

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-529467

(P2024-529467A)

(43)公表日 令和6年8月6日(2024.8.6)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
C 0 7 K	14/725 (2006.01)	C 0 7 K	14/725	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	14/73 (2006.01)	C 0 7 K	14/73		4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	C 1 2 N	15/12		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全121頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-505122(P2024-505122)	(71)出願人	506258073
(86)(22)出願日	令和4年7月27日(2022.7.27)		イマティクス バイオテクノロジーズ ゲーエムペーハー
(85)翻訳文提出日	令和6年3月25日(2024.3.25)		ドイツ, 7 2 0 7 6 テュービンゲン, パウル-エンリヒ-シュトラッセ 1 5
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/071104	(74)代理人	100145403
(87)国際公開番号	WO2023/006828		弁理士 山尾 憲人
(87)国際公開日	令和5年2月2日(2023.2.2)	(74)代理人	100122301
(31)優先権主張番号	21188018.2		弁理士 富田 憲史
(32)優先日	令和3年7月27日(2021.7.27)	(74)代理人	100170520
(33)優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁(EP)		弁理士 笹倉 真奈美
(31)優先権主張番号	63/203,582	(74)代理人	100221545
(32)優先日	令和3年7月27日(2021.7.27)		弁理士 白江 雄介
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	ユセフ, ザーラ
(31)優先権主張番号	63/335,399		ドイツ7 2 0 7 6 テュービンゲン, パウ
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 C T 4 5 に特異的に結合する抗原結合タンパク質

(57)【要約】

本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているC T 4 5 抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、C T 4 5 抗原ペプチドは、配列番号1 3 8 のアミノ酸配列(K I F E M L E G V)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域C D R a 1、C D R a 2 およびC D R a 3 を含む可変ドメインV A を含む第1のポリペプチドと、C D R b 1、C D R b 2 およびC D R b 3 を含む可変ドメインV B を含む第2のポリペプチドとを含む抗原結合タンパク質を提供する。抗原結合タンパク質をコードする核酸、核酸を含むベクター、抗原結合タンパク質を発現する組換え細胞および抗原結合タンパク質を含む医薬組成物もまた提供される。本発明はさらに、医薬での使用のための抗原結合タンパク質および抗原結合タンパク質を製造する方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

主要組織適合複合体（MHC）タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、前記CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列（KIFEMLEGV）を含むか、またはからなり、かつ前記抗原結合タンパク質は、相補性決定領域（CDR）CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、

1) CDRa1は、配列番号14のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号16のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号19のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号21のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

10

2) CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号133のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号136のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

3) CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号63のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号68のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

20

4) CDRa1は、配列番号90のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号92のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号96のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

5) CDRa1は、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号4のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号8のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号10のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

6) CDRa1は、配列番号53のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号55のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号58のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号60のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

30

7) CDRa1は、配列番号71のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号72のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号77のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

8) CDRa1は、配列番号99のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号101のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号104のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

40

9) CDRa1は、配列番号80のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号82のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号85のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号87のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

10) CDRa1は、配列番号107のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号109のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号112のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号114のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

11) CDRa1は、配列番号125のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号127のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は

50

、配列番号 112 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 130 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

12) CDR a 1 は、配列番号 117 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 119 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 58 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 122 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

13) CDR a 1 は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 35 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 38 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 40 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

14) CDR a 1 は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 26 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

15) CDR a 1 は、配列番号 43 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 48 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

前記抗原結合タンパク質は、1、2 または 3 個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 CDR a 1、CDR a 3、CDR b 1 および CDR b 3 配列を含み、CDR a 1、CDR a 3、CDR b 1 および / または CDR b 3 のそれぞれは、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質。

【請求項 2】

1) CDR a 2 は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 20 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり

2) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

3) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 67 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

4) CDR a 2 は、配列番号 91 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 95 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

5) CDR a 2 は、配列番号 3 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

6) CDR a 2 は、配列番号 54 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

7) CDR a 2 は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

8) CDR a 2 は、配列番号 100 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

9) CDR a 2 は、配列番号 81 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 86 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

10) CDR a 2 は、配列番号 108 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

11) CDR a 2 は、配列番号 126 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

12) CDR a 2 は、配列番号 118 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

13) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

10

20

30

40

50

14) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

15) CDR a 2 は、配列番号 44 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 49 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

前記抗原結合タンパク質は、1、2、3 または 4 個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 CDR a 2 および CDR b 2 配列を含み、CDR a 2 および / または CDR b 2 のそれぞれは、1、2、3 または 4 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、請求項 1 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 3】

前記抗原結合タンパク質は、TCR であり、好ましくは、前記 TCR は、 / TCR、 / TCR、一本鎖 TCR、膜結合型 TCR、可溶性 TCR、一価、二価または多価 TCR、単一特異性、二重特異性または多重特異性 TCR、TCR の機能的断片、および TCR の機能的断片を含む融合タンパク質またはキメラタンパク質からなる群から選択され、より好ましくは、前記 TCR は、 / TCR または / TCR、最も好ましくは / TCR である、請求項 1 または 2 に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 4】

V_A は、配列番号 13、132、62、89、1、52、70、98、79、106、124、116、34、23、および 42 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 13、132、62、89、1、52、70、98、79、106、124、116、34、23、および 42 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有し、かつ請求項 1 もしくは 2 に記載の CDR a 1、CDR a 2 および CDR a 3 を含むアミノ酸配列を含むか、またははからなり；かつ V_B は、配列番号 18、135、65、94、7、57、74、103、84、111、129、121、37、28 および 47 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 18、135、65、94、7、57、74、103、84、111、129、121、37、28 および 47 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有し、かつ請求項 1 もしくは 2 に記載の CDR b 1、CDR b 2 および CDR b 3 を含むアミノ酸配列を含むか、またははからなり、前記 CDR a 1、CDR a 2、CDR a 3、CDR b 1、CDR b 2 および / または CDR b 3 配列は、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異、好ましくはアミノ酸置換を含んでもよい、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 5】

前記抗原結合タンパク質は、定常ドメインをさらに含み、前記定常ドメインは、配列番号 5、750、751、156、11、32 および 157 からなる群から選択される、好ましくは配列番号 5、750、751、11 および 32 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 5、750、751、156、11、32 もしくは 157 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またははからなる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 6】

前記第 1 のポリペプチドは、配列番号 17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46 および 158 ~ 172 からなる群から選択される、好ましくは配列番号 17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27 および 46 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46、もしくは 158 ~ 172 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またははからなり、かつ前記第 2 のポリペプチドは、配列番号 22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33、51 および 173 ~ 187 からなる群から選択される、好ましくは

配列番号 2 2、1 3 7、6 9、9 7、1 2、6 1、7 8 1 0 5、8 8、1 1 5、1 3 1、1 2 3、4 1、3 3 および 5 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 2 2、1 3 7、6 9、9 7、1 2、6 1、7 8 1 0 5、8 8、1 1 5、1 3 1、1 2 3、4 1、3 3、5 1 もしくは 1 7 3 ~ 1 8 7 に対して少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % もしくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

【請求項 7】

前記抗原結合タンパク質は、配列番号 1 4 6 (S P - 0 5 - 0 0 0 1)、配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 4 8 (S P - 0 5 - 0 0 0 3)、配列番号 1 4 9 (S P - 0 5 - 0 0 0 4)、配列番号 1 5 0 (S P - 0 5 - 0 0 0 5)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0 8)、配列番号 1 5 4 (S P - 0 5 - 0 0 0 9) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群、好ましくは配列番号 1 4 6 (S P - 0 5 - 0 0 0 1)、配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 4 8 (S P - 0 5 - 0 0 0 3)、配列番号 1 5 0 (S P - 0 5 - 0 0 0 5)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0 8)、配列番号 1 5 4 (S P - 0 5 - 0 0 0 9) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群、より好ましくは配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群から選択される少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5 個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

10

20

【請求項 8】

前記抗原結合タンパク質は、

- C D 4 + T 細胞、特に C D 4 + C D 8 - T 細胞、および / または
- C D 8 + T 細胞、特に C D 8 + C D 4 - T 細胞

を活性化可能であり、

かつ前記抗原結合タンパク質は、好ましくは T C R、より好ましくは / T C R または / T C R である、

請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質。

30

【請求項 9】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質をコードする配列を含む核酸。

【請求項 1 0】

請求項 9 に記載の核酸を含むベクター。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、または請求項 9 に記載の核酸、または請求項 1 0 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 9 に記載の核酸、請求項 1 0 に記載のベクター、または請求項 1 1 に記載の宿主細胞と、適宜、医薬的に許容される担体とを含む医薬組成物。

