抗 C D 2 0 結合ドメインをコードする。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号 1 0 1 を含む H C D R 1、配列番号 1 0 3 を含む H C D R 2、配列番号 1 0 5 を含む H C D R 3、配列番号 1 0 9 を含む L C D R 1、配列番号 1 1 1 を含む L C D R 2 及び配列番号 1 1 3 を含む L C D R 3 を有する抗 C D 2 0 結合ドメインをコードする。

30

40

【 0 0 8 4 】

模範的な B C M A 結合ドメインは、W O 2 0 1 8 / 1 3 3 8 7 7 に記載されている B C M A 結合ドメインまたは 2 0 1 9 年 7 月 1 8 日に出願された U S 1 6 / 5 1 6 0 2 8 に記載されている B C M A 結合ドメインにより結合する、またはそれらのドメインと結合するために競合する B C M A 内のエピトープに選択的に結合する結合ドメインが含まれるが、これらに限定されない。代用的または追加的に、B C M A 結合ドメインは、W O 2 0 1 8 / 1 3 3 8 7 7 に記載されている抗 B C M A 抗体またはキメラ抗原受容体、ならびに 2 0

50

19年7月18日に出願されたUS 16 / 5 1 6 0 2 8に記載される抗BCMA抗体またはキメラ抗原受容体からなる群から選択される抗BCMA抗体の相補性決定領域を含み得る。

【0085】

模範的なBMCA結合ドメインには、抗BCMA-CAR16716P、抗BCMA-CAR16747P及び/または抗BCMA-CAR21587Nにより結合するBCMA中のエピトープと選択的に結合する、またはそれらと結合するために競合する結合ドメインが含まれるが、これらに限定されない。代用的または追加的に、BCMA結合ドメインは、抗BCMA-CAR16716P、抗BCMA-CAR16747P及び抗BCMA-CAR21587Nからなる群から選択される抗BCMA CARの相補性決定領域

10

【0086】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖相補性決定領域3(HCDR3)及び軽鎖CDR3(LCDR3)を有する抗BCMA結合ドメインをコードし、そこにおいて、HCDR3及びLCDR3は、配列番号21(RAGDNWNWFDP)及び配列番号22(QQAKSVPFT)、配列番号23(EGGNYGMDV)及び配列番号24(QQANSFPPT)ならびに配列番号25(FAEYCGGNI CYYYGMDV)及び配列番号26(QQCGGSPWT)からなる群から選択される。

【0087】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、重鎖可変領域(HCVR)配列及び軽鎖可変領域(LCVR)配列を有する抗BCMA結合ドメインをコードし、そこにおいて、HCVR配列及びLCVR配列は、16716P結合ドメインHCVR配列番号27(MSVPTQVLGLLLWLTDARCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSSYVMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRA GDNWNWFDPWGQGT LVT V)及び16716P結合ドメインLCVR配列番号28(DIQMTQSPSSVSASLGDRVITICRASQGISSWLAWYQRKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTIS SLQPEDFATYYCQQAKSVPFTFGPGTKVDIK)と、16747P結合ドメインHCVR配列番号29(MSVPTQVLGLLLWLTDARCQVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAASGFTTFSDYYISWIRQAPG KGLEWVSYISSSGSSIKYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAREGGNYGMDVWGQGT T V T V)と、16747P結合ドメインLCVR配列番号30(DIQMTQSPSSVSASVGD RVITICRASQGINNW LVWYQQKPKGKAPKLLIYAATSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYCQQANSFPPTFG QGTKLEIK)と、21587N結合ドメインHCVR配列番号31(MSVPTQVLGLLLWLTDARCQVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGGSINYYWNWIRQPPGKGLEWIGYISYSGNTNYNPSLKS RVTISVATSRNQFSLT LSSVTAADTAVYYCARFAEYCGGNI CYYYGMDVWGQGT T V T V)と、21587N結合ドメインLCVR配列番号32(EIVLTQSPGTL SLS PGERATFSCRASQSVGSSFLAWYQQKPKGQAPRR LMYGASN RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQCGGSPWTFGQGT KVEIK)とからなる群から

20

30

40

【0088】

本明細書では、1つまたは複数の置換(保存的な置換など)を有する本明細書で開示されたHCVR、LCVR及び/またはCDRアミノ酸配列のいずれかの変異体を含む抗BCMA CARを提供する。例えば、本開示は、本明細書で開示されたHCVR、LCVR及び/またはCDR(例えばHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LC

50

DR2またはLCDR3)アミノ酸配列のいずれかと比較して、例えば、20以下、19以下、18以下、17以下、16以下、15以下、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下または1のアミノ酸置換を備えたHCVR、LCVR及び/またはCDRアミノ酸配列を有する抗BCMA CARを含む。例えば、抗BCMA CARは、本明細書で開示されるHCVR、LCVR、及び/またはCDR(例えば、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2またはLCDR3)アミノ酸配列のいずれかと比べて、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1のアミノ酸置換(保存的なアミノ酸の置換など)を含み得る。

#### 【0089】

本明細書に記載の模範的な結合ドメインは、典型的には、アミノ末端からカルボキシ末端の順に、重鎖領域とそれに続く軽鎖領域(VH-VL)を含む。結合ドメインにおけるVH領域及びVL領域の特定の順序が明示的または暗黙的に説明されている場合、本開示は、例えば、scFVまたはscFv結合ドメインを含むCARにおいてVH及びVL領域の順番が反転している代替の実施形態を記述しているようにも理解される。したがって、VH-VLの順序の説明は、例えば、scFVまたはscFv結合ドメインを含むCARにおける代替のVL-VHの順序も説明するものである。さらに、VL-VHの順序の説明は、例えば、scFVまたはscFv結合ドメインを含むCARにおける代替のVH-VLの順序も説明するものである。

#### 【0090】

概して、本明細書に記載のCARをコードする核酸は、結合ドメインを膜貫通ドメインに連結させるペプチドリッカーをコードする細胞外リンカー部分を含む。模範的なリンカー部分には、CD8 ヒンジドメインをコードするリンカー部分、例えば、配列番号1(PTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY)または配列番号2(TTTPAPRPPTPTAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY)が含まれるが、これらに限定されない。典型的には、ペプチドリッカーをコードする領域(例えば、CD8 ヒンジドメイン)は、結合ドメインをコードする領域の3'及び膜貫通ドメインをコードする領域の5'である。

#### 【0091】

本明細書に記載のCARをコードする核酸は、膜貫通ドメインを含む。膜貫通ドメインは、細胞外抗原結合ドメイン、例えばヒンジを、1種または複数種の細胞内シグナル伝達成分に連結することが可能である。例えば、膜貫通ドメインは、抗原結合ドメイン、例えばヒンジを、CD3 シグナル伝達ドメイン及び任意に1つまたは2つの共刺激エンドドメインと連結することが可能である。模範的な膜貫通ドメインには、CD8 膜貫通ドメイン、例えば、配列番号3(IWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC)が含まれるが、これらに限定されない。典型的には、膜貫通ドメイン(例えば、CD8 膜貫通ドメイン)をコードする領域は、ペプチドリッカー(例えば、CD8 ヒンジドメイン)をコードする領域の3'であり、1つまたは複数の細胞質ドメインをコードする領域の5'である。

#### 【0092】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、1種または複数種の細胞質ドメインを含む細胞質領域をコードする。細胞質領域をコードする領域は、典型的には、膜貫通ドメインをコードする領域の3'である。細胞質ドメインは、典型的には、T細胞増殖、細胞毒性活性及び/または炎症誘発性サイトカイン発現(例えば、TNF- またはIFN)の活性化シグナルを提供するシグナル伝達ドメインである。模範的な細胞質ドメインは、CD3 シグナル伝達ドメインである。いくつかの実施形態において、CD3 シグナル伝達ドメインは、配列番号4(RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR)であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態において、C

10

20

30

40

50

D3 シグナル伝達ドメインは、配列番号5 ( R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R ) であるか、またはそれを含む。いくつかの実施形態において、細胞質領域は、例えば配列番号4及び5からそれぞれ独立して選択された、複数(例えば、2、3、4、5、または6)のCD3 シグナル伝達ドメインなどの複数(例えば、2、3、4、5、または6)のシグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞質領域は、複数(例えば、2、3、4、5、または6)の非CD3 シグナル伝達ドメイン及びCD3 シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施形態において、細胞質領域は、非CD3 シグナル伝達ドメイン及び複数の(例えば、2、3、4、5、または6)CD3 シグナル伝達ドメインを含む。

10

#### 【0093】

細胞質領域は、1種または複数種の共刺激エンドドメインを含み得る。1種または複数種の共刺激エンドドメインをコードする領域は、シグナル伝達ドメインをコードする領域の5'または3'であり得る。いくつかの実施形態において、1種または複数種の共刺激エンドドメインをコードする領域は、シグナル伝達ドメインをコードする領域の5'であり得る。いくつかの実施形態において、1種または複数種の共刺激エンドドメインをコードする領域は、シグナル伝達ドメインの領域の5'であり、1種または複数種の共刺激エンドドメインをコードする付加的な領域は、シグナル伝達ドメインの3'である。模範的な共刺激エンドドメインには、CD28、CD137(4-1BB)、CD278(ICOS)、CD27、CD134(OX40)、Dap10、Dap12、DNAm-1、2B4、SLAMドメイン及びTLR2共刺激エンドドメインならびにそれらの組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

20

#### 【0094】

いくつかの実施形態において、コンストラクトは、少なくとも1種の4-1BB共刺激エンドドメインと、任意で、4-1BB、2B4、ICOS、CD28及びCD27共刺激エンドドメインから選択される第2の共刺激エンドドメインとをコードする。いくつかの実施形態において、コンストラクトは、少なくとも2種の4-1BB共刺激エンドドメインあるいは4-1BB、ICOS、CD28及びCD27から選択される1、2、3、もしくは4またはそれ以上の共刺激エンドドメインと組み合わせた2種の4-1BB共刺激エンドドメインをコードする。いくつかの実施形態において、4-1BB共刺激エンドドメインは、配列番号6 ( K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G G C E L ) を含む。

30

#### 【0095】

いくつかの実施形態において、コンストラクトは、1種のCD27共刺激エンドドメインと、任意で、4-1BB、ICOS、CD28及びCD27共刺激エンドドメインから選択される第2の共刺激エンドドメインとをコードする。いくつかの実施形態において、コンストラクトは、CD27共刺激エンドドメイン及び4-1BB共刺激エンドドメインをコードする。いくつかの実施形態において、コンストラクトは、2種のCD27共刺激エンドドメインをコードする。いくつかの実施形態において、CD27共刺激エンドドメインは、配列番号7 ( Q R R K Y R S N K G E S P V E P A E P C H Y S C P R E E E G S T I P I Q E D Y R K P E P A C S P ) を含む。

40

#### 【0096】

いくつかの実施形態において、コンストラクトは、T細胞(CAR-T細胞など)の活性化、細胞毒性及び/または持続性を支持するサイトカインなどのC末端ポリペプチドの分泌を促進するように動作可能に連結された分泌シグナル、例えば、配列番号33 ( M A L P V T A L L L P L A L L L H A A R P ) をコードする。いくつかの実施形態において、コンストラクトは、IL-15などの一般的なガンマ鎖サイトカインまたはその活性フラグメント、例えば、配列番号34 ( N W V N V I S D L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T ) を含む。

50

V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S ) の分泌を促進するように動作可能に連結された分泌シグナル、例えば、配列番号 33 をコードする。模範的な一般的なガンマ鎖サイトカインには、I L - 2 及び I L - 15 が含まれる。いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカインは、I L - 2、I L - 7 及び I L - 15 から選択される。いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカインは、I L - 15 である。s I L 15 をコードするコドン最適化核酸配列を含む I L - 15 配列は、本明細書及び W O 2 0 0 7 / 0 3 7 7 8 0 に開示されている。

【 0 0 9 7 】

いくつかの実施形態において、コンストラクトは、1 種または複数種のマルチシストロン性リンカー領域を、例えば、シグナル伝達ドメイン及び/または共刺激エンドドメインと、サイトカインの分泌を促進するように動作可能に連結された分泌シグナルとの間でコードする。マルチシストロン性リンカー領域は、単一の転写産物からの複数の別個のポリペプチドの生成を容易にするポリペプチド配列または R N A 配列の領域である。いくつかの実施形態において、マルチシストロン性リンカー領域は、切断配列をコードする。好適な切断配列には、P 2 A、F 2 A、E 2 A、もしくは T 2 A 切断配列などの自己切断配列及び/またはフューリンなどの内因性プロテアーゼにより切断される配列が含まれる。

10

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態において、切断配列は P 2 A 切断配列である。いくつかの実施形態において、切断配列はフューリン切断配列である。いくつかの実施形態において、切断配列は P 2 A 及びフューリン切断配列である。いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 43 ( S G S G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P ) の P 2 A 切断配列である。いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 44 ( R A K R ) のフューリン切断配列である。いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 45 ( R A K R S G S G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P ) の P 2 A + フューリン切断配列である。

20

【 0 0 9 9 】

いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 52 ( A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P ) の P 2 A 切断配列であるまたはその P 2 A 切断配列を含む。いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 53 ( V K Q T L N N F D L L K L A G D V E S N P G P ) の F 2 A 切断配列であるまたはその F 2 A 切断配列を含む。いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 54 ( Q C T N Y A L L K L A G D V E S N P G P ) の E 2 A 切断配列であるまたはその E 2 A 切断配列を含む。いくつかの実施形態において、切断配列は配列番号 55 ( E G R S L L T C G D V E E N P G P ) の T 2 A 切断配列であるまたはその T 2 A 切断配列を含む。ある態様において、複数の自己切断配列は、シグナル伝達及び/または共刺激ドメインのカルボキシ末端、ならびにコードされた分泌サイトカイン(例えば、I L - 15 などの一般的なガンマ鎖サイトカイン)のアミノ末端をコードされ得て、そこにおいて、複数の自己切断配列は、好ましくは P 2 A 切断配列、T 2 A 切断配列、E 2 A 切断配列及び F 2 A 切断配列からなる群から独立して選択される。ある態様において、1 種または複数種の自己切断配列と、内因性プロテアーゼにより切断された 1 種または複数種の配列は、本明細書に記載のコンストラクトでコードされる。特定の