40

【請求項 1 3】

医薬での使用のための、好ましくは増殖性疾患、特にがんの処置および / または診断方法での使用のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質、請求項 9 に記載の核酸、請求項 1 0 に記載のベクター、請求項 1 1 に記載の宿主細胞、または請求項 1 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 4】

生物学的サンプル中のがん、特に C T 4 5 を発現するがんを検出するインビトロの方法であって、

50

a) 前記生物学的サンプルを請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質と接触させること、および

b) 前記生物学的サンプルへの前記抗原結合タンパク質の結合を検出することを含む方法。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗原結合タンパク質を製造する方法であって、

a) 宿主細胞を準備すること、

b) 請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の抗原結合タンパク質をコードする核酸を含む遺伝子コンストラクトを準備すること、

c) 前記遺伝子コンストラクトを前記宿主細胞に導入すること、および

10

d) 前記宿主細胞により前記遺伝子コンストラクトを発現させること

を含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、CT45タンパク質由来抗原に対する抗原結合タンパク質、特に、MHCとの複合体中の腫瘍発現CT45-IP抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質に関する。抗原結合タンパク質は、CT45発現増殖性疾患の診断、処置および予防の使用のために提供される。抗原結合タンパク質をコードする核酸、核酸を含むベクター、抗原結合タンパク質を発現する組換え細胞および抗原結合タンパク質を含む医薬組成物がさらに提供される。

20

【背景技術】

【0002】

T細胞ベース免疫療法は、主要組織適合複合体(MHC)の分子により提示される、腫瘍関連または腫瘍特異的タンパク質に由来するペプチドエピトープを標的とする。これらの腫瘍関連抗原(TAA)は、がん細胞により特異的に発現される、かつ/またはがん細胞において上方調節される、全てのタンパク質クラス、例えば酵素、受容体、転写因子等に由来するペプチドであり得る。細胞表面タンパク質のみを標的とすることができるCAR-T療法および現行の抗体ベースアプローチとは異なり、T細胞ベース免疫療法は、さもなければアクセス不可能な細胞内タンパク質の標的化を可能にし、そのため標的の数および多様性を大きく増加させる。

30

【0003】

「がん精巣抗原45(CT45)」は、直接的なタンデムリピート中の9つのほぼ同一の遺伝子(典型的にはA1、A2、A3、A5、A6、A7、A8、A9およびA10と命名される)の多遺伝子ファミリーである。9つ全てのCT45遺伝子は、189アミノ酸の推定上のタンパク質をコードする。通常は精巣生殖細胞においてのみ発現されるCT45A1タンパク質は、肺がん、乳がんおよび卵巣がんにおいても発現されることが示された[Chen, Y. T. et al., *Int.J Cancer* 124 (2009): 2893-2898]。CT45A1はまた、多発性骨髄腫において不良な予後および不良なアウトカムと関連付けられることも示された[Andrade, V. C. et al., *Exp.Hematol.* 37 (2009): 446-449]。CT45A1は、上皮間葉転換(EMT)および転移遺伝子を上方調節して、EMTおよび腫瘍播種を促進する遺伝子として記載された。さらに、CT45A1は、がん幹細胞様細胞の開始または維持に関与して、腫瘍形成および悪性進行を促進するとして記載された[Yang, P. et al., *Curr.Pharm.Des* 21 (2015): 1292-1300]。乳がんモデルにおけるCT45A1過剰発現は、様々な発がんおよび転移遺伝子の上方調節、ERKおよびCREBシグナル伝達経路の構成的な活性化ならびに腫瘍形成、浸潤および転移の増加をもたらすことが示された。CT45A1のサイレンシングは、がん細胞遊走および浸潤を減少させることが示された。CT45A2は、デノボの二表現型急性白血病を有する小児患者において新規のスプライシングされたMLL融合パートナーであることが示されており、そのため白血病誘発に関連する可能性がある[Cerveira, N. et al., *BMC.Ca*

40

50

ncer 10 (2010): 518]。CT45は、がん細胞株および肺がん検体の両方において頻繁に発現されることが示された [Chen, L. et al., Cancer Res 65 (2005): 5599-5606]。CT45は、正常な成体組織において限られた発現を有するかまたは発現を有しないので、免疫療法介入のための魅力的な標的である。

【0004】

MHCとの複合体中の細胞内標的を特異的に認識する新たな抗がん剤の開発は、処置困難ながん、特に固形腫瘍を解明するための最も重要な鍵の1つである。そのため、がん細胞に高度に特異的な細胞内タンパク質を特異的に標的とする新たな抗がん剤を開発することが必要とされている。本発明は、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むCT45抗原ペプチドに特異的に結合する新規の抗原結合タンパク質、および増殖性疾患、特にがんの処置においてそのような分子を使用する方法を提供することによりその必要性に対処する。本発明の抗原結合タンパク質は、高い安定性、高い親和性、高い機能的なアビディティ、高い有効性および高い特異性によりキャラクター化される。CT45抗原ペプチドに結合する以前に記載された抗原結合タンパク質と比較して、本発明の抗原結合タンパク質は、増加した安定性、増加した親和性、増加した機能的なアビディティ、増加した有効性および/または増加した特異性の内の少なくとも1つを呈する。本発明の抗原結合タンパク質は、そのため、先行技術の抗原結合タンパク質よりも有効および安全の両方である。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

20

【0005】

【課題を解決するための手段】

【0006】

第1の態様では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、

30

CDRa1は、配列番号80のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号82のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号85のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号87のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

CDRa1は、配列番号71のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号72のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号77のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号63のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号68のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

40

CDRa1は、配列番号90のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号92のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号96のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

CDRa1は、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号4のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRb1は、配列番号8のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号10のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

50

C D R a 1 は、配列番号 5 3 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 5 5 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 6 0 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 1 3 3 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 7 5 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 1 3 6 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 9 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 1 0 1 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 7 5 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 1 0 4 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 2 1 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 1 0 7 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 1 0 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 1 1 4 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 1 2 5 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 1 2 7 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 1 1 2 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 1 3 0 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

C D R a 1 は、配列番号 1 1 7 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 1 1 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 5 8 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 1 2 2 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 3 5 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 3 8 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 4 0 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

C D R a 1 は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 2 6 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 2 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 3 1 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

C D R a 1 は、配列番号 4 3 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R a 3 は、配列番号 4 5 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、C D R b 1 は、配列番号 4 8 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 5 0 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

抗原結合タンパク質は、1、2 または 3 個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 C D R a 1、C D R a 3、C D R b 1 および C D R b 3 配列を含む、抗原結合タンパク質に関する。

【0007】

第 2 の態様では、本発明は、本発明の第 1 の態様の抗原結合タンパク質をコードする配列を含む核酸に関する。

【0008】

第 3 の態様では、本発明は、本発明の第 2 の態様の核酸を含むベクターに関する。

【0009】

第 4 の態様では、本発明は、本発明の第 1 の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第 2

10

20

30

40

50

の態様の核酸、または本発明の第3の態様のベクターを含む宿主細胞に関する。

【0010】

第5の態様では、本発明は、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第3の態様のベクターまたは本発明の第4の態様の宿主細胞と、適宜、医薬的に許容される担体とを含む医薬組成物に関する。

【0011】

第6の態様では、本発明は、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質を製造する方法であって、(a)宿主細胞を準備する工程、(b)本発明の第1の態様のいずれかの抗原結合タンパク質をコードするコード配列を含む遺伝子コンストラクトを準備する工程、(c)遺伝子コンストラクトを宿主細胞に導入する工程、および(d)宿主細胞により遺伝子コンストラクトを発現させる工程を含む方法に関する。

10

【0012】

第7の態様では、本発明は、医薬での使用のための、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第3の態様のベクター、本発明の第4の態様の宿主細胞、または本発明の第4の態様(the fourth aspect)の医薬組成物に関する。

【0013】

第8の態様では、本発明は、増殖性疾患の処置および/または診断方法での使用のための、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第3の態様のベクター、本発明の第4の態様の宿主細胞、または本発明の第4の態様の医薬組成物に関する。

20

【0014】

第9の態様では、本発明は、生物学的サンプル中のがんを検出するインビトロの方法であって、(a)生物学的サンプルを本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質と接触させる工程、および(b)生物学的サンプルへの抗原結合タンパク質の結合を検出する工程を含む方法に関する。

【0015】

定義

「CT45抗原ペプチド」は、CT45A1(Uniprotアクセッション番号Q5HYN5下でアクセス可能な配列番号749)、CT45A2、CT45A3、CT45A5、CT45A6、CT45A7、CT45A8、CT45A9およびCT45A10のアミノ酸143~151に対応するアミノ酸配列KIFEMLEGV(配列番号138)を含むか、またはからなる。このCT45抗原ペプチドはまた、本明細書では、「CT45ペプチド」または「CT45-IP」とも称される。CT45抗原ペプチドは、腫瘍関連または腫瘍特異的タンパク質に由来するペプチドエピトープであり、主要組織適合複合体(MHC)の分子、好ましくはMHC Iにより細胞表面上に提示される。より具体的には、CT45抗原ペプチドは、HLAタンパク質、好ましくはHLA-A、より好ましくはHLA-A*02との複合体にて細胞表面上に提示される。最も好ましい実施形態では、CT45抗原ペプチドは、アミノ酸配列KIFEMLEGV(配列番号138)からなる。CT45抗原ペプチドが、アミノ酸配列KIFEMLEGV(配列番号138)に加えてさらなるアミノ酸を含む場合には、CT45抗原ペプチドの全長は、好ましくは30または20個のアミノ酸を超えない、より好ましくは15個のアミノ酸を超えない、よりいっそう好ましくは12個のアミノ酸を超えない。CT45抗原ペプチドが、配列番号138に加えてさらなるアミノ酸を含む場合には、配列番号138のアミノ酸は、抗原ペプチドがMHCタンパク質との複合体中に存在する場合にMHCタンパク質のペプチド結合溝内に好ましくは位置する。当業者は、MHC I上に提示される抗原ペプチドは、通常、12個以下のアミノ酸であることを認識している。しかしながら、ペプチドがMHCタンパク質上に人工的にロードされる場合には、MHC I上に人工的にロードされた抗原ペプチドは12個のアミノ酸よりも長くてもよいことは妥当である。「抗原」または「標的抗原」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原結合部位の結合を受けるこ

30

40

50

とが可能である分子もしくは分子の部分または複合体を指し、前記抗原結合部位は、抗原結合タンパク質、好ましくは本発明の抗原結合タンパク質中に存在する。本発明に関連する抗原は、CT45抗原ペプチド、より具体的には、MHCタンパク質、例えばHLAタンパク質、例えばHLA-A*02との複合体中のCT45抗原ペプチドである。

【0016】

「CT45-IP:MHC複合体提示細胞」は、本明細書では、MHC分子との複合体中のCT45-IPをその表面上に提示する細胞を指す。好ましい実施形態では、CT45-IP:MHC複合体提示細胞は腫瘍細胞であり、腫瘍は、好ましくは、本明細書の下記の「治療方法および使用」セクションで定義されるがんである。本発明に関連して、CT45-IP:MHC複合体は、正常(健常)組織中の細胞(「健常細胞」とも称される)の表面上または異なる抗原提示ペプチドをロードされているかもしくはペプチドをロードされていないコントロール細胞の表面上の前記複合体のレベルと比較して、CT45-IP:MHC複合体提示細胞の細胞表面上に過剰提示される。「過剰提示される」は、CT45-IP:MHC複合体が、健常組織またはコントロール細胞において存在するレベルの少なくとも2倍、好ましくは5倍~10倍のレベルで存在することを意味する。

10

【0017】

「CT45-IP:MHC複合体提示細胞」の例は、本出願の実施例で使用されたCT45-IPロードT2細胞またはNCIH1703もしくはA375腫瘍細胞である。

【0018】

「ドメイン」は、タンパク質の任意の領域であり得、一般に、配列相同性に基づいて定義されており、特定の構造的なまたは機能的な実体を指していることが多い。

20

【0019】

本発明に関連する「免疫グロブリン(Ig)ドメイン」という用語は、Greekキートポロジー(Greek key topology)を有する2つのシート中に配置された7~9個の逆並行ストランドの2層サンドイッチからなるタンパク質ドメインを指す。Igドメインは、おそらく、天然に存在するタンパク質中で最も頻繁に使用される「構築ブロック」である。Igドメインを含むタンパク質は、免疫グロブリンスーパーファミリー(例えば、抗体、T細胞受容体(TCR)、および細胞接着分子を含む)に組み込まれる。Igドメインの例は、抗体およびTCRの可変ドメインおよび定常ドメインである。

30

【0020】

本発明に関連する「V_A」は、TCR由来CDR配列およびTCR由来フレームワーク配列を含むTCR可変ドメインを指す。CDRおよびフレームワーク配列は、TCR鎖(V_H)、鎖(V_H)、鎖(V_H)または鎖(V_H)の可変ドメイン、好ましくはV_Hに由来してもよい。本発明に関連するV_AドメインのCDRおよびフレームワーク配列は、必ずしも同じTCR鎖に由来する必要はない。いくつかの実施形態では、1つのTCR可変ドメイン(ドナーTCRのTCR可変ドメイン)に由来するCDRは、別のTCR可変ドメイン(アクセプターTCRのTCR可変ドメイン)上にグラフトされる。例えば、ドナーTCRは、TRAV5およびTRAJ17によりコードされるV_Hを含んでもよく、かつアクセプターTCRは、TRAV14およびTRAJ33によりコードされるV_Aを含んでもよい。ドナーTCRのCDR1、CDR3および適宜CDR2がアクセプターTCR上にグラフトされる場合、CDRは、異なるフレームワーク領域の状況において存在するが、CDRにより与えられる抗原ペプチドについての親和性および特異性は変化せず、即ち、グラフト後に、アクセプターTCRの可変ドメインは、ドナーTCRの可変ドメインと実質的に同じ、抗原ペプチドについての親和性および特異性を有する。

40

【0021】

本発明に関連する「V_B」は、TCR由来CDR配列およびTCR由来フレームワーク配列を含む可変ドメインを指す。CDRおよびフレームワーク配列は、TCR鎖(V_L)、鎖(V_L)、鎖(V_L)または鎖(V_L)の可変ドメイン、好ましくはV_Lに由来してもよい。本発明に関連するV_BドメインのCDRおよびフレームワーク配列は

50

、必ずしも同じTCRに由来する必要はない。いくつかの実施形態では、1つのTCR可変ドメイン(ドナーTCRのTCR可変ドメイン)に由来するCDRは、別のTCR可変ドメイン(アクセプターTCRのTCR可変ドメイン)上にグラフトされる。例えば、ドナーTCRは、TRBV2およびTRBJ2-1によりコードされるV_Vを含んでもよく、かつアクセプターTCRは、TRBV27およびTRBJ1-5によりコードされるV_Aを含んでもよい。ドナーTCRのCDR1、CDR3および適宜CDR2がアクセプターTCR上にグラフトされる場合、CDRは、異なるフレームワーク領域の状況において存在するが、CDRにより与えられる抗原ペプチドについての親和性および特異性は変化せず、即ち、グラフト後に、アクセプターTCRの可変ドメインは、ドナーTCRの可変ドメインと実質的に同じ、抗原ペプチドについての親和性および特異性を有する。

10

【0022】

CDRは、異なるアルファ可変ドメインまたは異なるベータ可変ドメインの間で交換/グラフトされてもよいだけでなく、TCRアルファ可変ドメインからTCRベータ、ガンマもしくはデルタ可変ドメインへ、またはTCRベータ可変ドメインからTCRアルファ、ガンマもしくはデルタ可変ドメインにグラフトされてもよい。