30

40

【 0 1 0 0 】

いくつかの実施形態において、マルチシストロン性リンカー領域は、内部リボソーム侵入部位をコードする。模範的な内部リボソーム侵入部位は、配列番号 56 ( C T A A C G T T A C T G G C C G A A G C C G C T T G G A A T A A G G C C G G T G T G C G T T T G T C T A T A T G T T A T T T T C C A C C A T A T T G C C G T C T T T T G G C A A T G T G A G G G C C C G G A A A C C T G G C C C T G T C T T C T T G A C G A G C A T T C C T A G G G G T C T T T C C C T C T C G C C A A A G G A A T G C A A G G T C T G T T G A A T G T C G T G A A G G A A G C A G T T C C T C T G G A A

50

G C T T C T T G A A G A C A A A C A A C G T C T G T A G C G A C C C T T T G C A  
 G G C A G C G G A A C C C C C C A C C T G G C G A C A G G T G C C T C T G C G G  
 C C A A A A G C C A C G T G T A T A A G A T A C A C C T G C A A A G G C G G C A  
 C A A C C C C A G T G C C A C G T T G T G A G T T G G A T A G T T G T G G A A A  
 G A G T C A A A T G G C T C T C C T C A A G C G T A T T C A A C A A G G G G C T  
 G A A G G A T G C C C A G A A G G T A C C C C A T T G T A T G G G A T C T G A T  
 C T G G G G C C T C G G T G C A C A T G C T T T A C A T G T G T T T A G T C G A  
 G G T T A A A A A A A C G T C T A G G C C C C C G A A C C A C G G G G A C G T  
 G G T T T T C C T T T G A A A A C A C G A T G A T A ) によりコードされる。

【0101】

10

別の模範的な内部リボソーム侵入部位は、配列番号60 ( A G C A G G T T T C C C C  
 A A C T G A C A C A A A A C G T G C A A C T T G A A A C T C C G C C T G G T C T  
 T T C C A G G T C T A G A G G G G T A A C A C T T T G T A C T G C G T T T G G C  
 T C C A C G C T C G A T C C A C T G G C G A G T G T T A G T A A C A G C A C T G  
 T T G C T T C G T A G C G G A G C A T G A C G G C C G T G G G A A C T C C T C C  
 T T G G T A A C A A G G A C C C A C G G G G C C A A A A G C C A C G C C C A C A  
 C G G G C C C G T C A T G T G T G C A A C C C C A G C A C G G C G A C T T T A C  
 T G C G A A A C C C A C T T T A A A G T G A C A T T G A A A C T G G T A C C C A  
 C A C A C T G G T G A C A G G C T A A G G A T G C C C T T C A G G T A C C C C G  
 A G G T A A C A C G C G A C A C T C G G G A T C T G A G A A G G G G A C T G G G  
 G C T T C T A T A A A A G C G C T C G G T T T A A A A A G C T T C T A T G C C T  
 G A A T A G G T G A C C G G A G G T C G G C A C C T T T C C T T T G C A A T T A  
 C T G A C C A C ) によりコードされる。

20

【0102】

さらに好適な内部リボソーム侵入部位には、Nucleic Acids Res. 20  
 10 Jan; 38 ( Database issue ) : D 1 3 1 - 6 . doi : 1 0 . 1  
 0 9 3 / nar / g k p 9 8 1 . Epub 2 0 0 9 年 1 1 月 1 6 日 に記載されているもの  
 、 i r e s i t e . o r g に記載されているもの、WO 2 0 1 8 / 2 1 5 7 8 7 に記載さ  
 れているもの、GenBank accession No. KP 0 1 9 3 8 2 . 1 に記載  
 されている配列及びGenBank accession No. LT 7 2 7 3 3 9 . 1 で  
 開示されているIRESエレメントが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0103】

切断自己切断及びIRESエレメントなどの付加的マルチシストロン性リンカー領域は  
 、US 2 0 1 8 / 0 3 6 0 9 9 2 及びUS 8 8 6 5 4 6 7 に開示されている。

【0104】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号8 ( M S V P T Q V L G L L  
 L L W L T D A R C E I V M T Q S P A T L S V S P G E R T T L S C R A S Q S V S S  
 N L A W Y L Q K P G Q A P R L L I Y G A S T R A T G I P A R F S G S G S G T E F  
 I L T I S S L Q S E D F A V Y Y C Q Q Y N N W P I T F G Q G T R L E I K G G G G  
 S G G G G S G G G G E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T F Y  
 D Y A M H W V R Q A P G K G L E W V S G I S W N S G Y I G Y A D S V K G R F T I  
 S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K D N S Y G K F Y Y G L D  
 V W G Q G T T V T V S S T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R  
 P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y  
 C Q R R K Y R S N K G E S P V E P A E P C H Y S C P R E E E G S T I P I Q E D Y  
 R K P E P A C S P R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E  
 Y D V L D K R R G R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A  
 Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P  
 P R ) 、以下のドメイン：3H7結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、C  
 D 2 7 共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む3H7

40

50

- CD8 - CD27zポリペプチドをコードする。

【0105】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号9 (MSVPTQVLGLLL  
 LLWLTDARCEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSS  
 NLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSTRATGIPARFSGSGSGTEF  
 TLTISSLSQSEDFAVYYCQQYNNWPLTFGGGTKVEIKGGGG  
 SGGGGSGGGGGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCVASGFTFN  
 DYAMHWVRQAPGKGLEWVSVISWNSDSIGYADSVKGRFTI  
 SRDNAKNSLYLQMHS LRAEDTALYYCAKDNHYGSGSYYYY  
 QYGM DVWGQGT TTVTVSSTTTT P APRPPT PAPT IASQPLSLR  
 PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSL  
 VITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE  
 EEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEY  
 DVLDKRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAY  
 SEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP  
 R)、以下のドメイン：3B9結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4 -  
 1BB共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む3B9  
 - CD8 - BBzポリペプチドをコードする。

10

【0106】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号10 (MSVPTQVLGL  
 LLLWLTDARCEIVMTQSPATLSVSPGERTTLSCRASQSVS  
 SNLAWYLQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE  
 FILTISSLSQSEDFAVYYCQQYNNWPITFGQGTRLEIKGGG  
 GSGGGGGSGGGGGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTF  
 YDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGYIGYADSVKGRFT  
 ISRDNAKNSLYLQMNS LRAEDTALYYCAKDNSYGFY YGL  
 DVWGQGT TTVTVSSTTTT P APRPPT PAPT IASQPLSLRPEAC  
 RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL  
 YCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE  
 GCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD  
 KRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG  
 MKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR)、以  
 下ドメイン：3H7結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4 - 1BB共刺  
 激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む3H7 - CD8 -  
 BBzポリペプチドをコードする。

20

30

【0107】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号11 (MSVPTQVLGL  
 LLLWLTDARCEIVLTQSPATLSLSPGERAALSCRASQSVS  
 NYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTD  
 FTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIRGGG  
 GSGGGGGSGGGGGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTF  
 RDYTMHWVRQGP G KGLEWVSGISWNSDYIGYADSVKGRFT  
 ISRDNAKNSLYLQMNS LRVEDTALYYCAKLSGTYRDYFYG  
 VD VWGQGT TTVTVSSTTTT P APRPPT PAPT IASQPLSLRPEA  
 CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVIT  
 LYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEE  
 GGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD  
 DKRRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI  
 GMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR)、  
 以下のドメイン：2B7結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4 - 1BB

40

50

共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む2B7 - CD8 - BBzポリペプチドをコードする。

【0108】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号12 (MSVPTQVLGL LLLWLTDARCEIVVTQSPATLSLSPGERATLSCRTSQT T SYLAWYRQKPGQAPRL LIYDASNRAAGIPARFSGSGSGTD FTLTINSLEPEDFAVYYCQLRTNWI TFGQGTRLEIKGGGG SGGGGSGGGGQVQLVESGGDSVKPGGSLRLSCAASGFTFS DSYMTWIRQAPGKGLEWVSFISSSGSTIYYADSVKGRFTI SRDNVKKSLYLQMNRLRAEDTAVYYCAREEPGNVYYGMD VWGQGTTVTVSSTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCS CRFPEEEEGG CELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVL DK RRGRDPEMGGKPKRRKNPQEGLYNE LQKDKMAEAYSEIGM KGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR)、以下のドメイン：9C11結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4 - 1BB共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む9C11 - CD8 - BBzポリペプチドをコードする。

10

【0109】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号20 (MSVPTQVLGL LLLWLTDARCEIVMTQSPATLSVSPGER T T L S C R A S Q S V S S N L A W Y L Q K P G Q A P R L L I Y G A S T R A T G I P A R F S G S G S G T E F I L T I S S L Q S E D F A V Y Y C Q Q Y N N W P I T F G Q G T R L E I K G G G G S G G G G S G G G G E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T F Y D Y A M H W V R Q A P G K G L E W V S G I S W N S G Y I G Y A D S V K G R F T I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K D N S Y G K F Y Y G L D V W G Q G T T V T V S S T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R)、以下ドメイン：3H7結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む3H7 - CD3zポリペプチドをコードする。

20

30

40

【0110】

いくつかの実施形態において、3H7 - CD8 - 27zポリペプチドをコードする単離した核酸は、配列番号13 (ATGTCCGTGCCTACCCAGGTGCTGGGC CTGCTGCTGCTGTGGCTGACCGACGCCAGATGCGAAATAG TGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCCTGTCTGTGTCTCCAGG GGAAAGAACCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTT AGCAGCAACTTAGCCTGGTACCTTCAGAAACCCTGGCCAGG

50

C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G G T G C A T C C A C C A G G G C C A C  
 T G G T A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C T G G G A C A  
 G A G T T C A T T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G T C T G A A G A T T  
 T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C A G T A T A A T A A C T G G C C G A T  
 C A C C T T C G G C C A A G G G A C A C G G C T G G A G A T T A A A G G T G G A  
 G G T G G A T C T G G A G G A G G A G G A T C C G G T G G A G G A G G T G A A G  
 T G C A A C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C T G G  
 C A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C  
 T T T T A T G A T T A T G C C A T G C A C T G G G T C C G G C A A G C T C C A G  
 G G A A G G G C C T G G A G T G G G T C T C A G G T A T T A G T T G G A A T A G  
 T G G T T A C A T A G G C T A T G C G G A C T C T G T G A A G G G C C G A T T C  
 A C C A T C T C C A G A G A C A A C G C C A A G A A C T C C C T G T A T C T G C  
 A A A T G A A C A G T C T G A G A G C T G A G G A C A C G G C C T T G T A T T A  
 C T G T G C A A A A G A T A A C A G C T A T G G A A A G T T C T A C T A C G G T  
 T T G G A C G T C T G G G G C C A A G G G A C C A C G G T C A C C G T C T C C T  
 C A A C C A C G A C G C C A G C G C C G C G A C C A C C A A C A C C G G C G C C  
 C A C C A T C G C G T C G C A G C C C C T G T C C C T G C G C C C A G A G G C G  
 T G C C G G C C A G C G G C G G G G G C G C A G T G C A C A C G A G G G G G C  
 T G G A C T T C G C C T G T G A T A T C T A C A T C T G G G C G C C C T T G G C  
 C G G G A C T T G T G G G G T C C T T C T C C T G T C A C T G G T T A T C A C C  
 C T T T A C T G C C A A C G A C G C A A G T A C C G C T C C A A T A A A G G A G  
 A G T C A C C A G T A G A A C C C G C C G A A C C T T G T C A C T A T T C A T G  
 T C C A C G C G A A G A G G A G G G T T C A A C G A T C C C T A T T C A G G A A  
 G A T T A C A G A A A G C C G G A A C C T G C T T G T A G C C C C A G A G T G A  
 A G T T C A G C C G C A G C G C C G A C G C C C C T G C C T A C C A G C A G G G  
 C C A G A A C C A G C T G T A T A A C G A G C T G A A C C T G G G C A G G C G G  
 G A G G A A T A C G A C G T G C T G G A C A A G C G C A G A G G C C G G G A C C  
 C T G A G A T G G G C G G C A A G C C C C A G A G G C G G A A G A A C C C C C A  
 G G A A G G C C T G T A T A A C G A A C T G C A G A A A G A C A A G A T G G C C  
 G A G G C C T A C A G C G A G A T C G G C A T G A A G G G C G A G C G G C G A C  
 G C G G C A A G G G C C A C G A C G G C C T G T A C C A G G G C C T G T C C A C  
 C G C C A C C A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T G C A C A T G C A G G C C  
 C T G C C T C C C C G T T A G ) の配列を含む。

10

20

30

【 0 1 1 1 】

いくつかの実施形態において、3H7 - CD8 - BBzポリペプチドをコードする単離  
 した核酸は、配列番号14 ( A T G T C C G T G C C T A C C C A G G T G C T G G G C  
 C T G C T G C T G C T G T G G C T G A C C G A C G C C A G A T G C G A A A T A G  
 T G A T G A C G C A G T C T C C A G C C A C C C T G T C T G T G T C T C C A G G  
 G G A A A G A A C C A C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A G A G T G T T  
 A G C A G C A A C T T A G C C T G G T A C C T T C A G A A A C C T G G C C A G G  
 C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G G T G C A T C C A C C A G G G C C A C  
 T G G T A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C T G G G A C A  
 G A G T T C A T T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G T C T G A A G A T T  
 T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C A G T A T A A T A A C T G G C C G A T  
 C A C C T T C G G C C A A G G G A C A C G G C T G G A G A T T A A A G G T G G A  
 G G T G G A T C T G G A G G A G G A G G A T C C G G T G G A G G A G G T G A A G  
 T G C A A C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C T G G  
 C A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C  
 T T T T A T G A T T A T G C C A T G C A C T G G G T C C G G C A A G C T C C A G  
 G G A A G G G C C T G G A G T G G G T C T C A G G T A T T A G T T G G A A T A G

40

50

TGGTTACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGATTC  
 ACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGC  
 AAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTATTA  
 CTGTGCAAAAGATAACAGCTATGGAAAGTTCTACTACGGT  
 TTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCCACGGTCAACCGTCTCCT  
 CAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCC  
 CACCATCGCGTTCGACGCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCG  
 TGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGC  
 TGGACTTCGCCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGC  
 CGGGACTTTGTGGGGTCCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCC  
 CTTTACTGCAAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATAT  
 TCAAACAACCAATTTATGAGACCAGTACAACCTACTCAAGA  
 GGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAA  
 GGAGGATGTGAACCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAG  
 ACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAA  
 CGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTG  
 GACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGGGAAGC  
 CGCAGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGA  
 ACTGCAGAAAGATAAGATGGCAGGAGGCCTACAGTGAATT  
 GGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATG  
 GCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTA  
 CGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA)の配