【0023】

本発明に関連するV_Lは、TCR鎖の可変ドメインを指す。

【0024】

本発明に関連するV_Hは、TCR鎖の可変ドメインを指す。

【0025】

本発明に関連するV_Lは、TCR鎖の可変ドメインを指す。

20

【0026】

本発明に関連するV_Hは、TCR鎖の可変ドメインを指す。

【0027】

本発明に関連するV_Lは、抗体軽鎖の可変ドメインを指す。

【0028】

本発明に関連するV_Hは、抗体重鎖の可変ドメインを指す。

【0029】

本発明に関連するC_Lは、抗体軽鎖の定常ドメインを指す。

【0030】

本発明に関連するC_{H1}、C_{H2}、およびC_{H3}は、抗体重鎖(具体的にはIgG重鎖)の定常ドメインを指す。

30

【0031】

抗原決定基としても既知である「エピトープ」という用語は、免疫系により認識される抗原の部分のことである。本明細書で使用される場合、エピトープという用語は「構造エピトープ」および「機能エピトープ」という用語を含む。「構造エピトープ」は、抗原に結合した場合に抗原結合タンパク質によりカバーされる抗原(例えば、ペプチド-MHC複合体)のアミノ酸である。典型的には、抗原結合タンパク質のアミノ酸の任意の原子から5以内に存在する抗原の全てのアミノ酸がカバーされるとみなされる。抗原の構造エピトープは、X線結晶解析またはNMR解析を含む当該技術分野で既知の方法により決定され得る。抗体の構造エピトープは、典型的には、20~30個のアミノ酸を含む。TCRの構造エピトープは、典型的には、20~30個のアミノ酸を含む。本明細書で定義されている「機能エピトープ」は、構造エピトープを形成するアミノ酸のサブセットであり、非共有結合的相互作用(例えば、H-結合、塩橋、芳香族スタッキング、もしくは疎水性相互作用)を直接形成することにより、または抗原の結合立体構造を間接的に安定化させることにより、本発明の抗原結合タンパク質またはその機能的断片と界面を形成するのに重要な抗原のアミノ酸を含み、例えば、突然変異スキニングにより決定される。本発明に関連して、機能エピトープはまた、「結合モチーフ」とも称される。典型的には、抗体が結合した抗原の機能エピトープは、4~6個のアミノ酸を含む。典型的には、ペプチド-MHC複合体の機能エピトープは、ペプチドの2~6または7個のアミノ酸と、MH

40

50

C分子の2～7個のアミノ酸とを含む。MHC Iにより提示されたペプチドは、典型的には8～10個のアミノ酸を有することから、それぞれの所与のペプチドのアミノ酸のサブセットのみが、ペプチド-MHC複合体の機能エピトープの一部である。エピトープ（特に、本発明の抗原結合タンパク質が結合する機能エピトープ）は、結合界面の形成に必要とされる抗原のアミノ酸を含むか、またはからなる。

【0032】

「主要組織適合複合体」(MHC)は、脊椎動物において獲得免疫系が外来分子を認識するのに必須の細胞表面タンパク質のセットであり、これにより組織適合性が決定される。MHC分子の主な機能は、病原体由来の抗原に結合し、それを細胞表面に提示して適切なT細胞に認識させることである。ヒトMHCはまた、HLA(ヒト白血球抗原)複合体(または単にHLA)とも呼ばれる。そのため、好ましい実施形態では、MHCは、HLAである。MHC遺伝子ファミリーは、クラスI、クラスII、およびクラスIIIの3つのサブグループに分けられる。ペプチドとMHCクラスI分子(MHC I)との複合体は、適切なT細胞受容体(TCR)を持つCD8陽性T細胞(CD8+ T細胞)により通常は認識され、ペプチドとMHCクラスII分子(MHC II)との複合体は、適切なTCRを持つCD4陽性ヘルパーT細胞(CD4+ T細胞)により通常は認識される。CD4およびCD8は、それぞれMHC IおよびMHC IIへの結合においてTCRの補助受容体として通常は機能する。いくつかの例外的な場合には、ペプチドとMHC Iとの複合体は、CD8陰性(特にCD8陰性、CD4陽性)T細胞により認識される[Soto et al., 2013, Cancer Immunol Immunother. 2013 Feb;62(2): 359-369]。CD8陽性T細胞およびCD4陽性T細胞の応答は、共同して相乗的に抗腫瘍効果に寄与することから、腫瘍関連抗原および対応するT細胞受容体の同定およびキャラクタリゼーションは、がん免疫療法、例えばワクチンおよび細胞療法のがん免疫療法の開発において重要である。HLA-A遺伝子は、6番染色体の短いアーム上に位置しており、HLA-Aの成分である大きな鎖をコードしている。HLA-A鎖の変異は、HLAの機能にとって重要である。この変異により、集団での遺伝子多様性が促進される。それぞれのHLAは、ある特定の構造のペプチドに対する親和性が異なることから、HLAの種類が多いということは、細胞表面に「提示」される抗原の種類が多いということの意味する。本開示に関連するMHCクラスI HLAタンパク質は、HLA-Aタンパク質、HLA-Bタンパク質、またはHLA-Cタンパク質であり得、好適にはHLA-Aタンパク質であり得、例えばHLA-A*02であり得る。MHCクラスI依存性免疫反応では、ペプチドは、腫瘍細胞により発現されるある特定のMHCクラスI分子に結合可能でなければならないだけでなく、その後の特異的T細胞受容体(TCR)を持つT細胞により認識されなければならない。

【0033】

「MHCタンパク質との複合体中の抗原ペプチド」は、本明細書では、MHC分子に非共有結合的に結合している抗原ペプチドを指す。具体的には、抗原ペプチドは、MHC分子により形成された「ペプチド結合溝」に位置している。MHC分子と抗原ペプチドとの複合体は、本明細書では、「ペプチド-MHC複合体」または「pMHC複合体」とも称される。CT45抗原ペプチドの場合には、この複合体はまた、「CT45抗原ペプチド-MHC複合体」または「CT45-IP:MHC複合体」とも称される。

【0034】

「HLA-A*02」は、特定のHLA対立遺伝子を示しており、文字Aは、対立遺伝子を示しており、接頭辞「*02接頭辞」は、A2血清型を示す。

【0035】

「抗原結合タンパク質」という用語は、本明細書では、抗原、特にMHCとの複合体中の抗原ペプチドに特異的に結合することができる抗原結合部位を含むポリペプチドまたは2個もしくはより多くのポリペプチドの複合体を指す。本明細書に関連して使用される場合、抗原結合タンパク質という用語は、下記に記載されるような複数の異なるフォーマットの抗原結合タンパク質を含み、該フォーマットとして、可溶性抗原結合タンパク質、膜

結合型抗原結合タンパク質、一価、二価および多価抗原結合タンパク質、単一特異性、二重特異性および多重特異性抗原結合タンパク質、一本鎖抗原結合タンパク質ならびに2個またはより多くの鎖、融合タンパク質およびキメラタンパク質を含む抗原結合タンパク質が挙げられる。該用語は、TCR、抗体またはキメラ抗原受容体(CAR)の全体構造を有する抗原結合タンパク質を含む。本発明の抗原結合タンパク質は、TCR由来CDR、特に、TCR由来CDRa1、CDRa3、および適宜CDRa2を含む可変ドメインV_A、ならびにTCR由来CDRb1、CDRb3、および適宜CDRb2を含む可変ドメインV_Bを含む。特定の実施形態では、V_Aドメイン全体および/またはV_Bドメイン全体は、TCRに由来し、そのため、TCRアルファ、ベータ、ガンマまたはデルタ可変ドメイン(V_α、V_β、V_γまたはV_δ)である。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質は、TCRである。いくつかの実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、本明細書で定義されているV_AおよびV_B、ならびにさらに、V_AまたはV_Bに直接的にまたは間接的に融合された追加のドメインを含む。そのような抗原結合タンパク質は、「融合タンパク質」と称され得る。「融合タンパク質」である本発明の抗原結合タンパク質に含まれる追加のドメインの例を、下記に列挙する。抗原結合タンパク質が二重特異性または多重特異性抗原結合タンパク質である場合、それは、本明細書で定義されているV_AおよびV_Bに加えて、少なくとも1つのさらなる可変ドメイン、好ましくは2つの可変ドメイン、および適宜、定常ドメインを含み、可変および/または定常ドメインは、抗体またはTCRに由来してもよい。抗原結合タンパク質は、そのため、2つの異なる抗原結合部位(1つは、V_AおよびV_Bにより形成され、1つは、追加の少なくとも1つ、好ましくは2つの、可変ドメインにより形成される)を含み、例えば二重特異性抗体で既知であるように、同時に2つの異なる抗原に特異的に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、TCR由来V_AおよびV_Bならびに追加的に2つの抗体由来可変ドメイン、特にV_LおよびV_Hを含む。抗体およびTCRの両方の要素を含むそのようなコンストラクトはハイブリッドフォーマットを表し、例えば、「二重特異性TCR-抗体融合タンパク質」と称され得る。そのような二重特異性融合タンパク質において、可変ドメインは、様々な方向で並べられてもよい。そのような二重特異性融合タンパク質を製造するための技術は当業者に既知であり、当業者は、そのため、様々なフォーマットにおいて二重特異性抗原結合タンパク質を生成および製造するために、本明細書で定義されている可変ドメインを容易に使用することができる。当業者は、所望される立体構造におけるフォールディングを確実にするために好適なリンカーを選択することが完全に可能である。