10

20

列を含む。

【0112】

いくつかの実施形態において、3B9-CD8-BBzポリペプチドをコードする単離  
 した核酸は、配列番号15(ATGAGCGTTCCAACCCAAGTTCTGGGA  
 CTGCTTCTGCTCTGGTTGACTGACGCTAGGTGCGAAATAG  
 TAATGACCCAATCCCCAGCCACTCTCTCCGTTAGCCCAGG  
 TGAAAGAGGCCACTCTTAGTTGCAGGGCTAGTCAATCCGTA  
 TCTAGCAACCTGGCCTGGTACCAGCAAAAGCCCGGACAAG  
 CGCCGCGGTTGTTGATCTATGGGACGAGCACACGAGCTAC  
 GGGTATTCCGGCCAGGTTCTCAGGGTCTGGCTCCGGAACCC  
 GAATTTACATTTGACGATCAGTAGTCTGCAATCAGAGGATT  
 TCGCCGTTTTACTATTGCCAACAGTACAATAATTGGCCGCT  
 CACATTCGGGGGAGGAACCAGGTCGAGATTAAGGGAGGT  
 GGGGGTAGTGGGGGCGGGGGGTCAGGAGGTGGAGGAGAGG  
 TACAGTTGGTAGAAAGCGGCGGGGGGTTGGTTCAACCTGG  
 ACGGAGTCTGAGATTGTCTTGCCTGGCTTCCGGCTTTACT  
 TTCAATGATTTACGCCATGCACCTGGGTACGCCAGGCGCCTG  
 GAAAGGGTCTGGAGTGGGTTTCCGTTGATATCCTGGAATAG  
 TGATAGTATAGGCTATGCCGATAGTGTAAAAGGAAGGTTT  
 ACAATCTCTAGGGATAACGCTAAGAACAGCCTGTACCTTC  
 AAATGCATAGTCTCCGGGCTGAGGACACAGCCTTGTACTA  
 TTGTGCTAAGGACAATCATTATGGAAGCGGGTCAATTTAT  
 TACTATCAATATGGGATGGATGTGTGGGGTCAAGGGAACGA  
 CCGTTACGGTATCCTCAACCACCCCTGCACCAAGGCC  
 CCCGACTCCCAGCCACCACCATCGCGTACAGCCTCTTAGC  
 CTGCGACCGGAAGCATGCAGACCAGCTGCCGGGGGGGCGC  
 TGCATACGAGAGGTTTGGACTTCGCCCTGCGATATCTACAT  
 CTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCTG

30

40

50

T C A C T G G T T A T C A C C C T T T A C T G C A A A C G G G G C A G A A A G A  
 A A C T C C T G T A T A T A T T C A A A C A A C C A T T T A T G A G A C C A G T  
 A C A A A C T A C T C A A G A G G A A G A T G G C T G T A G C T G C C G A T T T  
 C C A G A A G A A G A A G A A G G A G G A T G T G A A C T G A G A G T G A A G T  
 T C A G C A G G A G C G C A G A C G C C C C G C G T A C C A G C A G G G C C A  
 G A A C C A G C T C T A T A A C G A G C T C A A T C T A G G A C G A A G A G A G  
 G A G T A C G A T G T T T T G G A C A A G A G A C G T G G C C G G G A C C C T G  
 A G A T G G G G G G A A A G C C G C A G A G A A G G A A G A A C C C T C A G G A  
 A G G C C T G T A C A A T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A G  
 G C C T A C A G T G A G A T T G G G A T G A A A G G C G A G C G C C G G A G G G  
 G C A A G G G G C A C G A T G G C C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C  
 C A C C A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T G  
 C C C C C T C G C T A A ) の配列を含む。

10

【 0 1 1 3 】

いくつかの実施形態において、2B7 - CD8 - BBzポリペプチドをコードする単離
 した核酸は、配列番号16 ( A T G T C C G T A C C T A C C C A G G T G C T G G G C
 C T G C T G C T G C T G T G G C T G A C C G A C G C C A G A T G C G A A A T T G
 T G T T G A C A C A G T C T C C A G C C A C C C T G T C T T T G T C T C C A G G
 G G A A A G A G C C G C C C T C T C C T G C A G G G C C A G T C A G A G T G T T
 A G C A A C T A C T T A G C C T G G T A C C A A C A G A A A C C T G G C C A G G
 C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G A T G C A T C C A A C A G G G C C A C
 T G G C A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C T G G G A C A
 G A C T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T A G A G C C T G A A G A T T
 T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C A G C G T A G C A A C T G G C C G C T
 C A C T T T C G G C G G A G G G A C C A A G G T G G A G A T C A G A G G T G G A
 G G T G G A T C T G G A G G A G G A G G A T C C G G T G G A G G A G G T G A A G
 T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T A C A G C C T G G
 C A G G T C C C T G C G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C
 T T T C G A G A T T A T A C C A T G C A C T G G G T C C G G C A A G G T C C A G
 G G A A G G G C C T G G A A T G G G T C T C A G G T A T T A G T T G G A A T A G
 T G A T T A C A T A G G C T A T G C G G A C T C T G T G A A G G G C C G A T T C
 A C C A T C T C C A G A G A C A A C G C C A A G A A C T C C C T G T A T C T G C
 A A A T G A A C A G T C T G A G A G T T G A G G A C A C G G C C T T G T A T T A
 C T G T G C A A A G C T C A G T G G G A C C T A C A G G G A C T A C T T C T A C
 G G A G T G G A C G T C T G G G G C C A A G G G A C C A C G G T C A C C G T C T
 C C T C A A C C A C C A C C C C T G C A C C A A G G C C C C G A C T C C C G C
 G C C C A C C A T C G C G T C A C A G C C T C T T A G C C T G C G A C C G G A A
 G C A T G C A G A C C A G C T G C C G G G G G G C C G T G C A T A C G A G A G
 G T T T G G A C T T C G C C T G C G A T A T C T A C A T C T G G G C G C C C T T
 G G C C G G G A C T T G T G G G G T C C T T C T C C T G T C A C T G G T T A T C
 A C C C T T T A C T G C A A A C G G G G C A G A A A G A A A C T C C T G T A T A
 T A T T C A A A C A A C C A T T T A T G A G A C C A G T A C A A A C T A C T C A
 A G A G G A A G A T G G C T G T A G C T G C C G A T T T C C A G A A G A A G A A
 G A A G G A G G A T G T G A A C T G A G A G T G A A G T T C A G C A G G A G C G
 C A G A C G C C C C G C G T A C C A G C A G G G C C A G A A C C A G C T C T A
 T A A C G A G C T C A A T C T A G G A C G A A G A G A G G A G T A C G A T G T T
 T T G G A C A A G A G A C G T G G C C G G G A C C C T G A G A T G G G G G G A A
 A G C C G C A G A G A A G G A A G A A C C C T C A G G A A G G C C T G T A C A A
 T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A G G C C T A C A G T G A G
 A T T G G G A T G A A A G G C G A G C G C C G G A G G G G C A A G G G G C A C G

20

30

40

50

A T G G C C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C C A C C A A G G A C A C  
 C T A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T G C C C C C T C G C T A A  
 ) の配列を含む。

【 0 1 1 4 】

いくつかの実施形態において、9 C 1 1 - C D 8 - B B z ポリペプチドをコードする単

離した核酸は、配列番号 1 7 ( A T G T C C G T G C C T A C C C A G G T G C T G G G  
 C C T G C T G C T G C T G T G G C T G A C C G A C G C C A G A T G C G A A A T T  
 G T G G T G A C A C A G T C T C C A G C C A C C C T G T C T T T G T C T C C A G  
 G G G A A A G A G C C A C C C T C T C C T G C A G G A C C A G T C A G A C T A C

10

T A C C A G C T A C T T A G C C T G G T A C C G A C A G A A A C C T G G C C A G  
 G C T C C C A G G C T C C T C A T C T A T G A T G C A T C C A A C A G G G C C G  
 C T G G C A T C C C A G C C A G G T T C A G T G G C A G T G G G T C T G G G A C  
 A G A C T T C A C T C T C A C C A T C A A C A G C C T G G A G C C T G A A G A T  
 T T T G C A G T T T A T T A C T G T C A G C T G C G T A C C A A C T G G A T C A  
 C C T T C G G C C A A G G G A C A C G A C T G G A G A T T A A A G G T G G A G G  
 T G G A T C T G G A G G A G G A G G A T C C G G T G G A G G A G G T C A G G T G  
 C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G A C T C G G T C A A G C C T G G A G  
 G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T C A C C T T  
 C A G T G A C T C C T A C A T G A C T T G G A T C C G C C A G G C T C C A G G G

20

A A G G G G C T G G A G T G G G T T T C A T T C A T T A G T A G T A G T G G A A  
 G T A C C A T A T A T T A T G C A G A C T C T G T G A A G G G C C G A T T C A C  
 C A T T T C C A G G G A C A A C G T C A A G A A G T C A T T G T A T C T G C A G  
 A T G A A C A G A C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C C G T G T A T T A C T  
 G T G C G A G A G A A G A A C C A G G A A A C T A C G T C T A T T A C G G T A T  
 G G A C G T C T G G G G C C A A G G G A C C A C G G T C A C C G T C T C C T C A  
 A C C A C C A C C C C T G C A C C A A G G C C C C G A C T C C C G C G C C C A  
 C C A T C G C G T C A C A G C C T C T T A G C C T G C G A C C G G A A G C A T G  
 C A G A C C A G C T G C C G G G G G G C C G T G C A T A C G A G A G G T T T G

30

G A C T T C G C C T G C G A T A T C T A C A T C T G G G C G C C C T T G G C C G  
 G G A C T T G T G G G G T C C T T C T C C T G T C A C T G G T T A T C A C C C T  
 T T A C T G C A A A C G G G G C A G A A A G A A A C T C C T G T A T A T A T T C  
 A A A C A A C C A T T T A T G A G A C C A G T A C A A A C T A C T C A A G A G G  
 A A G A T G G C T G T A G C T G C C G A T T T C C A G A A G A A G A A G A A G G  
 A G G A T G T G A A C T G A G A G T G A A G T T C A G C A G G A G C G C A G A C  
 G C C C C G C G T A C C A G C A G G G C C A G A A C C A G C T C T A T A A C G  
 A G C T C A A T C T A G G A C G A A G A G A G G A G T A C G A T G T T T T G G A  
 C A A G A G A C G T G G C C G G G A C C C T G A G A T G G G G G G A A A G C C G  
 C A G A G A A G G A A G A A C C C T C A G G A A G G C C T G T A C A A T G A A C  
 T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A G G C C T A C A G T G A G A T T G G

40

G A T G A A A G G C G A G C G C C G G A G G G G C A A G G G G C A C G A T G G C  
 C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C C A C C A A G G A C A C C T A C G  
 A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T G C C C C C T C G C T A A ) の配列を  
 含む。

【 0 1 1 5 】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、C D 8 ヒンジ領域をコードするコド

ン最適化配列を含む。模範的なコドン最適化 C D 8 ヒンジ領域核酸配列には、配列番号  
 1 8 ( A C C A C C A C C C C T G C A C C A A G G C C C C C G A C T C C C G C G C  
 C C A C C A T C G C G T C A C A G C C T C T T A G C C T G C G A C C G G A A G  
 C A T G C A G A C C A G C T G C C G G G G G G C C G T G C A T A C G A G A G G  
 T T T G G A C T T C G C C T G C G A T ) が含まれるが、これに限定されない。いくつ

50

かの実施形態において、CD8 ヒンジ領域は、以下の配列番号19 ( ACCACGACGCCAGCGCCCGCGACCAACCAACACCCGGCGCCCAACCATCGCGTCGCAGCCCCCTGTCCCTGCGCCCAAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGC GGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGGCTGGACTTTCGCTGTGAT ) によりコードされる。

【0116】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、3B9結合ドメインをコードし、CD8 ヒンジドメインの配列番号18をコードする以下の配列を含む。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、2B7結合ドメインをコードし、CD8 ヒンジドメインの配列番号18をコードする以下の配列を含む。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、9C11結合ドメインをコードし、CD8 ヒンジドメインの配列番号18をコードする以下の配列を含む。いくつかの実施形態において、単離した核酸は、3H7結合ドメインをコードし、CD8 ヒンジドメインの配列番号19をコードする以下の配列を含む。

10

【0117】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号35 ( MSVPTQVLGLLLWLTDARCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYVMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGGSTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKRAGDNWNWFDPWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGDIQMTQSPSSVSASLGDRVTITCRASQGIS SWLAWYQRKPKGAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTIS SLQPEDFATYYCQQA KSVPTFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVL LLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFP EEEEGGC ELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVL DKR RGRDPEMGGK PQR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR )、以下ドメイン：16716P結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む抗BCMA-CARポリペプチドをコードする。

20

30

【0118】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号36 ( MSVPTQVLGLLLWLTDARCQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFS DYYISWIRQAPGKGLEWVSYISSSSGSSSIKYADSVKGRFTISR DNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGNYGMDVWGQGT T V T V S S G G G G S G G G G S G G G G D I Q M T Q S P S S V S A S V G D R V T I T C R A S Q G I N N W L V W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A T S L Q S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A N S F P P T F G Q G T K L E I K T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R )、以下ドメイン：16747P結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む抗BCMA-CARポリペプチドをコードする。

40

【0119】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号37 ( MSVPTQVLGL

50

L L L W L T D A R C Q V Q L Q E S G P G L V K P S E T L S L T C T V S G G S I N  
 Y Y Y W N W I R Q P P G K G L E W I G Y I S Y S G N T N Y N P S L K S R V T I S  
 V A T S R N Q F S L T L S S V T A A D T A V Y Y C A R F A E Y C G G N I C Y Y Y  
 G M D V W G Q G T T V T V S S G G G G S G G G G S G G G G E I V L T Q S P G T L  
 S L S P G E R A T F S C R A S Q S V G S S F L A W Y Q Q K P G Q A P R R L M Y G  
 A S N R A T G I P D R F S G S G S G T D F T L T I S R L E P E D F A V Y Y C Q Q  
 C G G S P W T F G Q G T K V E I K T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R  
 P E A C R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L  
 V I T L Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E  
 E E E G G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y  
 D V L D K R R G R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y  
 S E I G M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P  
 R )、以下ドメイン：21587N結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、  
 4-1BB共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む抗  
 BCMA-CARポリペプチドをコードする。

10

【0120】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号38(MSVPTQVLGL  
 L L L W L T D A R C Q V Q L V E S G G G L V K P G G S L R L S C A A S G F T F S  
 D Y Y I S W I R Q A P G K G L E W V S Y I S S S G S S I K Y A D S V K G R F T I  
 S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E G G N Y G M D V W G Q  
 G T T V T V S S G G G G S G G G G S G G G G D I Q M T Q S P S S V S A S V G D R  
 V T I T C R A S Q G I N N W L V W Y Q Q K P G K A P K L L I Y A A T S L Q S G V  
 P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A N S F P P T F  
 G Q G T K L E I K T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C R P A A  
 G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L Y C K R  
 G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G G C E L  
 R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G  
 R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G M K G E  
 R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R R A K R S G S  
 G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P M A L P V T A L L L P L A L L L H A A R  
 P N W V N V I S D L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A  
 M K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N  
 V T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S \* )、以下  
 ドメイン：16747P結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB  
 共刺激エンドドメイン、CD3 シグナル伝達ドメイン、フェーリン+P2A切断ドメ  
 イン、分泌シグナルならびにsIL15ドメインを順番に含む抗BCMA-CARポリペ  
 プチドをコードする。

20

30

【0121】

いくつかの実施形態において、抗BCMA CAR16716Pポリペプチドをコード  
 する単離した核酸は、配列番号39(ATGAGCGTGCCCTACCCAGGTGCT  
 G G G A C T G C T G C T G C T G T G G C T G A C A G A C G C A A G G T G C G A G  
 G T G C A G C T G G T G G A G T C C G G A G G A G G A C T G G T G C A G C C A G  
 G A G G A T C C C T G A G G C T G T C T T G C G C C G C C A G C G G C T T C A C  
 C T T T A G C T C C T A C G T G A T G T C C T G G G T G C G C C A G G C A C C T  
 G G C A A G G G A C T G G A G T G G G T G T C T G C C A T C A T C G G C T C T G  
 G C G G C A G C A C A T A C T A T G C C G A C A G C G T G A A G G G C C G G T T  
 C A C C A T C T C C A G A G A T A A C T C T A A G A A T A C A C T G T A T C T G  
 C A G A T G A A C A G C C T G A G G G C A G A G G A C A C C G C C G T G T A C T  
 A T T G C G C C A A G A G A G C C G G C G A C A A C T G G A A T T G G T T T G A  
 T C C A T G G G G C C A G G G C A C C C T G G T G A C A G T G T C T A G C G G A

40

50

GGAGGAGGATCTGGAGGAGGAGGAAAGCGGCGGAGGAGGCG  
ACATCCAGATGACACAGTCCCCATCCTCTGTGAGCGCCTC  
CCTGGGCGATAGGGTGACCATCACATGTCGCGCCTCTCAG  
GGCATCAGCTCCTGGCTGGCATGGTACCAGAGGAAGCCAG  
GCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGCAGCATCTAGCCT  
GCAGAGCGGAGTGCCTTCCCGGTTCTCTGGAAGCGGATCC  
GGAGCAGACTTTACCCTGACAATCTCCTCTCTGCAGCCAG  
AGGATTTTCGCCACCTACTATTGTCAGCAGGCCAAGTCCGT  
GCCATTCACCTTTGGCCCCGGCACAAAGGTGGATATCAAG  
ACCACCACCCTGCACCAAGGCCCCCGACTCCCGCGCCCA  
CCATCGCGTCAACAGCCTCTTAGCCTGCGACCAGGAAAGCATG  
CAGACCAGCTGCGGGGGGGGCGGTGCATACGAGAGGTTTG  
GACTTCGCCTGCGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCG  
GGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCTT  
TTACTGCAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTC  
AAACAACCATTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGG  
AAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAGG  
AGGATGTGAACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGAC  
GCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAAGCTCTATAACG  
AGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGA  
CAAGAGACGTTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCG  
CAGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAAC  
TGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGGCCTACAGTGAGATTGG  
GATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGC  
CTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACG  
ACGCCCTTCAACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA)の配列を  
含む。

10

20

【0122】

いくつかの実施形態において、抗BCMA CAR16747Pポリペプチドをコード  
する単離した核酸は、配列番号40(ATGAGCGTGCTACCCAGGTGCT  
GGGACTGCTGCTGTGGCTGACAGACGCAAGGTGCCAG  
GTGCAGCTGGTGGAGAGCGGAGGAGGACTGGTGAAGCCAG  
GAGGAAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCGCCTCTGGCTTCA  
CTTTAGCGACTACTATATCTCCTGGATCAGGCAGGCACCT  
GGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCCTACATCAGCTCCTCTG  
GCAGCTCCATCAAGTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGGTT  
CACCATCTCCAGAGATAACGCCAAGAATTCTCTGTACCTG  
CAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACT  
ATTGCGCCAGAGAGGGCGGCAATTAATGGCATGGACGTGTG  
GGGCCAGGGCACCAACAGTGACCAGTGTCTAGCGGCAGCGGC  
GGCTCTGGAGGAGGAGGAAGCGGCAGGAGGCGACATCC  
AGATGACACAGAGCCCATCCAGCGTGAGCGCCAGCGTGGG  
CGATAGGGTGACCATCACATGTCGCGCCTCCAGGGCATC  
AACAAATTGGCTGGTGTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCAAGG  
CCCCCAAGCTGCTGATCTATGCAGCCACCTCCCTGCAGTC  
TGGAGTGCCTAGCCGGTTCTCCGGATCTGGAAGCGGAACC  
GACTTTACCTGACAATCAGCTCCTGCAAGCCAGAGGATT  
TTGCCACATACTATTGTCAGCAGGCCAACTCCTTCCCCC  
TACCTTTGGCCAGGGCACAAAGCTGGAGATCAAGACCACC  
ACCCCTGCACCAAGGCCCCCGACTCCCGCGCCCAACATCG

30

40

50

CGTCAACAGCCTCTTAGCCTGCGACCAGGAAGCATGCAGACC  
AGCTGCCGGTGGGGCGGTGCATACGAGAGGTTTGGACTTC  
GCCTGCGATATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTT  
GTGGGGTCCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCCTTTACTG  
CAAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAA  
CCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATG  
GCTGTAGCTGCCCATTTCAGAAAGAAAGAAAGGAGGATG  
TGAACCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCC  
GCGTACCAGCAGGGCCAGAACCCAGCTCTATAACGAGCTCA  
ATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAG  
ACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGCAGAGA  
AGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCCTGTACAATGAACTGCAGA  
AAGATAAGATGGCGGAGGCCCTACAGTGAGATTGGGATGAA  
AGGCAGACGCCGGAGGGGCAGGGGCACGATGGCCTTTAC  
CAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCC  
TTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA)の配列を含む。

10

【0123】

いくつかの実施形態において、抗BCMA CAR21587Nポリペプチドをコード  
する単離した核酸は、配列番号41(ATGAGCGTGCCCTACCCAGGTGCT  
GGGACTGCTGCTGCTGTGGCTGACAGACGCAAGGTGCCAG  
GTGCAGCTGCAAGGAGTCTGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAT  
CCGAGACCCTGTCTCTGACCTGCACAGTGAGCGGC GGCTC  
CATCAATTACTATTACTGGAACTGGATCAGGCAGCCACCT  
GGCAAGGGACTGGAGTGGATCGGCCTACATCAGCTATTCCG  
GCAACACCAATTACAACCCTTCTCTGAAGAGCAGGGTGAC  
CATCAGCGTGGCCACATCCCGCAATCAGTTCAGCCTGACA  
CTGAGCTCCGTGACCGCAGCAGACACAGCCGTGTATTACT  
GCGCAAGGTTTTGCAGAGTACTGCGGAGGCAACATCTGTTA  
TTACTATGGCATGGACGTGTGGGGCCAGGGCACCCACAGTG  
ACCGTGTCTAGCGGC GGCGGGCTCTGGAGGAGGAGGAA  
GCGGAGGAGGAGGAGAGATCGTGCTGACCCAGTCCCAGG  
CACACTGTCTCTGAGCCCTGGAGAGAGGGCCACATTTCTCT  
TGTCGCGCCCTCCAGTCTGTGGGCTCCTCTTTTCTGGCCT  
GGTACCAGCAGAAAGCCAGGACAGGCAACACGGAGACTGAT  
GTATGGAGCATCCAATAGGGCAACCAGGAATCCCAGACAGA  
TTCAGCGGCTCCGGCTCTGGCACAGACTTCACCCCTGACAA  
TCAGCAGACTGGAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTACTATTG  
CCAGCAGTGTGGAGGATCCCCATGGACCTTTGGCCAGGGGA  
ACAAAGGTGGAGATCAAGACCACCCCTGCACCAAGGC  
CCCCGACTCCCGCGCCACCAATCGCGTCAACAGCCTCTTAG  
CCTGCGACCCGGAAGCATGCAGACCAGCTGCCGGGGGGGCC  
GTGCATACGAGAGGTTTGGACTTTCGCCCTGCGATATCTACA  
TCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCCTTCTCCT  
GTCACTGGTTATCACCCCTTTACTGCAACGGGGCAGAAAG  
AAACTCCTGTATATATTCAAACAACCAATTTATGAGACCAG  
TACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATT  
TCCAGAAAGAAAGAAAGAGGAGGATGTGAACTGAGAGTGAAG  
TTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCC  
AGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGA  
GGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCT

20

30

40

50

G A G A T G G G G G G A A A G C C G C A G A G A A G G A A G A A C C C T C A G G  
 A A G G C C T G T A C A A T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A  
 G G C C T A C A G T G A G A T T G G G A T G A A A G G C G A G C G C C G G A G G  
 G G C A A G G G G C A C G A T G G C C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G  
 C C A C C A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T  
 G C C C C C T C G C T A A ) の配列を含む。

【 0 1 2 4 】

いくつかの実施形態において、抗BCMA CAR16747P+sIL15ポリペプ  
 チドをコードする単離した核酸は、配列番号42 ( ATGAGCGTGCCCTACCCA

G G T G C T G G G A C T G C T G C T G C T G T G G C T G A C A G A C G C A A G G  
 T G C C A G G T G C A G C T G G T G G A G A G C G G A G G A G G A C T G G T G A  
 A G C C A G G A G G A A G C C T G A G G C T G T C C T G C G C C G C C T C T G G  
 C T T C A C C T T T A G C G A C T A C T A T A T C T C C T G G A T C A G G C A G  
 G C A C C T G G C A A G G G A C T G G A G T G G G T G T C C T A C A T C A G C T  
 C C T C T G G C A G C T C C A T C A A G T A T G C C G A C T C T G T G A A G G G  
 C C G G T T C A C C A T C T C C A G A G A T A A C G C C A A G A A T T C T C T G  
 T A C C T G C A G A T G A A C A G C C T G C G G G C C G A G G A C A C A G C C G  
 T G T A C T A T T G C G C C A G A G A G G G C G G C A A T T A T G G C A T G G A  
 C G T G T G G G G C C A G G G C A C C A C A G T G A C C G T G T C T A G C G G C  
 G G C G G C G G C T C T G G A G G A G G A G G A A G C G G C G G A G G A G G C G  
 A C A T C C A G A T G A C A C A G A G C C C A T C C A G C G T G A G C G C C A G  
 C G T G G G C G A T A G G G T G A C C A T C A C A T G T C G C G C C T C C C A G  
 G G C A T C A A C A A T T G G C T G G T G T G G T A C C A G C A G A A G C C A G  
 G C A A G G C C C C C A A G C T G C T G A T C T A T G C A G C C A C C T C C C T  
 G C A G T C T G G A G T G C C T A G C C G G T T C T C C G G A T C T G G A A G C  
 G G A A C C G A C T T T A C C C T G A C A A T C A G C T C C C T G C A G C C A G  
 A G G A T T T T G C C A C A T A C T A T T G T C A G C A G G C C A A C T C C T T  
 C C C C C C T A C C T T T G G C C A G G G C A C A A A G C T G G A G A T C A A G  
 A C C A C C A C C C C T G C A C C A A G G C C C C G A C T C C C G C G C C C A  
 C C A T C G C G T C A C A G C C T C T T A G C C T G C G A C C G G A A G C A T G  
 C A G A C C A G C T G C C G G T G G G G C G G T G C A T A C G A G A G G T T T G  
 G A C T T C G C C T G C G A T A T C T A C A T C T G G G C G C C C T T G G C C G  
 G G A C T T G T G G G G T C C T T C T C C T G T C A C T G G T T A T C A C C C T  
 T T A C T G C A A A C G G G G C A G A A A G A A A C T C C T G T A T A T A T T C  
 A A A C A A C C A T T T A T G A G A C C A G T A C A A A C T A C T C A A G A G G  
 A A G A T G G C T G T A G C T G C C G A T T T C C A G A A G A A G A A G A A G G  
 A G G A T G T G A A C T G A G A G T G A A G T T C A G C A G G A G C G C A G A C  
 G C C C C G C G T A C C A G C A G G G C C A G A A C C A G C T C T A T A A C G  
 A G C T C A A T C T A G G A C G A A G A G A G G A G T A C G A T G T T T T G G A  
 C A A G A G A C G T G G C C G G G A C C C T G A G A T G G G G G G A A A G C C G  
 C A G A G A A G G A A G A A C C C T C A G G A A G G C C T G T A C A A T G A A C  
 T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A G G C C T A C A G T G A G A T T G G  
 G A T G A A A G G C G A G C G C C G G A G G G G C A A G G G G C A C G A T G G C  
 C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C C A C C A A G G A C A C C T A C G  
 A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T G C C C C C T C G C C G C G C G A A  
 G C G A T C A G G C A G C G G G G C G A C A A A T T T C A G C C T T C T G A A A  
 C A A G C A G G C G A C G T G G A A G A A A A C C C C G G T C C A A T G G C C T  
 T A C C A G T G A C C G C C T T G C T C C T G C C G C T G G C C T T G C T G C T  
 C C A C G C C G C C A G G C C G A A C T G G G T G A A T G T A A T A A G T G A T  
 T T G A A A A A A A T T G A A G A T C T T A T T C A A T C T A T G C A T A T T G