10

20

30

【0036】

「少なくとも1」は、本明細書では、1つまたは複数の指定の対象を指しており、例えば、1、2、3、4、5、もしくは6、またはより多くの指定の対象を指す。例えば、少なくとも1個の結合部位は、本明細書では、1、2、3、4、5、もしくは6個、またはより多くの結合部位を指す。

【0037】

本発明に関連する「二重特異性」という用語は、2つの異なる抗原に対して少なくとも2種の価数および結合特異性を有する抗原結合タンパク質を指しており、そのため少なくとも2つの抗原結合部位を含む。「価数」という用語は、抗原結合タンパク質の結合部位の数を指しており、例えば、2価抗原結合タンパク質は、2つの結合部位を有する抗原結合タンパク質に関する。結合部位は、同一のまたは異なる標的に結合し得、即ち、2価抗原結合タンパク質は、単一特異性(即ち、1つの標的に結合する)であってもよいし、二重特異性(即ち、2つの異なる標的に結合する)であってもよい。本発明の抗原結合分子は、TCR由来のCDRを含む少なくとも1つの抗原結合部位を含む。好ましい実施形態では、本発明の抗原結合分子は、少なくとも1つのTCR由来の抗原結合部位を含む。

40

【0038】

抗原結合タンパク質はTCRであることが好ましい。「TCR」という用語は、本明細書で使用される場合、ネイティブなTCRおよび操作されたTCRの両方を含む。

50

【0039】

「ネイティブTCR」は、自然界から単離され得る野生型TCRを指す。ネイティブTCRは、免疫グロブリンスーパーファミリーのヘテロ二量体細胞表面タンパク質であり、このタンパク質は、シグナル伝達の媒介に關与するCD3複合体の不変のタンパク質と会合している。ネイティブヘテロ二量体TCRは、 α 型および β 型で存在しており、これらは、構造的に類似しているが、位置およびおそらく機能も異なる。ネイティブな、全長ヘテロ二量体TCRは、鎖および鎖からなる。鎖は、TRA V遺伝子によりコードされる可変領域(V領域)、TRA J遺伝子によりコードされる結合領域(J領域)、およびTRAC遺伝子によりコードされる定常領域(C領域)を含む。鎖は、TRBV遺伝子によりコードされる可変領域(V領域)、TRBJ遺伝子によりコードされる結合領域(J領域)およびTRBC遺伝子によりコードされる定常領域(C領域)を含み、通常は、V領域とJ領域との間にTRBD遺伝子によりコードされる短い多様性領域(D領域)を含むが、このD領域は、J領域の一部とみなされることが多い[LeFranc, (2001), Curr Protoc Immunol Appendix 1: Appendix 10]。異なる鎖および鎖可変、結合および定常領域をコードする遺伝子は、IMGT命名法において固有の番号で言及されている[Folch and LeFranc, (2000), Exp Clin Immunogenet 17(1): 42-54; Scaviner and LeFranc, (2000), Exp Clin Immunogenet 17(2): 83-96; LeFranc and LeFranc, (2001), "T cell Receptor Factsbook", Academic Press]。TCR遺伝子に関するさらなる情報を、国際的なIMMUNOGENETICS情報システム(登録商標)、LeFranc M-P et al., (Nucleic Acids Res. 2015 Jan; 43(Database issue): D413-22; および<http://www.imgt.org/>)に見出し得る。

10

20

【0040】

タンパク質レベルにおいて、TCR α 、 β および鎖は、2つの免疫グロブリンドメイン、可変ドメインおよび定常ドメインを含む。可変ドメインはV(D)J領域に対応する。定常ドメインはC領域に対応する。定常ドメインは、膜近位ドメインであり、本発明に関連して、膜貫通(TM)ドメインおよび短い細胞質テイルも含む。定常ドメインおよび可変ドメインのそれぞれは鎖内ジスルフィド結合を含む。可変ドメイン(TCR中のV α およびV β ならびにTCR中のV α およびV β は)、相補性決定領域(CDR)を含む高度に多型のループを含有する。

30

【0041】

それぞれのTCR可変ドメインは、フレームワーク配列に埋め込まれた3つの「TCR相補性決定領域」(CDR)を含み、1つは、CDR3と命名された超可変領域である。本発明に関連して、CDRa1、CDRa2、およびCDRa3は、鎖CDRを示し、CDRb1、CDRb2、およびCDRb3は、鎖CDRを示す。CDRa1およびCDRa2をコードする配列はTRA Vに含まれ、CDRa3をコードする配列はTRA VおよびTRA Jに含まれ、CDRb1およびCDRb2をコードする配列はTRBVに含まれ、CDRb3をコードする配列は、TRBV、TRBDおよびTRBJに含まれる。TCRでは、CDR1およびCDR3アミノ酸残基は、抗原ペプチドと接触し、CDR2アミノ酸残基は、HLA分子と主に接触する(Stadinski et al., J Immunol. 2014 June 15; 192(12): 6071-6082; Cole et al., J Biol Chem. 2014 Jan 10; 289(2): 628-38)。そのため、TCRの抗原特異性は、CDR3およびCDR1配列により定義される。CDR2配列は、抗原特異性の決定には必要ないが、ペプチド:MHC複合体に対するTCRの全体的な親和性で役割を果たし得る。

40

【0042】

「TCRフレームワーク領域」(FR)は、CDR間に挟まれたアミノ酸配列を指しており、即ち、異なるTCR間である程度保存されている可変ドメインの部分を指す。鎖、鎖、鎖、および鎖可変ドメインは、それぞれ、本明細書ではそれぞれFR1-a、FR2-a、FR3-a、FR4-a(鎖または鎖の場合)、およびFR1-b、FR2-b、FR3-b、FR4-b(鎖または鎖の場合)と呼ばれる4つのFRを

50

有する。従って、鎖または鎖可変ドメインは、(FR1-a) - (CDRa1) - (FR2-a) - (CDRa2) - (FR3-a) - (CDRa3) - (FR4-a)と説明され得、鎖または鎖可変ドメインは、(FR1-b) - (CDRb1) - (FR2-b) - (CDRb2) - (FR3-b) - (CDRb3) - (FR4-b)と説明され得る。本発明に関連して、鎖、鎖可変ドメイン中のCDR/FR配列は、IMGT定義に基づいて決定される(Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27(1):55-77; www.imgt.org)。従って、TCRまたはTCR由来のドメインに関連する場合のCDR/FRアミノ酸位置は、前記IMGT定義に従って示される。好ましくは、可変ドメインVのCDR/FRアミノ酸位置のIMGT位置は、TRAV24*01のIMGTナンバリングに類似して付与され、および/または可変ドメインVのCDR/FRアミノ酸位置のIMGT位置は、TRBV12-3*01のIMGTナンバリングに類似して付与される。

10

【0043】

「操作されたTCR」は、ネイティブなTCRに密接に似ているが、可変および/もしくは定常ドメイン中に軽微な改変を含むタンパク質、例えば、ヒト化されたTCR、もしくは改善されたヘテロ二量体化もしくは発現レベルを有するTCRであってもよく、または一本鎖TCR、可溶性TCR、一価、二価もしくは多価TCR、単一特異性、二重特異性もしくは多重特異性TCR、TCRの機能的断片、もしくはTCRの機能的断片を含む融合タンパク質もしくはキメラタンパク質であってもよい。

【0044】

「TCRの機能的断片」は、標的抗原についての、その由来となる親TCRの親和性、機能的なアビディティおよび/または特異性を保持するか、または実質的に保持するTCRの断片を指す。これに関連する「親TCR」は、機能的断片の由来となる全長TCRを指す。標的抗原ペプチドへの結合はCDR1およびCDR3配列により定義され、標的抗原ペプチドMHC複合体への結合は、CDR1、CDR2およびCDR3により定義されるので、親TCRのCDR1およびCDR3および適宜CDR2配列を含む抗原結合タンパク質は、標的抗原についての親TCRの親和性、機能的なアビディティおよび/または特異性を保持する。CDRはフレームワーク領域(FR)を差し挟まれる必要があるが、フレームワーク領域の特定のアミノ酸配列は標的抗原特異性に直接的に関与しないことを当業者は認識している。機能的なTCR断片の例として、単一の可変ドメイン、例えばTCRアルファ、ベータ、ガンマもしくはデルタ可変ドメイン、または鎖の断片、例えば膜貫通ドメインおよび短い細胞質テイルを有しない鎖、鎖もしくは鎖が挙げられる。「断片」という用語は、本明細書で使用される場合、天然に存在する断片(例えばスプライス変異型またはペプチド断片)および人工的に構築された断片、特に、遺伝子技術的手段により得られる断片を指す。