10

20

30

40

50

A T G C T A C T T T T A T A T A C G G A A A G T G A T G T T C A C C C C A G T T G  
 C A A A G T A A C A G C A A T G A A G T G C T T T C T C T T G G A G T T A C A A  
 G T T A T T T C A C T T G A G T C C G G A G A T G C A A G T A T T C A T G A T A  
 C A G T A G A A A A T C T G A T C A T C C T A G C A A A C A A C A G T T T G T C  
 T T C T A A T G G G A A T G T A A C A G A A T C T G G A T G C A A A G A A T G T  
 G A G G A A C T G G A G G A A A A A A T A T T A A A G A A T T T T T G C A G A  
 G T T T T G T A C A T A T T G T C C A A A T G T T C A T C A A C A C T T C T T G  
 A ) の配列を含む。

【 0 1 2 5 】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号 46 ( M S V P T Q V L G L  
 L L L W L T D A R C E I V M T Q S P A T L S V S P G E R T T L S C R A S Q S V S  
 S N L A W Y L Q K P G Q A P R L L I Y G A S T R A T G I P A R F S G S G S G T E  
 F I L T I S S L Q S E D F A V Y Y C Q Q Y N N W P I T F G Q G T R L E I K G G G  
 G S G G G G S G G G G E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T F  
 Y D Y A M H W V R Q A P G K G L E W V S G I S W N S G Y I G Y A D S V K G R F T  
 I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K D N S Y G K F Y Y G L  
 D V W G Q G T T V T V S S T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C  
 R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L  
 Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G  
 G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D  
 K R R G R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G  
 M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R G S G  
 A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P M A L P V T A L L L P L A L L L H A A R P  
 N W V N V I S D L K K I E D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M  
 K C F L L E L Q V I S L E S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V  
 T E S G C K E C E E L E E K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S \* )、以下ド  
 メイン：3H7 結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB 共刺激エ  
 ンドドメイン、CD3 シグナル伝達ドメイン、P2A 切断ドメイン ( G S G A T N F S  
 L L K Q A G D V E E N P G P、配列番号 47 )、分泌シグナルならびに s I L 1 5 ドメ  
 インを順番に含む抗 CD 2 0 C A R ポリペプチドをコードする。

10

20

30

【 0 1 2 6 】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号 48 ( M S V P T Q V L G L  
 L L L W L T D A R C E I V M T Q S P A T L S V S P G E R T T L S C R A S Q S V S  
 S N L A W Y L Q K P G Q A P R L L I Y G A S T R A T G I P A R F S G S G S G T E  
 F I L T I S S L Q S E D F A V Y Y C Q Q Y N N W P I T F G Q G T R L E I K G G G  
 G S G G G G S G G G G E V Q L V E S G G G L V Q P G R S L R L S C A A S G F T F  
 Y D Y A M H W V R Q A P G K G L E W V S G I S W N S G Y I G Y A D S V K G R F T  
 I S R D N A K N S L Y L Q M N S L R A E D T A L Y Y C A K D N S Y G K F Y Y G L  
 D V W G Q G T T V T V S S T T T P A P R P P T P A P T I A S Q P L S L R P E A C  
 R P A A G G A V H T R G L D F A C D I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T L  
 Y C K R G R K K L L Y I F K Q P F M R P V Q T T Q E E D G C S C R F P E E E E G  
 G C E L R V K F S R S A D A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D  
 K R R G R D P E M G G K P Q R R K N P Q E G L Y N E L Q K D K M A E A Y S E I G  
 M K G E R R R G K G H D G L Y Q G L S T A T K D T Y D A L H M Q A L P P R G S G  
 A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P M R I S K P H L R S I S I Q C Y L C L L L  
 N S H F L T E A G I H V F I L G C F S A G L P K T E A N W V N V I S D L K K I E  
 D L I Q S M H I D A T L Y T E S D V H P S C K V T A M K C F L L E L Q V I S L E  
 S G D A S I H D T V E N L I I L A N N S L S S N G N V T E S G C K E C E E L E E  
 K N I K E F L Q S F V H I V Q M F I N T S \* )、以下ドメイン：3H7 結合ドメイン  
 、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB 共刺激エンドドメイン、CD3 シグ

40

50

ナル伝達ドメイン、配列番号47のP2A切断ドメイン、配列番号49(MRISKPH  
LRSISIQCYLCLLNSHFLTEAGIHVFILGCF SAGLPKTE  
A)の分泌シグナルならびにsIL15ドメインを順番に含む抗CD20CARポリペ  
チドをコードする。

【0127】

いくつかの実施形態において、抗CD20CAR+sIL15ポリペプチドをコードす

る単離した核酸は、配列番号50(ATGTC CGTG CCTACCCAGGTGCTG  
GGCCTGCTGCTGCTGTGGCTGACCGACGCCAGATGCGAAA  
TAGTGATGACG CAGTCTCCAGCCACCCCTGTCTGTGTCTCC  
AGGGGAAGAACAACCCTCTCCTG CAGGGCCAGT CAGAGT  
GTTAGCAGCAACTTAGCCTGGTACCTTCAGAAACCTGGCC  
AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTG CATCCAC CAGGGC  
CACTGGTATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGG  
ACAGAGTTCAATTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAG  
ATTTTGCAGTTTATTA CTGT CAGCAGTATAATAACTGGCC  
GATCACCTTTCGGCCAAGGGACACGGCTGGAGATTAAGGT  
GGAGGTGGATCTGGAGGAGGAGGATCCGGTGGAGGAGGTG  
AAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGC TTGGTACAGCC  
TGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT C  
ACCTTTTATGATTA TGCCATGC ACTGGGTCCGGCAAGCTC  
CAGGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAA  
TAGTGGTTACATAGGCTATGC GGACTCTGTGAAGGGCCGA  
TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATC  
TGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCCTTGTA  
TTACTGTGCAAAAAGATAACAGCTATGGAAAAGTTCTACTAC  
GGTTTGGACGTCTGGGGCCAAAGGGAC CACGGTCAACCGTCT  
CCTCAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAACCAACACCGGC  
GCCCAACCATCGCGTCGCAGCCCTGTCCCTGCGCCCAGAG  
GCGTGC CGGCCAGCGGC GGGGGGCGCAGTGCACACGAGGG  
GGCTGGACTTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGGCGCCCTT  
GGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATC  
ACCTTTTACTGC AAAACGGGGCAGAAAAGAAACTCCTGTATA  
TATTCAAAACAACCAATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCA  
AGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAAGAAAGAA  
GAAGGAGGATGTGA ACTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCG  
CAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAAACCAGCTCTA  
TAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTT  
TTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGGAA  
AGCCGCAGAGAAAGGAAGAAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAA  
TGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAG  
ATTGGGATGAAAAGGC GAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACG  
ATGGCCTTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACC AAGGACAC  
CTACGACGCCCTTCA CATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCGGT  
AGCGGGGCTACGA ACTTCTCCCTTCTTAACAAGCGGGAG  
ACGTGGAAGAAAATCCCGGACCTATGGCCTTACCAGTGAC  
CGCCTTGCTCCTGCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCGCC  
AGGCCGA ACTGGGTGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAA  
TTGAAGATCTTATTTCAATCTATGCATATTGATGCTACTTT  
ATATACGGAAAAGTGATGTTTACCC CAGTTGCAAAAGTAACA  
GCAATGAAGTGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATTTCAC

10

20

30

40

50

TTGAGTCCGGAGATGCAAGTATTCATGATACAGTAGAAAA  
TCTGATCATCCTAGCAAACAACAGTTTGTCTTCTAATGGG  
AATGTAACAGAATCTGGATGCAAAGAATGTGAGGAAGCTGG  
AGGAAAAAATATTAAGAATTTTTGTCAGAGTTTTGTACA  
TATTGTCCAAATGTTTCATCAACACTTCTTGA)の配列を含む。

【0128】

いくつかの実施形態において、抗CD20CAR + sIL15ポリペプチドをコードする単離した核酸は、配列番号51(ATGTCCGTGCCCTACCCAGGTGCTG

GGCCTGCTGCTGCTGTGGCTGACCGACGCCAGATGCGAAAA  
TAGTGATGACGCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCC  
AGGGGAAAGAACCACCCTCTCCTGTCAGGGCCAGTCAAGAGT  
GTTAGCAGCAACTTAGCCTGGTACCTTCAGAAAACCTGGCC  
AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGC  
CACTGGTATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGG  
ACAGAGTTTCATTTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAG  
ATTTTGCAGTTTATTACTGTTCAGCAGTATAATAACTGGCC  
GATCACCTTCGGCCAAGGGACACGGCTGGAGATTAAAGGT  
GGAGGTGGATCTGGAGGAGGAGGATCCGGTGGAGGAGGTG  
AAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGGCTTGGTACAGCC  
TGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTTC  
ACCTTTTATGATTATGCCATGCACCTGGGTCCGGCAAGCTC  
CAGGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAA  
TAGTGGTTACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA  
TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGAAGCTCCCTGTATC  
TGCAAATGAACAGTCTGAGAGCTGAGGACACGGCCTTGTA  
TTACTGTGCAAAAGATAAACAGCTATGGAAAGTTCTACTAC  
GGTTTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCAACGGTCAACCGTCT  
CCTCAACCACGACGCCAGCGCCGCGACCAACCAACACCGGC  
GCCCAACCATCGCGTCGCAGCCCTGTCCCTGCGCCCAAGAG  
GCGTGC CGGCCAGCGGGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGG  
GGCTGGACTTTCGCCTGTGATATCTACATCTGGGCGCCCTT  
GGCCGGGACTTGTGGGGTCTTCTCCTGTCACTGGTTATC  
ACCCTTTACTGCAAAACGGGGCAGAAAAGAACTCCTGTATA  
TATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCA  
AGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAAGAAAGAA  
GAAGGAGGATGTGAAGTGAAGTTCAAGCAGGAGCG  
CAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAAACCAGCTCTA  
TAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTT  
TTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCCTGAGATGGGGGGAA  
AGCCGCAGAGAAAGAAAGAAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAA  
TGAAGTGCAGAAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAG  
ATTGGGATGAAAGGCAGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGACAG  
ATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAGGACAC  
CTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCGGT  
AGCGGGGCTACGAACCTTCTCCCTTTAAACAAGCGGGAG  
ACGTGGAAGAAAATCCCGGACCTATGAGAAATTTGAAACC  
ACATTTGAGAAAGTATTTCCATCCAGTGCTACTTGTGTTTA  
CTTCTAAACAGTCATTTTCTAACTGAAGCTGGCATTCATG  
TCTTCAATTTTGGGCTGTTTTCAGTGCAGGGCTTCCCTAAAAC  
AGAAAGCCAACCTGGGTGAAATGTAATAAGTGATTTGAAAAA

10

20

30

40

50

ATTGAAGATCTTATTCAATCTATGCATATTGATGCTACTT  
TATATACGGAAAGTGATGTTTACCCAGTTGCAAAGTAAC  
AGCAATGAAGTGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATTTCA  
CTTGAGTCCGGAGATGCAAAGTATTCATGATACAGTAGAAA  
ATCTGATCATCCTAGCAAACAACAGTTTGTCTTCTAATGG  
GAATGTAACAGAATCTGGATGCAAAGAATGTGAGGAACTG  
GAGGAAAAAATATTAAGAATTTTTGCAGAGTTTTGTAC  
ATATTGTCCAAATGTTTCATCAACACTTCTTGA)の配列を含む。

## 【0129】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、配列番号57(MSVPTQVLGL  
LLLWLT DARCEIVMTQSPATLSVSPGERTT LSCRASQSVS  
SNLAWYLQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTE  
FILTISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPITFGQGTRLEIKGGG  
GSGGGGSGGGGGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTF  
YDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGYIGYADSVKGRFT  
ISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDNSYGKFFYYGL  
DVWGQGT TTVTSSTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEAC  
RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITL  
YCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG  
GCELRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL D  
KRRGRDPEMGGK PQRKKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIG  
MKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR\*)、  
以下のドメイン：3H7結合ドメイン、CD8 ヒンジ及び膜貫通ドメイン、4-1BB  
共刺激エンドドメインならびにCD3 シグナル伝達ドメインを順番に含む抗CD20C  
ARポリペプチドをコードするが、配列番号57をコードする領域の内部リボソーム侵入  
部位(例えば配列番号56によってコードされた部位)を介して、この単離した核酸は、  
配列番号58(MALPVTALLLPLALLLHAARPNWVNVISDLKKI  
EDLIQSMHIDATLYTESDVHP SCKVTAMKCFLLLELQVIS  
LES GDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEEL  
EEKNIKEFLQS FVHIVQMFINTS\*)、配列番号33の分泌シグナル及  
びsIL15ドメインをさらにコードする。

## 【0130】

いくつかの実施形態において、抗CD20CAR+sIL15ポリペプチドをコードす  
る単離した核酸は、配列番号59(ATGTCCGTGCCTACCCAGGTGCTG  
GGCCTGCTGCTGCTGTGGCTGACCGACGCCAGATGCGAAA  
TAGTGATGACG CAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGTCTCC  
AGGGGAAAGAAACCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAAGAGT  
GTTAGCAGCAAACCTTAGCCTGGTACCTTCAGAAACCTGGCC  
AGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCACCAGGGC  
CACTGGTATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGG  
ACAGAGTTCAATTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGTCTGAAG  
ATTTTGCAGTTTATTA CTGT CAGCAGTATAATAACTGGCC  
GATCACCTTTCGGCCAAGGGACACGGCTGGAGATTAAAGGT  
GGAGGTGGATCTGGAGGAGGAGGATCCGGTGGAGGAGGTG  
AAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGGTACAGCC  
TGGCAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTTC  
ACCTTTTATGATTATGCCATGCACTGGGTCCGGCAAGCTC  
CAGGGAAAGGGCCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTTGGAA  
TAGTGGTTACATAGGCTATGCGGACTCTGTGAAGGGCCGA  
TTCACCATCTCCAGAGACAACGCCAAGA ACTCCCTGTATC

10

20

30

40

50

T G C A A A T G A A C A G T C T G A G A G C T G A G G A C A C G G C C T T G T A  
 T T A C T G T G C A A A A G A T A A C A G C T A T G G A A A G T T C T A C T A C  
 G G T T T G G A C G T C T G G G G C C A A G G G A C C A C G G T C A C C G T C T  
 C C T C A A C C A C G A C G C C A G C G C C G C G A C C A C C A A C A C C G G C  
 G C C C A C C A T C G C G T C G C A G C C C C T G T C C C T G C G C C C A G A G  
 G C G T G C C G G C C A G C G G C G G G G G C G C A G T G C A C A C G A G G G  
 G G C T G G A C T T C G C C T G T G A T A T C T A C A T C T G G G C G C C C T T  
 G G C C G G G A C T T G T G G G G T C C T T C T C C T G T C A C T G G T T A T C  
 A C C C T T T A C T G C A A A C G G G G C A G A A A G A A A C T C C T G T A T A  
 T A T T C A A A C A A C C A T T T A T G A G A C C A G T A C A A A C T A C T C A  
 A G A G G A A G A T G G C T G T A G C T G C C G A T T T C C A G A A G A A G A A  
 G A A G G A G G A T G T G A A C T G A G A G T G A A G T T C A G C A G G A G C G  
 C A G A C G C C C C C G C G T A C C A G C A G G G C C A G A A C C A G C T C T A  
 T A A C G A G C T C A A T C T A G G A C G A A G A G A G G A G T A C G A T G T T  
 T T G G A C A A G A G A C G T G G C C G G G A C C C T G A G A T G G G G G G A A  
 A G C C G C A G A G A A G G A A G A A C C C T C A G G A A G G C C T G T A C A A  
 T G A A C T G C A G A A A G A T A A G A T G G C G G A G G C C T A C A G T G A G  
 A T T G G G A T G A A A G G C G A G C G C C G G A G G G G C A A G G G G C A C G  
 A T G G C C T T T A C C A G G G T C T C A G T A C A G C C A C C A A G G A C A C  
 C T A C G A C G C C C T T C A C A T G C A G G C C C T G C C C C C T C G C T A G  
 A G T A C T G C G G C C G C T A C G T A A A T T C C G C C C C T C T C C C T C C  
 C C C C C C C T A A C G T T A C T G G C C G A A G C C G C T T G G A A T A A G  
 G C C G G T G T G C G T T T G T C T A T A T G T T A T T T T C C A C C A T A T T  
 G C C G T C T T T T G G C A A T G T G A G G G C C C G G A A A C C T G G C C C T  
 G T C T T C T T G A C G A G C A T T C C T A G G G G T C T T T C C C C T C T C G  
 C C A A A G G A A T G C A A G G T C T G T T G A A T G T C G T G A A G G A A G C  
 A G T T C C T C T G G A A G C T T C T T G A A G A C A A A C A A C G T C T G T A  
 G C G A C C C T T T G C A G G C A G C G G A A C C C C C A C C T G G C G A C A  
 G G T G C C T C T G C G G C C A A A A G C C A C G T G T A T A A G A T A C A C C  
 T G C A A A G G C G G C A C A A C C C C A G T G C C A C G T T G T G A G T T G G  
 A T A G T T G T G G A A A G A G T C A A A T G G C T C T C C T C A A G C G T A T  
 T C A A C A A G G G G C T G A A G G A T G C C C A G A A G G T A C C C C A T T G  
 T A T G G G A T C T G A T C T G G G G C C T C G G T G C A C A T G C T T T A C A  
 T G T G T T T A G T C G A G G T T A A A A A A A C G T C T A G G C C C C C C G A  
 A C C A C G G G G A C G T G G T T T T C C T T T G A A A A A C A C G A T G A T A  
 T T A A T T A A G C C A C C G C C A T G G C C T T A C C A G T G A C C G C C T T  
 G C T C C T G C C G C T G G C C T T G C T G C T C C A C G C C G C C A G G C C G  
 A A C T G G G T G A A T G T A A T A A G T G A T T T G A A A A A A A T T G A A G  
 A T C T T A T T C A A T C T A T G C A T A T T G A T G C T A C T T T A T A T A C  
 G G A A A G T G A T G T T C A C C C C A G T T G C A A A G T A A C A G C A A T G  
 A A G T G C T T T C T C T T G G A G T T A C A A G T T A T T T C A C T T G A G T  
 C C G G A G A T G C A A G T A T T C A T G A T A C A G T A G A A A A T C T G A T  
 C A T C C T A G C A A A C A A C A G T T T G T C T T C T A A T G G G A A T G T A  
 A C A G A A T C T G G A T G C A A A G A A T G T G A G G A A C T G G A G G A A A  
 A A A A T A T T A A A G A A T T T T T G C A G A G T T T T G T A C A T A T T G T  
 C C A A A T G T T C A T C A A C A C T T C T T G A ) の配列を含む。

10

20

30

40

【0131】

いくつかの実施形態において、単離した核酸は、直鎖状核酸である。いくつかの実施形  
 態において、単離した核酸は、環状核酸である。いくつかの実施形態において、単離した  
 核酸は、プラスミドベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、

50

ウイルスベクター、レトロウイルスベクター、またはレンチウイルスベクターなどのベクターである。いくつかの実施形態において、単離した核酸、または例えば、結合ドメイン膜貫通ドメイン及び1種または複数種のシグナル伝達及び/または共刺激エンドドメインを含む、単離した核酸の連続した一部は、宿主 T細胞などの宿主細胞のゲノムに組み込まれる。模範的な実施形態において、単離した核酸はレトロウイルスベクターである。

【0132】

T細胞：

本発明の態様は、本明細書に記載の単離した核酸を機能的に発現し、それにより T細胞の表面でCARを発現する T細胞を含む。

【0133】

本発明の態様は、腫瘍関連抗原(TAA)の細胞表面発現を示す血液腫瘍細胞に対して *in vitro* または *in vivo* の細胞毒性活性を有する T細胞を代用的または追加的に含み得る。場合によっては、細胞毒性活性は生来の活性である。場合によっては、細胞毒性は、血液腫瘍細胞の表面で発現するTAAに特異的に結合する結合ドメインを有するCARコンストラクトの存在に起因して、少なくとも部分的に、有意に(>約25%)、または完全にある。場合によっては、この T細胞において、T細胞の血液腫瘍細胞傷害活性が、対照 T細胞における *in vitro* 及び/または *in vivo* の血液腫瘍細胞傷害活性の生来のレベルより大きいことを示す。場合によっては、対照 T細胞はCARコンストラクトを含まない。場合によっては、対照 T細胞は、本明細書に記載の結合ドメイン、本明細書に記載のヒンジ領域、本明細書に記載の膜貫通ドメイン、本明細書に記載のシグナル伝達ドメイン及び/または本明細書に記載の共刺激エンドドメインを欠くCARコンストラクトを含む。

【0134】

場合によっては、細胞毒性は、CD20またはCD20内のエピトープに特異的に結合する結合ドメインを有するCARコンストラクトの存在に起因して、少なくとも部分的に、有意に(>約25%)、または完全にある。場合によっては、T細胞は、本明細書に記載の単離した核酸によりコードされるCD20特異的CARを機能的に発現する。

【0135】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の T細胞は、HLAに制限された(例えば、HLAクラスIに制限された)細胞毒性を示し得る。他の実施形態においては、ほとんど(>50%)、実質的に全て(>90%)、または全ての細胞毒性活性は、HLAに制限(例えば、HLAクラスIに制限)されない。HLAに制限される細胞毒性活性は、HLA(例えば、HLAクラスI)(null)腫瘍細胞株に対する *in vitro* 細胞毒性を、HLA+(例えば、HLAクラスI+)腫瘍細胞株に対する *in vitro* 細胞毒性と比較することにより評価することが可能である。いくつかの実施形態において、HLAに制限される細胞毒性活性は、T細胞受容体様結合ドメインの使用により、少なくとも部分的に、有意に(>25%)、または完全に提供される。結合ドメインのようなT細胞受容体は、MHC分子と複合体中の細胞の表面に提示されたときに抗原を特異的に認識する結合ドメインである。T細胞受容体様結合ドメインは、例えば、WO2016/199141にさらに記載されている。

【0136】

本明細書に記載の T細胞は、強力及び/または持続的な血液腫瘍細胞傷害活性を示すことが可能である。場合によっては、血液腫瘍細胞傷害活性は、血液腫瘍細胞との最初の接触から少なくとも約6日から120日間、または少なくとも約6日から180日間持続する可能性がある。場合によっては、本明細書に記載の T細胞またはその子孫の血液腫瘍細胞傷害活性は、血液腫瘍細胞との最初の接触からまたは本明細書に記載の T細胞の投与から、少なくとも約6日から120日、または少なくとも約6日から180日間持続することが可能である。この持続的な血液腫瘍細胞傷害活性は *in vitro*、*in vivo*、または *in vitro* と *in vivo* の両方で示され得る。

【0137】

10

20

30

40

50

本発明の態様は、腫瘍関連抗原（TAA）の細胞表面発現または過剰発現を示す細胞との接触に応じて増殖する T 細胞を代用的または追加的に含み得る。腫瘍関連抗原（TAA）の細胞表面発現を示す細胞は、正常な B 細胞などの正常な血液細胞であってもよい。腫瘍関連抗原（TAA）の細胞表面発現または過剰発現を示す細胞は、血液腫瘍細胞であってもよい。場合によっては、増殖は生来の活性である。場合によっては、増殖は、血液細胞または血液腫瘍細胞の表面で発現する TAA に特異的に結合する結合ドメインを有する CAR コンストラクトの存在に起因して、少なくとも部分的に、有意に（> 約 20% もしくは > 約 25%）、または完全にある。場合によっては、T 細胞は、対照の T 細胞と比較して、*in vitro* 及び / または *in vivo* のより高いレベルの増殖を示す。場合によっては、対照 T 細胞は CAR コンストラクトを含まない。場合によっては、対照 T 細胞は、本明細書に記載の結合ドメイン、本明細書に記載のヒンジ領域、本明細書に記載の膜貫通ドメイン、本明細書に記載のシグナル伝達ドメイン及び / または本明細書に記載の共刺激エンドドメインを欠く CAR コンストラクトを含む。

10

## 【0138】

場合によっては、増殖は、CD20 または CD20 内のエピトープに特異的に結合する結合ドメインを有する CAR コンストラクトの存在に起因して、少なくとも部分的に、有意に（> 約 20% もしくは > 約 25%）、または完全にある。場合によっては、CD20 の細胞表面発現を示す血液細胞または血液腫瘍細胞との接触に反応して増殖を示す T 細胞は、本明細書に記載の単離した核酸によりコードされる CD20 特異的 CAR を機能的に発現する。

20

## 【0139】

本明細書に記載の T 細胞は、腫瘍関連抗原（TAA）の細胞表面発現または過剰発現を示す血液細胞または血液腫瘍細胞を含む宿主生物において強力及び / または持続的な増殖を示すことが可能である。場合によっては、増殖は、血液腫瘍細胞との最初の接触から、または T 細胞の宿主生物への投与日から、少なくとも約 6 日から 120 日間、または少なくとも約 6 日から 180 日間持続し得る。場合によっては、腫瘍関連抗原（TAA）の細胞表面発現または過剰発現を示す血液細胞または血液腫瘍細胞を含む宿主生物における、本明細書に記載の T 細胞またはその子孫の増殖は、血液細胞または血液腫瘍細胞との最初の接触から、または T 細胞の宿主生物への最初の投与日から、少なくとも約 6 日から 120 日間、または少なくとも約 6 日から 180 日間持続し得る。場合によっては、宿主生物中の増殖は、CD20 または CD20 内のエピトープに特異的に結合する結合ドメインを有する CAR コンストラクトの存在に起因して、少なくとも部分的に、有意に（> 約 20% もしくは > 約 25%）、または完全にある。場合によっては、CD20 の細胞表面発現を示す血液細胞または血液腫瘍細胞を含む宿主生物中の増殖を示す T 細胞は、本明細書に記載の単離した核酸によりコードされる CD20 特異的 CAR を機能的に発現する。

30

## 【0140】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載の T 細胞は、血液細胞または血液腫瘍細胞との接触後に、腫瘍壊死因子アルファまたはインターフェロンガンマなどの炎症誘発性サイトカインを発現、または持続的に発現する。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の T 細胞またはその子孫は、血液細胞または血液腫瘍細胞を含む宿主生物中などで、血液細胞または血液腫瘍細胞との接触後に、腫瘍壊死因子アルファまたはインターフェロンガンマなどの炎症誘発性サイトカインを発現、または持続的に発現する。

40

## 【0141】

いくつかの実施形態において、T 細胞または T 細胞を含む医薬組成物は、同種異系宿主に導入されたときに、移植片対宿主応答を実質的に示さない、または示さない。いくつかの実施形態において、T 細胞または T 細胞を含む医薬組成物は、同種異系宿主に導入されたときに、移植片対宿主応答を臨床的に受容可能なレベルで示す。いくつかの実施形態において、臨床的に受容可能なレベルとは、治療上有効な治療を達成するために T 細胞治療の中止を必要としない移植片対宿主応答の量である。いくつかの実

50

施形態において、移植片対宿主応答（GvHD）の臨床的に受容可能なレベルは、適用可能なIBMT R評価尺度により、グレードCよりも重症度が低い急性応答である。急性移植片対宿主反応の重症度は、皮膚、肝臓及び消化管の関与の程度を評価することで決定される。個々の臓器の病変のステージが組み合わされて、予後的意義を有する全体的なグレードが作製される。グレードI（A）GvHDは軽度の疾病、グレードII（B）GvHDは中等度、グレードIII（C）は重度、グレードIV（D）は生命を脅かすものと見なす。IBMT Rグレーディングシステムでは、急性GvHDの重症度を次のように定義している（Rowlings et al., Br J Haematol 1997; 97: 855）:

グレードA - 肝臓や胃腸の病変がなく、ステージ1の皮膚病変のみ（体の<25%の斑状丘疹状皮疹）

グレードB - ステージ2の皮膚病変、ステージ1から2の腸または肝臓の病変

グレードC - 任意の臓器系のステージ3の病変（全身性紅皮症、ビリルビン6.1~15.0mg/dL、下痢1500~2000mL/日）

グレードD - 任意の臓器系のステージ4の病変（水疱の形成を伴う全身性紅皮症、ビリルビン>15mg/dL、下痢>2000mL/日または疼痛またはイレウス）。

Schoemans et al., Bone Marrow Transplantation volume 53, pages 1401 - 1415 (2018) の表1及び表2も参照のこと。また、これは急性GvHDを評価及びグレーディングするための基準も開示している。

#### 【0142】

いくつかの実施形態において、T細胞、またはT細胞を含む医薬組成物は、同種異系宿主に投与された、対照T細胞または対照T細胞を含む対照医薬組成物により示された移植片対宿主応答と比較して、同種異系宿主に導入された場合、移植片対宿主応答の減少または実質的な減少を示す。場合によっては、対照T細胞は、同種異系の遺伝子操作していない対照T細胞である。場合によっては、対照T細胞は、CARを含まない、または参照T細胞と同じCARを含まない。