20

30

【0045】

TCRの機能的断片は、例えば、下記に概説されるように測定された標的抗原に対する結合についての K_D が、親TCRの K_D と同一であるか、または、10倍、5倍、3倍、もしくは2倍以下に増加しているか、もしくは10分の1、5分の1、3分の1、もしくは2分の1以上に減少している、好ましくは減少している(increased or reduced, preferably reduced, no more than 10x, 5x, 3x, or 2x)場合に、標的抗原についての保持されたまたは実質的に保持された親和性を有するとみなされる。

40

【0046】

TCRの機能的断片は、例えば、標的抗原についての機能的なアビディティが、親TCRの機能的なアビディティと同一であるか、または50%、40%、30%、20%、15%、10%、8%、5%、3%、2%もしくは1%以下、増加もしくは減少している、好ましくは減少している場合に、標的抗原についての保持されたまたは実質的に保持された機能的なアビディティを有するとみなされる。特に、TCRの機能的断片は、例えば、細胞傷害性アッセイ、好ましくは下記に記載されているルシフェラーゼ放出アッセイにお

50

いて測定された親タンパク質の標的に応答したその細胞傷害活性が、親TCRの細胞傷害活性と同一であるか、または50%、40%、30%、20%、15%、10%、8%、5%、3%、2%もしくは1%、好ましくは10%、8%、5%、3%、2%もしくは1%以下、増加もしくは減少している、好ましくは減少している場合に、標的抗原についての保持されたまたは実質的に保持された機能的なアビディティを有するとみなされる。

【0047】

TCRの機能的断片は、親TCRの標的抗原ペプチド以外のペプチドに有意に結合しない場合に、標的抗原についての保持されたまたは実質的に保持された特異性（即ち、標的抗原に特異的に結合する能力）を有するとみなされる。

【0048】

「 α / β TCR」または「 γ / δ TCR」という用語は、上記されている鎖および鎖、または鎖および鎖をそれぞれ含むTCRを指す。そのようなTCRはまた、「全長TCR」または「従来型TCR」としても記載され得る。 α / β TCRまたは γ / δ TCRは、ネイティブなTCRであってもよいか、またはネイティブなTCRの構造を保持する操作されたTCR、即ち、上記されている可変および/もしくは定常ドメイン中に軽微な改変を含む操作されたTCR、例えばヒト化されたTCRであってもよい。

【0049】

「一本鎖TCR (scTCR)」は、本明細書で使用される場合、TCRの可変ドメインが単一ポリペプチド上に位置しているTCRを示す。典型的には、scTCR中の可変ドメインは、リンカーにより分離されており、前記リンカーは、典型的には、10~30個のアミノ酸、例えば、25個のアミノ酸を含む。

【0050】

「キメラタンパク質」は、本明細書では、複数の種からの配列を含むタンパク質を指す。「キメラTCR」は、本明細書では、複数の種からの配列を含むTCRを指す。好ましくは、本発明に関連するキメラTCRは、ヒトからの少なくとも1つのドメインおよびマウスからの1つのドメインを含む鎖を含んでもよい。より好ましくは、本発明に関連するキメラTCRは、ヒト鎖の可変ドメイン、および、例えば、マウスTCR鎖の定常ドメインを含む鎖を含んでもよい。

【0051】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合は、ネイティブなおよび操作された抗体を含むことが意味される。「操作された抗体」という用語は、機能的抗体断片、一本鎖抗体、単ドメイン抗体、二重特異性または多重特異性抗体を含む。

【0052】

ネイティブな「抗体」は2つの重鎖および2つの軽鎖を含み、重鎖は、ジスルフィド結合により互いに連結されており、かつそれぞれの重鎖は、ジスルフィド結合により軽鎖に連結されている。軽鎖には、ラムダ(λ)およびカッパ(κ)の2種が存在している。抗体分子の機能的活性を決定する下記の5種の主な重鎖クラス（またはアイソタイプ）が存在している：IgM、IgD、IgG、IgA、およびIGE。それぞれの鎖は、異なるドメイン（領域とも称される）を含む。軽鎖は、可変ドメイン(V_L)および定常ドメイン(C_L)という2つのドメインを含む。重鎖は、抗体アイソタイプに応じて、下記の4または5つのドメインを含む：可変ドメイン(V_H)、ならびに3または4つの定常ドメイン（まとめて C_H と称される C_{H1} 、 C_{H2} 、および C_{H3} 、適宜 C_{H4} ）。軽(V_L)鎖および重(V_H)鎖の両方の可変ドメインは、抗原に対する結合認識および特異性を決定する。軽(C_L)鎖および重(C_H)鎖の定常ドメインは、抗体鎖の会合、分泌、胎盤通過性、補体結合、およびFc受容体(FcR)への結合等の重要な生物学的特性を付与する。

【0053】

抗体の特異性は、抗体結合部位と抗原決定基との間の構造的相補性に存在する。抗体結合部位は、主に「抗体相補性決定領域」(CDR)または超可変領域に由来する残基で構成されている。時には、非超可変領域またはフレームワーク領域(FR)の残基が、ドメ

10

20

30

40

50

イン全体の構造、ひいては結合部位に影響を及ぼす。CDRは、ネイティブ抗体結合部位の天然Fv領域の結合親和性および特異性を定義するアミノ酸配列を指す。抗体の軽鎖および重鎖は、それぞれ、それぞれCDR1-L、CDR2-L、CDR3-L、およびCDR1-H、CDR2-H、CDR3-Hと呼ばれる3つのCDRを有する。従って、抗体の抗原結合部位は、重鎖V領域および軽鎖V領域のそれぞれ由来のCDRセットを含む6つのCDRを含む。「抗体フレームワーク領域」(FR)は、CDR間に介在しているアミノ酸配列を指しており、即ち、抗体軽鎖および重鎖の可変領域の、単一種において異なる抗体間で比較的保存されている部分を指す。抗体の軽鎖および重鎖は、それぞれ、それぞれFR1-L、FR2-L、FR3-L、FR4-L、およびFR1-H、FR2-H、FR3-H、FR4-Hと呼ばれる4つのFRを有する。従って、軽鎖可変ドメインは、(FR1-L)-(CDR1-L)-(FR2-L)-(CDR2-L)-(FR3-L)-(CDR3-L)-(FR4-L)と説明され得、重鎖可変ドメインは、(FR1-H)-(CDR1-H)-(FR2-H)-(CDR2-H)-(FR3-H)-(CDR3-H)-(FR4-H)と説明され得る。本明細書で使用される場合、「ヒトフレームワーク領域」とは、天然に存在するヒト抗体のフレームワーク領域と実質的に同一(約85%以上、特に、90%、95%、97%、99%、または100%)であるフレームワーク領域のことである。本発明に関連して、抗体軽鎖または重鎖の可変ドメインにおけるCDR/FR定義は、IMGT定義に基づいて決定される(Lefranc et al., Dev. Comp. Immunol., 2003, 27(1):55-77; www.imgt.org)。従って、所与の可変鎖のCDR1、CDR2、およびCDR3のアミノ酸配列、ならびにFR1、FR2、FR3、およびFR4のアミノ酸配列は、前記IMGT定義に従って示される。

【0054】

本発明の抗体、TCR、または抗原結合タンパク質のCDRのアミノ酸配列を知ることにより、当業者は、フレームワーク領域(例えば、TCRフレームワーク領域または抗体フレームワーク領域)を容易に決定し得る。CDRが示されていない場合には、当業者は、最初に、TCRに関するIMGT定義または抗体に関するIMGT定義に基づいてCDRアミノ酸配列を決定し得、次いで、フレームワーク領域のアミノ酸配列を決定し得る。

【0055】

操作された抗体フォーマットは、機能的抗体断片、一本鎖抗体、単ドメイン抗体、およびキメラ抗体、ヒト化抗体、二重特異性抗体、または多重特異性抗体を含む。操作された抗体フォーマットとして、抗体の軽鎖可変ドメインがTCRの鎖可変ドメインで置き換えられていてもよく、かつ重鎖可変ドメインがTCRの鎖可変ドメインで置き換えられていてもよいが、またはその逆であってもよい、コンストラクトがさらに挙げられる。「機能的抗体断片」は、その標的抗原に結合する能力、特にその標的抗原についての親和性および/または特異性を保持する全長抗体の部分の部分を指す。好ましくは、機能的抗体断片は、全長抗体の抗原結合領域または可変領域を含む。機能的抗体断片の例として、Fv、Fab、F(ab')₂、Fab'、dsFv、(dsFv)₂、scFv、sc(Fv)₂、およびダイアボディが挙げられる。機能的抗体断片はまた、重鎖抗体等の単ドメイン抗体でもあり得る。「Fab」という用語は、IgGをプロテアーゼ(例えば、パパイ)で処理して得られる断片の内、H鎖のN末端側の約半分とL鎖全体とがジスルフィド結合を介して互いに結合している、分子量が約50,000ダルトンであり抗原結合活性を有する抗体断片を示す。Fv断片は、抗体のFab断片のN末端部分であり、1本の軽鎖および1本の重鎖の可変部分からなる。