#### 【0143】

本明細書に記載のT細胞は、1、2、3もしくは4T細胞、またはそれらの組み合わせであり得る。場合によっては、T細胞は、ほとんど(>50%)、実質的に(>90%)、本質的に全て、または完全に2T細胞である。場合によっては、T細胞は、ほとんど(>50%)、実質的に(>90%)、本質的に全て、または完全に1T細胞である。

#### 【0144】

T細胞は、同種異系または自己由来ドナーから入手可能である。T細胞は、ex vivoで、部分的または完全に精製または精製されないかつ増幅され得る。ex vivoで増幅するための方法及び組成物には、WO2017/197347に記載されているものが含まれるが、これに限定されない。増幅は、CARコンストラクトがT細胞（複数可）に導入される前もしくは後、または前後に実施され得る。

#### 【0145】

本明細書に記載のT細胞は、養子細胞移植で用いるために、例えば、凍結保存して保存され得る。

#### 【0146】

腫瘍細胞を阻害または殺傷する方法

血液腫瘍細胞に対して細胞毒性活性を有する、1種もしくは複数種の遺伝子操作していないT細胞集団、遺伝子操作したT細胞集団及び/またはそれらの混合物を、任意の順序でまたは同時に対象に投与し得る。同時に投与される場合、本発明の複数の遺伝子操作していないT細胞集団、遺伝子操作したT細胞集団及び/またはそれらの混合物は、静脈内注射などの単一の統一された形態で、または複数の静脈内注入、皮下注射または錠剤などの複数の形態で提供され得る。本発明の遺伝子操作していないT細胞

10

20

30

40

50

胞集団、遺伝子操作された T細胞集団及び/またはそれらの混合物は、単一のパッケージまたは複数のパッケージと一緒にまたは別々に包装され得る。本発明の遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作された T細胞集団及び/またはそれらの混合物の1つまたはその全ては、複数の用量で与えられ得る。同時に投与されない場合、複数の投与間のタイミングは、約1週間、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、または約1年まで変化し得る。場合によっては、本発明の遺伝子操作していない濃縮された T細胞集団、遺伝子操作した濃縮された T細胞集団及び/またはそれらの混合物は、対象への投与後に *in vivo* で、対象の体内で増殖し得る。1種または複数種の遺伝子操作していない T細胞集団、1種または複数種の遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物を凍結して、同じ細胞調製物での複数の処置をするための細胞を提供することが可能である。本開示の1種または複数種の遺伝子操作していない T細胞集団、1種または複数種の遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物ならびにそれを含む医薬組成物は、キットとして包装され得る。キットは、遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物ならびにそれを含む組成物の使用に関する指示（書面による指示など）を含み得る。

#### 【0147】

場合によっては、血液癌を治療する方法は、遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物の治療上有効な量を対象に投与することを含み、そこにおいて、投与することで、血液癌を治療する。いくつかの実施形態において、遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物の治療上有効な量は、少なくとも約10秒、30秒、1分、10分、30分、1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、6時間、12時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、1週間、2週間、3週間、1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、または1年投与される。いくつかの実施形態において、遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物の治療上有効な量は、少なくとも1週間投与される。いくつかの実施形態において、遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物の治療上有効な量は、少なくとも2週間投与される。

#### 【0148】

本明細書に記載の遺伝子操作していない T細胞集団、遺伝子操作した T細胞集団及び/またはそれらの混合物は、疾病もしくは症状の発生前、発生中もしくは発生後に投与することが可能であり、 T細胞集団を含む医薬組成物を投与するタイミングは変化し得る。例えば、 T細胞集団は、予防薬として用いることが可能であり、疾病もしくは症状が発生する可能性を低減するために、症状または疾病の傾向が見られる対象に連続的に投与することが可能である。初回投与は、本明細書に記載の任意の製剤を用いる本明細書に記載の任意の経路によるなどの実用的な任意の経路を介して行われ得る。いくらかの実施例において、本開示の T細胞集団の投与は、静脈内投与である。 T細胞集団の1回または複数回の投与量は、血液癌の発症後、実行可能になり次第すぐと、例えば、約24時間から約48時間、約48時間から約1週間、約1週間から約2週間、約2週間から約1か月、約1か月から約3か月の免疫病を治療するために必要な時間の間投与され得る。いくつかの実施形態において、 T細胞集団の1回または複数回の投与量は、がんの発症後と、他の治療の前後とに何年も投与され得る。

#### 【0149】

いくつかの実施形態において、 T細胞集団は、一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法で同時にまたは連続して投与される。本明細書で使用される「一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）を上昇させる1つまたは複数の方法」は、少なくとも1つの一般的なガンマ鎖サイトカインのレベルが対象において上昇するように、対象の生理的状态を変化させる方法または方法の組み合わせを指す。いくつかの実施形態において、この方法は、IL-2、IL-7及びIL-15からなる群から選択される1種以上の一般的なガンマ鎖サイトカイン（複数可）のレベルを上昇させ、好

10

20

30

40

50

ましくは、そこにおいて、この方法は対象におけるIL-15のレベルを上昇させる。いくつかの実施形態において、この方法はリンパ球の枯渇化を含む。いくつかの実施形態において、この方法は、対象に1種または複数種の一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)を投与することを含む。場合によっては、IL-2、IL-7及び/またはIL-15、好ましくはIL-15が投与される。いくつかの実施形態において、この方法は、投与されたT細胞などから、一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)を分泌することを含む。場合によっては、IL-2、IL-7及び/またはIL-15、好ましくはIL-15が分泌される。

#### 【0150】

いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)を上昇させる1つまたは複数の投与方法は、T細胞(複数可)を導入する前のリンパ球の枯渇化を含む。いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)を上昇させる1つまたは複数の投与方法は、T細胞(複数可)の導入と同時に、または一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)の有効量を連続して投与することで、その導入したT細胞(複数可)の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはその組み合わせを増大させることを含み、好ましくは、そこにおいてこの方法は、IL-2またはその1種もしくは複数種のみメティックを投与することを含み、より好ましくは、そこにおいてこの方法は、IL-15またはその1種もしくは複数種のみメティックを投与することを含む。一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)の投与量は、T細胞(複数可)を導入する前及び/または導入後に、導入したT細胞(複数可)の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはその組み合わせを増大し得る。IL-15の模範的な量には、IL-15に対して24時間ごとに0.01~10µg/kg/用量の間が含まれるがこれに限定されない。IL-2の模範的な量には、8~48時間ごとに約 $3 \times 10^6$ と約 $2.2 \times 10^6$ ユニットが含まれるが、これらに限定されない。例えば、RCCでのIL2の投薬計画は、最大14回の投与で15分間にわたって注入される600,000国際単位/kg(0.037mg/kg)静注、8時間おきである。

#### 【0151】

いくつかの実施形態において、一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)を上昇させる1つまたは複数の投与方法は、T細胞(複数可)の投与前と、T細胞(複数可)の導入との同時の投与前と、またはその導入したT細胞(複数可)の増殖、細胞毒性活性、持続性、またはそれらの組み合わせを増大させるために有効な一般的なガンマ鎖サイトカイン(複数可)の連続した投与前とのリンパ球の枯渇化を含む。

#### 【実施例】

#### 【0152】

##### 実施例1

$1 \times 10^6$ /mLのヒトPBMCを、24ウェルプレート(Costar)に、IL-2(100U/mL)存在下で5日間、プレコートした抗V<sub>1</sub>抗体D1-08またはD1-35上に、改変細胞の培養培地で活性化させた(WO2017/197347を参照のこと)。5日目に、レトロネクチン存在下で、キメラ抗原受容体(2B7-5.1、配列番号11と、3B9-5.1、配列番号9と、3H7-5.1、配列番号10と、9C11-5.1、配列番号12)をコードするレトロウイルスコンストラクトとともに、細胞培養物に形質導入した。6日目に、細胞を改変細胞の培養培地に戻し、必要に応じてフィーディング及びIL-2の補充によりさらに増殖させた。17、18、または19日目に細胞を回収し、AutoMACS(登録商標)キット(Miltenyi Biotec)を用いて、残存するT細胞を枯渇させた。細胞集団の純度と形質導入効率を、FACSにより評価した。並行して、形質導入していない細胞培養物を、レトロウイルスの上清を添加することなく、同じ方法で増殖させた。図3に示す通り、複数のドナーから得た形質導入していない増殖したV<sub>1</sub>細胞は、同種異系のドナーの正常なB細胞に対して細胞毒性を示していない。CD20CARをV<sub>1</sub>細胞に導入すると、正常なB細胞に対してこれらの細胞に強力な細胞毒性が付与された。細胞毒性は、4時間のアッセ

イでフローサイトメトリーにより、%アネキシンV + 細胞として測定した。

【0153】

実施例2

V1細胞は、上述と同じ方法で活性化、形質導入及び増殖させた。3H7 CARコンストラクト、配列番号10は、2つのCD20 + 細胞株である、Dauidi及びRajjiに対する細胞毒性を実証するために用いた。図4に示す通り、CARを導入することで、遺伝子操作していないV1細胞の生来の細胞毒性が増した。

【0154】

実施例3

V1細胞は、上記と同じ方法で活性化、形質導入及び増殖させた。4つの異なるコンストラクト(配列番号9、10、11、12)を、増殖中にV1細胞に導入し、Rajji-Luc細胞に対して試験した。細胞毒性は、様々なE/T比で18時間共培養した後に、発光基質D-ルシフェリン(Perkin Elmer)を添加後、全発光測定により測定した。FIG.5に示す通り、本明細書に記載の4-1BB共刺激エンドドメインを含む抗CD20 CAR細胞は、Rajji細胞に対して強力な細胞傷害活性を示した。

10

【0155】

実施例4

CARコンストラクトは、いくつかの異なるドメイン及びCD20結合ドメイン(3H7-CD3z、配列番号20と、3H7-5.1、配列番号10と、3H7-CD27z、配列番号8)で作製した。上記の通り、CARコンストラクトを導入し、前の実施例で説明したように、細胞毒性をRajji-Luc細胞に対して試験した(様々なE/T比における18時間の細胞毒性)。図6は、様々なシグナル伝達及び/または共刺激エンドドメイン(複数可)を有するRajji細胞に対して強力な細胞傷害活性を示す。

20

【0156】

実施例5

様々なCARコンストラクトを、増殖したV1細胞に導入し、Incucyte(登録商標)の機器を用いて、標的細胞の再投与による長期の細胞毒性アッセイ(シリアルキリング)で試験した。手短かに言えば、Rajji細胞をNucRed試薬で標識し、細胞の全蛍光を経時的に記録した。任意のサイトカインを添加せずに、細胞は、増殖培地中でE/T比3で72時間共培養させた。72時間経過後、培養物を別の用量のRajji細胞で再投与し、死滅についてモニタした。この手順は、Rajji細胞が除去された培養物で144時間まで繰り返した。図7で、3H7-ICOSzは、4-1BB共刺激エンドドメインがICOSエンドドメイン(WLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMRVNTAKKSRLTDVTL(配列番号354))に置き換えられたコンストラクトである。

30

【0157】

実施例6

Rajji細胞をNSGマウス(Jackson Labs)に皮下移植した。腫瘍が約100mm<sup>3</sup>のサイズに達したら、動物をin vivoで様々な共刺激共刺激エンドドメイン(「co-stim」または「costim」)の有効性を比較するために、5 × 10<sup>6</sup> V1CD20 CAR + 細胞で処置した。動物には、試験が終わるまで週に3回、IL-2(6000U/用量)を同時に投与した。図8に示す通り、試験したコンストラクトは、NSGマウスの血液腫瘍を治療する際に強力なin vivo有効性を示した。理論に束縛されるものではないが、3H7-5.1、3H7-CD3z及び3H7-CD27zの最適化されたCARコンストラクトは、最適化されていないCARコンストラクトと比較して、in vivoの腫瘍制御、増殖、活性化、持続性及び/または細胞毒性が優れていると仮定される。

40

【0158】

実施例7

Rajji細胞をNSGマウス(Jackson Labs)に皮下移植した。腫瘍が約100mm<sup>3</sup>に達したら、動物をCellTrace Violetで予め標識した5 ×

50

10<sup>6</sup> V 1CD20CAR+細胞で処置した。2日目と6日目に、腫瘍及び他の様々な臓器を抽出、消化し、得られた細胞懸濁液を(A) T細胞及びRaji細胞の存在(図9)ならびに(B) CellTrace Violet色素希釈により証明される細胞の増殖(図10)について分析した。動物には、6日目まで週に3回、同時にIL-2(60000U/用量)を投与した。図9に示す通り、導入された T細胞は、腫瘍内環境で強力に増加し、2日目から6日目まで T細胞に対する腫瘍細胞の比率の有意な減少を促進した。図10に示す通り、 T細胞は強力かつ優先的に腫瘍内空間で増殖した。

## 【0159】

## 実施例8

NSGマウスには、Raji-Luc細胞(0.5ml/動物)を接種した。4日目に、動物を8.7×10<sup>6</sup> V 1CAR+細胞(配列番号10)または同じコンストラクトで形質導入した6.8×10<sup>5</sup> T細胞で処置した。動物の生存について、140日間にわたってモニタした。全ての動物には、0日目、1日目及び2日目にIL-2の3回投与(60000/動物)を投与した(図11)。図11に示す通り、本明細書に記載の T細胞の投与によって、血液癌を有する対象の生存時間が増大した。

## 【0160】

## 実施例9

ヒトIL-15を発現するSRG-15マウス(Herndler-Brandstetter et al., PNAS, 2017)にRaji-Luc細胞(0.5×10<sup>6</sup>/動物)を接種した。4日目に、動物を20.2×10<sup>6</sup>のV 1CAR+細胞(配列番号10)または同じコンストラクトで形質導入した1.9×10<sup>6</sup> T細胞で処置した。動物の生存について、70日間にわたってモニタした。(図12)。図12に示す通り、導入した T細胞は、GvHD応答を誘発しなかった。対照的に、導入した T細胞はGvHD応答を誘発した。

## 【0161】

## 実施例10

NSGマウスの右後腹部にRaji細胞(1×10<sup>6</sup>/動物)を皮下接種した。腫瘍体積が、約100mm<sup>3</sup>に達したら、マウスを無作為化して、CD20CARまたは、CARCD20及び可溶性IL-15をコードする5×10<sup>6</sup> V 1CAR T細胞で処置した。動物には、試験が終わるまで、IL-2(60000U/用量、Peprotech、週3回)を同時に投与した。62日目に、測定可能な腫瘍がなかったCD20+sIL15CAR T群の4匹の動物に、反対(左)の腹部に1×10<sup>6</sup>のRaji細胞を皮下に再投与した。動物の対照群も腫瘍の増殖動態を実証するために含めた。結果を図14に示す。図14に示す通り、異種性である可溶性IL-15をコードする核酸コンストラクトを有する CAR-T細胞を投与することで、60日を超えて(例えば、60から110日)続く持続的な抗腫瘍効果がもたらされた。

## 【0162】

## 実施例11

IL-2(100U/ml)存在下で5日間抗V 1抗体D1-08またはD1-35でプレコートした24ウェルプレート(Costar)で、成長培地中の1×10<sup>6</sup>/mlのヒトPBMCを活性化させた。5日目に、細胞培養物は、レトロネクチンの存在下で、BCMAキメラ抗原受容体(配列番号35~38)をコードする -レトロウイルスコンストラクトで形質導入された。6日目に、細胞を成長培地に戻し、必要に応じてフィーディング及びIL-2の補充によりさらに増殖させた。17、18、または19日目に細胞を回収し、AutoMACS(登録商標)キット(Miltenyi Biotec)を用いて、残存する T細胞を枯渇させた。細胞集団の純度と形質導入効率を、FACSにより評価した(図15)。手短かに言えば、CAR-T細胞は、1µg/mlの可溶性遺伝子組換えピオチン化BCMA(Acro Biosystems)で細胞をインキュベートすることにより染色した。結合の検出は、ストレプトアビジン-BV421を

10

20

30

40

50

製造元が推奨する1:500の希釈率で用いて実施した。並行して、形質導入していない細胞培養物を、レトロウイルスの上清を添加することなく、同じ方法で増殖させた。増殖した細胞を、BCMA陽性細胞株の*in vitro*細胞毒性アッセイで試験した。図16及び図17に示す通り、形質導入していない増殖V1細胞は、BCMAを様々な程度で発現することが知られている、多発性骨髄腫及びパーキットリンパ腫細胞株に対してある程度の細胞毒性を誘発した。この細胞毒性は、BCMA CARコンストラクトを導入することにより強化された。細胞毒性は、示したE/T比で18時間共培養した後に、発光基質D-ルシフェリン(Perkin Elmer)を添加後、96ウェルプレートで全発光測定により測定した。BCMA陰性SCABER細胞株を対照として用いた。

【0163】

#### 実施例12

NCI-H929多発性骨髄腫細胞( $1 \times 10^6$ /動物)を、NSGマウス(Jackson Labs)に皮下移植した。腫瘍が約 $200 \text{ mm}^3$ のサイズに達したら、動物を16716P及び16747P scFv由来のCARコンストラクトを*in vivo*での有効性を比較するために、 $5 \times 10^6$  V1 BCMA CAR+細胞で処置した。動物には、試験が終わるまで週に3回、IL-2(13000 IU/用量、Proleukin(登録商標))を同時に投与した。結果を図18に示す。図19に示す通り、抗BCMA CAR+細胞は、強力な*in vivo*腫瘍負荷制御を示した。

【0164】

前述は本発明の原理を単に例示したものに過ぎない。当業者であれば、本明細書では明示的に説明または図示していないが、本発明の原理を具体化し、その趣旨及び範囲内に含まれる様々な構成を考案することが可能であろうことが理解されよう。さらに、本明細書中に列挙した全ての実施例及び条件付き言語は、主に、本発明の原理及び本技術を促進するために本発明者らが寄与する概念への読者の理解を支援することを意図したものであり、そのような具体的に列挙した実施例及び条件に限定されるものではないと解釈すべきである。さらに、本発明の原理、態様及びそれらの特定の実施例を列挙する本明細書中の全ての記述は、その構造的等価物と機能的等価物の両方を包含することを意図している。さらに、そのような均等物は、現在公知の等価物及び将来開発される等価物の両方、すなわち構造にかかわらず同じ機能を発揮するように開発された任意の要素を含むことが意図されている。したがって、本発明の範囲は、本明細書に示し、記載した模範的な態様に限定されることを意図されてはいない。むしろ、本発明の範囲及び趣旨は、添付の特許請求の範囲により具体化される。

10

20

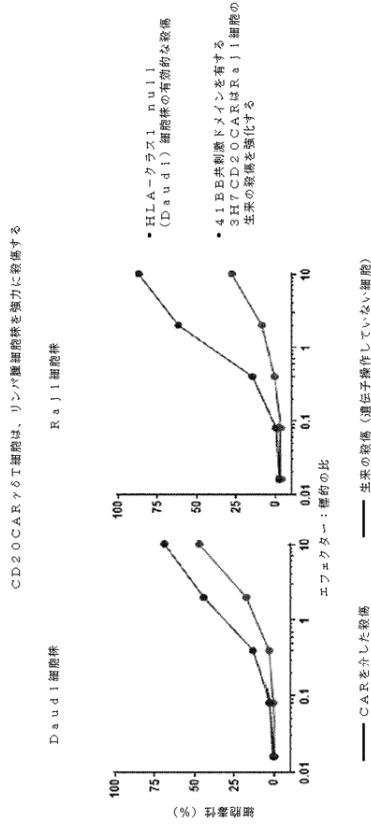
30

40

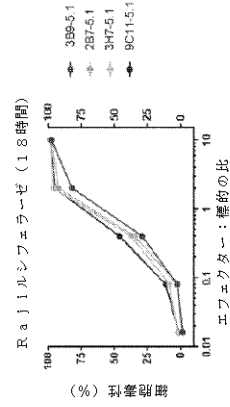
50



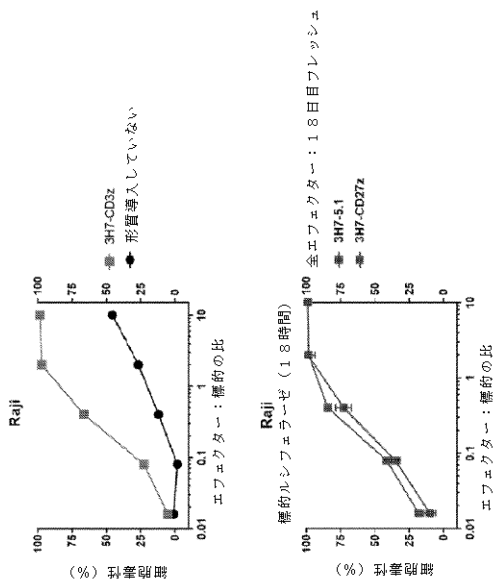
【 図 4 】



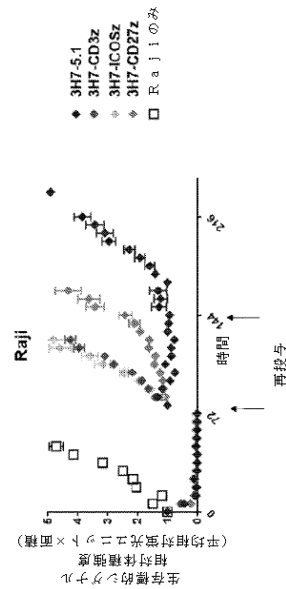
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



10

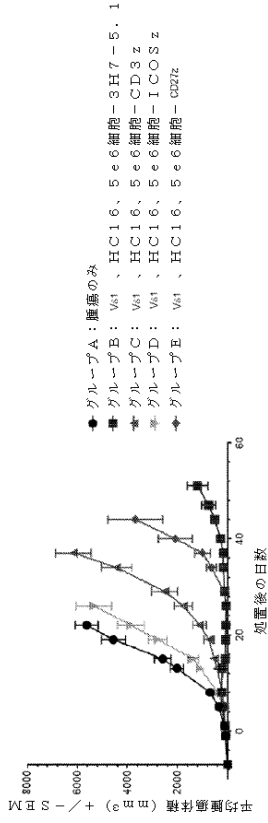
20

30

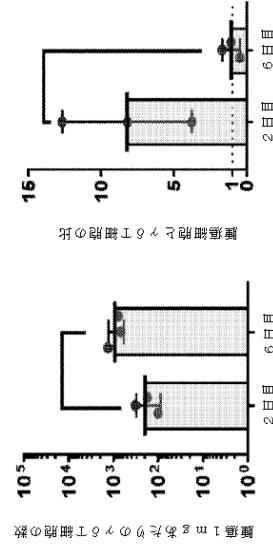
40

50

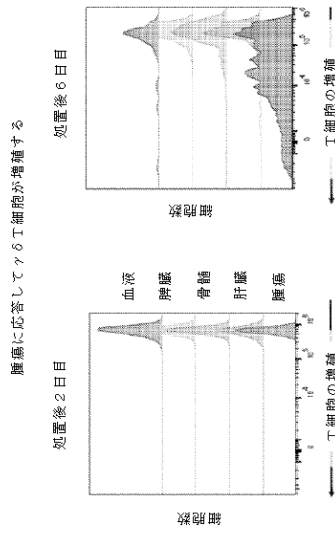
【 図 8 】



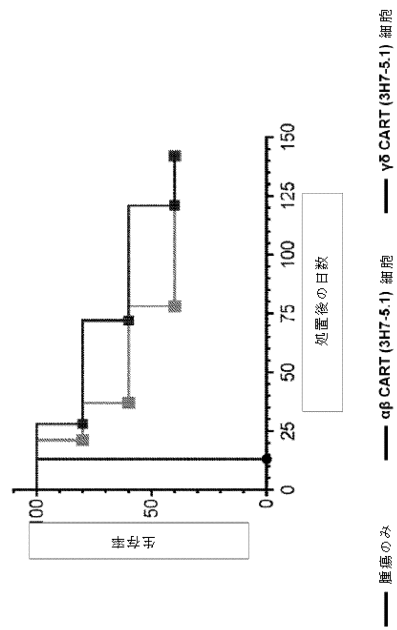
【 図 9 】



【 図 10 】



【 図 11 】



10

20

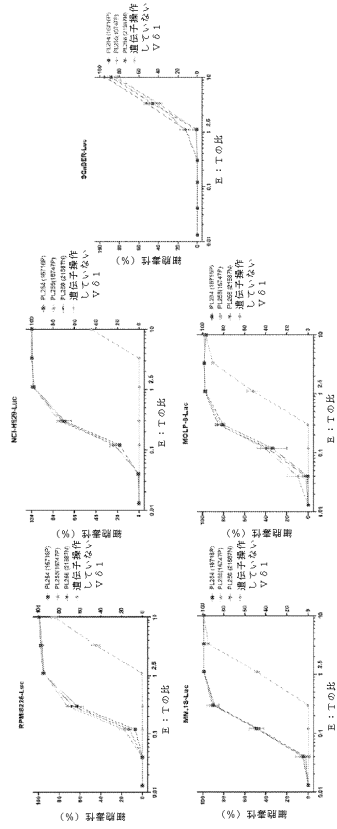
30

40

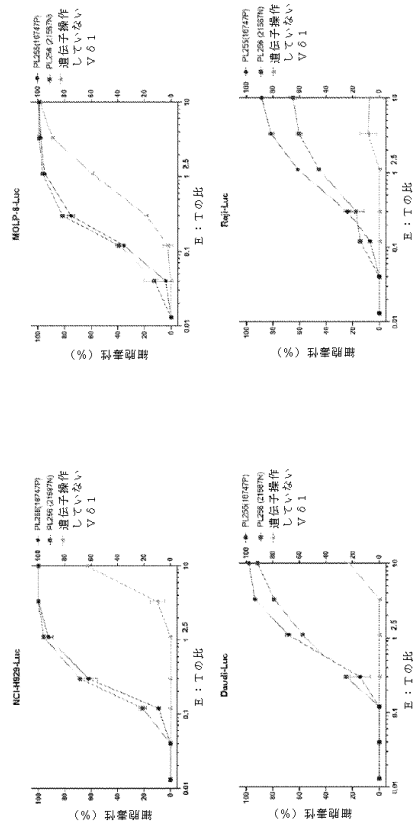
50



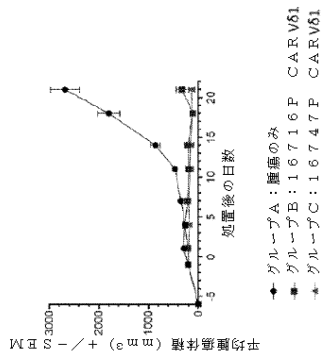
【図 16】



【図 17】



【図 18】



【配列表】

0007687952000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/867 (2006.01)	C 1 2 N	15/867	Z
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/24 (2006.01)	C 1 2 N	15/24	
A 6 1 K	35/17 (2025.01)	A 6 1 K	35/17	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5 , メンロー パーク , コンスティテューション ド  
ライブ 2 0 0 , シー/オー アディセット バイオ , インコーポレイテッド

## (72)発明者

ロメロ , ジェーソン マイケル

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5 , メンロー パーク , コンスティテューション ド  
ライブ 2 0 0 , シー/オー アディセット バイオ , インコーポレイテッド

## (72)発明者

ジン , イフォン フランク

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5 , メンロー パーク , コンスティテューション ド  
ライブ 2 0 0 , シー/オー アディセット バイオ , インコーポレイテッド

## (72)発明者

アン , ジリ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5 , メンロー パーク , コンスティテューション ド  
ライブ 2 0 0 , シー/オー アディセット バイオ , インコーポレイテッド

## (72)発明者

ヤコボヴィッツ , アヤ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 2 5 , メンロー パーク , コンスティテューション ド  
ライブ 2 0 0 , シー/オー アディセット バイオ , インコーポレイテッド

審査官 北村 悠美子

## (56)参考文献

特表 2 0 1 8 - 5 1 2 1 6 1 ( J P , A )  
国際公開第 2 0 1 7 / 1 9 7 3 4 7 ( W O , A 1 )  
中国特許出願公開第 1 0 4 0 8 7 6 0 7 ( C N , A )  
特表 2 0 1 0 - 5 3 5 0 3 3 ( J P , A )  
国際公開第 2 0 1 8 / 0 8 5 6 9 0 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 1 8 / 0 8 7 5 5 7 ( W O , A 1 )  
国際公開第 2 0 1 8 / 0 9 8 3 6 5 ( W O , A 2 )  
BLOOD , 2010年 , Vol.115, No.17, pp.3508-3519

## (58)調査した分野

(Int.Cl. , D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0  
C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0  
C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )  
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )  
U n i P r o t / G e n e S e q