【0056】

本明細書で使用される場合、抗原結合タンパク質の「フォーマット」は、ドメイン(特に、可変ドメインおよび適宜定常ドメイン)の定義された空間的配置を指定する。そのような抗原結合タンパク質フォーマットの重要な特徴は、下記である:ポリペプチド鎖の数(一本鎖、二本鎖、または多重鎖)、異なるドメインを連結するリンカーのタイプおよび長さ、可変ドメインの数(従って、価数の数)、異なる可変ドメインの数(従って、異なる抗原に対する特異性の数、例えば、二重特異性、多重特異性)、ならびに可変ドメイン

の順序および方向（例えば、クロスオーバー、パラレル）。

【0057】

「ヒト化抗体」という用語は、完全にまたは部分的に非ヒト起源であり、かつヒトにおける免疫反応を回避するかまたは最小限に抑えるために、ある特定のアミノ酸（特に、重鎖および軽鎖のフレームワーク領域中）を置き換えることにより改変されている抗体を指す。ヒト化抗体の定常ドメインは、主にヒトのC_HドメインおよびC_Lドメインである。抗体配列のヒト化のための多数の方法が、当該技術分野で既知であり；例えば、Almagro & Fransson (2008) *Front Biosci.* 13: 1619-1633による概説を参照されたい。

【0058】

本出願の文脈において、「参照配列と少なくとも85%同一」である配列とは、参照配列の全長との85%以上、特に、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%の配列同一性を全長にわたり有する配列のことである。参照配列と「少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一」のアミノ酸配列からなるタンパク質は、参照配列と比較して突然変異（例えば、欠失、挿入、および/または置換）を含み得る。置換の場合には、参照配列と少なくとも80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%同一のアミノ酸配列からなるタンパク質は、参照配列とは別の種に由来する相同配列に対応し得る。

10

【0059】

本出願の文脈において、「同一性の割合」は、グローバルペアワイズアラインメントを使用して算出され得る（即ち、2つの配列が、その全長にわたり比較される）。2つ以上の配列の同一性を比較する方法は、当該技術分野で公知である。例えば、Needleman - Wunsch グローバルアラインメントアルゴリズム (Needleman and Wunsch, 1970 *J. Mol. Biol.* 48:443-453) を使用して、2つの配列の全長を考慮した場合の最適なアラインメント（ギャップを含む）を見出す「ニードル」プログラムを使用し得る。ニードルプログラムは、例えば、ebi.ac.uk World Wide Webサイトで入手可能であり、下記の刊行物でさらに説明されている [EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite (2000) Rice, P. Longden, I. and Bleasby, A. *Trends in Genetics* 16, (6) pp. 276-277]。本発明に従う2つのポリペプチド間の同一性の割合は、“Gap Open”パラメータ 10.0、“Gap Extend”パラメータ 0.5、およびBlosum62マトリックスでEMBOSS:ニードル（グローバル）プログラムを使用して算出される。

20

30

【0060】

「アミノ酸突然変異」は、欠失、挿入または置換であってもよい。

【0061】

「アミノ酸置換」は、保存的または非保存的であってもよい。一実施形態では、置換は保存的置換であり、保存的置換では、1つのアミノ酸は、類似の構造的および/または化学的特性を有する別のアミノ酸に置換される。

【0062】

一実施形態では、保存的アミノ酸置換として、アミノ酸の同クラスの別のアミノ酸 [例えば、(1) 非極性: Ala、Val、Leu、Ile、Pro、Met、Phe、Trp; (2) 非荷電極性: Gly、Ser、Thr、Cys、Tyr、Asn、Gln; (3) 酸性: Asp、Glu; および (4) 塩基性: Lys、Arg、His] による置換も挙げられ得る。他の保存的アミノ酸置換をまた、下記のように行ない得る: (1) 芳香族: Phe、Tyr、His; (2) プロトン供与体: Asn、Gln、Lys、Arg、His、Trp; および (3) プロトン受容体: Glu、Asp、Thr、Ser、Tyr、Asn、Gln (例えば、内容全体が参照により組み込まれる米国特許第10,106,805号明細書を参照されたい)。

40

【0063】

別の実施形態では、保存的置換を、表1に従って行ない得る。タンパク質改変に対する

50

耐性を予測する方法を、例えば、Guo et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 101(25):9205-9210 (2004) (この内容は、その全体が参照により組み込まれる)で見出し得る。

【0064】

【表1】

表1：保存的アミノ酸置換

保存的アミノ酸置換	
アミノ酸	置換 (他は、当該技術分野で既知である)
Ala	Ser, Gly, Cys
Arg	Lys, Gln, His
Asn	Gln, His, Glu, Asp
Asp	Glu, Asn, Gln
Cys	Ser, Met, Thr
Gln	Asn, Lys, Glu, Asp, Arg
Glu	Asp, Asn, Gln
Gly	Pro, Ala, Ser
His	Asn, Gln, Lys
Ile	Leu, Val, Met, Ala
Leu	Ile, Val, Met, Ala
Lys	Arg, Gln, His
Met	Leu, Ile, Val, Ala, Phe
Phe	Met, Leu, Tyr, Trp, His
Ser	Thr, Cys, Ala
Thr	Ser, Val, Ala
Trp	Tyr, Phe
Tyr	Trp, Phe, His
Val	Ile, Leu, Met, Ala, Thr

10

20

【0065】

本発明の抗原結合タンパク質は、1つまたは複数の天然に存在するアミノ酸の代わりに、合成アミノ酸を含み得る。そのような合成アミノ酸は、当該技術分野で既知であり、例えば下記が挙げられる：アミノシクロヘキサンカルボン酸、ノルロイシン、 α -アミノ-n-デカン酸、ホモセリン、S-アセチルアミノメチル-システイン、トランス-3-およびトランス-4-ヒドロキシプロリン、4-アミノフェニルアラニン、4-ニトロフェニルアラニン、4-クロロフェニルアラニン、4-カルボキシフェニルアラニン、 α -フェニルセリン、 β -ヒドロキシフェニルアラニン、フェニルグリシン、 α -ナフチルアラニン、シクロヘキシルアラニン、シクロヘキシルグリシン、インドリン-2-カルボン酸、1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸、アミノマロン酸、アミノマロン酸モノアミド、N'-ベンジル-N'-メチル-リシン、N',N'-ジベンジル-リシン、6-ヒドロキシリシン、オルニチン、 α -アミノシクロペンタンカルボン酸、 α -アミノシクロヘキサンカルボン酸、 α -アミノシクロヘプタンカルボン酸、 α -(2-アミノ-2-ノルボルナン)-カルボン酸、 α -ジアミノ酪酸、 α -ジアミノプロピオン酸、ホモフェニルアラニン、およびtert-ブチルグリシン。

30

40

【0066】

一実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、グリコシル化され得るか、アミド化され得るか、カルボキシル化され得るか、リン酸化され得るか、エステル化され得るか、N-アシル化され得るか、例えばジスルフィド架橋を介して環化され得るか、もしくは酸付加塩に変換され得、および/または二量体化され得るかもしくは重合され得るか、またはコンジュゲートされてもよい。

【0067】

50

「共有結合的連結」は、本明細書では、例えば、ジスルフィド結合、またはポリペプチドリンカー等のリンカーもしくはリンカー配列を介したペプチド連結もしくは共有結合的連結を指す。

【0068】

「リンカー」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原結合部位を形成するために正しく折り畳むのに十分なドメインまたは要素（例えば、二重特異性抗原結合の可変ドメイン）の可動性を提供するためにドメイン間またはドメインと薬剤との間に挿入される1つまたは複数のアミノ酸残基を指す。

【0069】

いくつかの実施形態では、リンカーは、リンカーが存在していないことを意味する0個のアミノ酸からなる。リンカーは、アミノ酸配列レベルで、可変ドメイン間または可変ドメインと定常ドメインとの間（または二量体化ドメイン間）それぞれの転移で挿入される。抗体ドメインおよびTCRドメインのおおよそのサイズがよく理解されていることから、ドメイン間の転移を特定し得る。ドメイン転移の精密な位置は、実験データにより実証されるか、またはモデリングもしくは二次構造予測の技術により推定され得るような二次構造エレメント、例えばベータシートまたはアルファ-ヘリックスを形成しないペプチドストレッチを位置決定することにより決定され得る。

【0070】

リンカーは、それぞれの文脈において別途指定されない限り、少なくとも1~30個のアミノ酸の長さであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、2~25個、2~20個、または3~18個のアミノ酸の長さであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、14、13、12、11、10、9、8、7、6、または5個以下のアミノ酸の長さのペプチドであり得る。他の実施形態では、リンカーは、5~25個、5~15個、4~11個、10~20個、または20~30個のアミノ酸の長さであり得る。他の実施形態では、リンカーは、約2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30個のアミノ酸の長さであり得る。特定の実施形態では、リンカーは、24個未満、20個未満、16個未満のアミノ酸残基の長さであり得、12個未満、10個未満、例えば、5~24個未満、10~24個未満、または5~10個未満のアミノ酸残基の長さである。いくつかの実施形態では、前記リンカーは、1個以上のアミノ酸残基の長さであり、例えば、1個超、2個超、5個超、10個超、20個超のアミノ酸残基の長さであり、22個超のアミノ酸残基の長さである。好ましい実施形態では、リンカーは、グリシン/セリンリンカー、即ち、グリシンおよびセリン残基からなるか、または本質的にからなるリンカーである。

【0071】

本開示の抗原結合タンパク質は、合成であり得、組換えであり得、単離され得、操作され得、および/または精製され得る。

【0072】

「操作された」抗原結合タンパク質、特に、本発明に関連する操作されたTCRは、生物工学的的方法により、特に、ネイティブなタンパク質配列中にアミノ酸突然変異を導入することにより、改変されているタンパク質を指す。そのような生物工学的的方法是当業者に周知である。

【0073】

「精製された」は、ポリペプチド（例えば、本発明の抗原結合タンパク質）またはヌクレオチド配列（例えば、本明細書で説明されている抗原結合タンパク質またはその機能的断片をコードするヌクレオチド配列）に言及する場合には、示されている分子が、同一タイプの他の生物学的高分子の実質的非存在下で存在していることを意味する。「精製された」という用語は、特に本明細書で使用される場合、同一タイプの生物学的高分子の少なくとも75重量%、85重量%、95重量%、または98重量%が存在していることを意味する。「精製された」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原結合タンパク質

10

20

30

40

50

が、その治療的、診断的、予防的、研究または他の使用に干渉するDNA、RNA、タンパク質、ポリペプチドまたは細胞を含まないことをさらに示し得る。

【0074】

特定のポリペプチドをコードする精製された核酸分子は、主題のポリペプチドをコードしない他の核酸分子を実質的に含まない核酸分子を指しており、しかしながら、この分子は、組成の基本特性に悪影響を及ぼさないいくつかのさらなる塩基または部分を含み得る。

【0075】

「単離された」という用語は、天然状態から変化したかまたは取り出されたことを意味する。例えば、生きている動物中に天然に存在する核酸またはペプチドは、「単離され」てはいないが、天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一の核酸またはペプチドは、「単離され」ている。単離され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し得るか、または例えば宿主細胞等の非天然環境中で存在し得る。単離された抗原結合タンパク質は、異なる抗原特異性を有する他の抗原結合タンパク質を実質的に含まない（例えば、CT45-IPに特異的に結合する抗原結合タンパク質は、CT45-IP以外の抗原に特異的に結合する抗原結合タンパク質を実質的に含まない）。さらに、単離された抗原結合タンパク質は、他の細胞物質および/または化学物質を実質的に含まない場合がある。

10

【0076】

「組換え」分子とは、組換え手段により調製されているか、発現されているか、作製されているか、または単離されている分子のことである。組換え分子は、天然には存在していない。

20

【0077】

「遺伝子」という用語は、1種または複数種のタンパク質または酵素の全てまたは一部を構成するアミノ酸の特定の配列をコードするかまたはそれに対応するDNA配列を意味しており、例えばこの遺伝子が発現される条件を決定する制御DNA配列（例えば、プロモーター配列）を含んでもよいし、含まなくてもよい。構造遺伝子ではないいくつかの遺伝子は、DNAからRNAへと転写され得るが、アミノ酸配列へとは翻訳されない。他の遺伝子は、構造遺伝子のレギュレーターとして機能し得るか、またはDNA転写のレギュレーターとして機能し得る。特に、遺伝子という用語は、タンパク質をコードするゲノム配列（即ち、レギュレーター、プロモーター、イントロン、およびエクソンの配列を含む配列）を対象とし得る。

30

【0078】

「親和性」は、本発明に関連して、抗原結合タンパク質とその抗原（即ち、MHCタンパク質との複合体中のCT45-IPペプチド）との間の平衡結合により定義される。親和性は、平衡解離定数（ K_D ）として通常は表される。

【0079】

「 K_D 」は、抗原結合タンパク質とその抗原との間の平衡解離定数（ k_{off}/k_{on} の比）である。 K_D および親和性は、逆相関している。 K_D 値は、抗原結合タンパク質の濃度に関係しており、 K_D 値が低いほど、抗原結合タンパク質の親和性が高くなる。 K_D 値は、表面プラズモン共鳴（SPR）または生体層干渉法（BLI）による会合速度および解離速度の測定等の様々な既知の方法により実験的に評価し得る。当業者に既知であるように、それらの実験のために使用される実験条件、例えば使用される緩衝液、タンパク質の濃度は、結果に強く影響を及ぼし得る。

40

【0080】

「機能的なアビディティ」は、MHCとの複合体中の標的抗原ペプチドへの結合で、エフェクター細胞、好ましくはT細胞を活性化させる抗原結合タンパク質、好ましくはTCRの能力を記載するパラメータとして、本発明に関連して定義される。エフェクター細胞、好ましくはT細胞の活性化は、機能アッセイ、特に、下記に記載されているサイトカイン産生アッセイまたは細胞傷害性アッセイにおいて測定され得る。いくつかの実施形態で

50

は、抗原結合タンパク質の機能的なアビディティは、機能アッセイにおいて決定された EC_{50} が低い、例えば、下記に記載されている細胞傷害性アッセイにおいて約 60 nM 未満、約 10 nM 未満、もしくは約 1 nM 未満である、かつ/または機能アッセイにおいて決定された活性が高い、例えば、それぞれの機能アッセイにおいて定義される最大活性の少なくとも 50% 、少なくとも 60% 、少なくとも 70% 、少なくとも 75% 、好ましくは少なくとも 80% 、少なくとも 85% 、少なくとも 90% 、もしくは少なくとも 95% である場合に、高いとみなされる。機能アッセイに依存して、最大活性は、既知の高い機能的なアビディティを有する参照タンパク質の活性または下記に記載されている「最大溶解コントロール」の活性であってもよい。

【0081】

「有効性」は、MHC との複合体中の標的抗原ペプチドをその表面上に提示するがん細胞を殺滅するエフェクター細胞、好ましくはT細胞を活性化させる抗原結合タンパク質、好ましくはTCRの能力を記載するパラメータとして、本発明に関連して定義される。有効性は、機能アッセイ、特に、下記に記載されている生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイにおいて決定され得る。

【0082】

「機能アッセイ」において、抗原結合タンパク質は、例えば、「エフェクター細胞 (E)」中で発現され、かつエフェクター細胞は、「標的細胞 (T)」と、即ち、ペプチド-MHC複合体を提示する抗原提示細胞と共培養される。機能アッセイは、そのためまた、「共培養アッセイ」としても記載され得る。本明細書に記載される全ての細胞培養アッセイのために、細胞培養温度は好ましくは約 37°C である。好ましくは、抗原結合タンパク質はTCRであり、かつエフェクター細胞はT細胞である。標的細胞は、抗原ペプチドを人工的にロードされた細胞 (例えばT2細胞) であってもよいか、または表面上に標的抗原ペプチドを内因性に提示する細胞 (例えばCT45を発現するがん細胞) であってもよい。ペプチド-MHC複合体への抗原結合タンパク質の結合は、エフェクター細胞の活性化をもたらす。機能アッセイのタイプに依存して、活性化の程度を測定するための異なるリードアウトがある。サイトカイン産生アッセイにおいて、エフェクター細胞によるサイトカイン (例えばTNF- α 、IFN- γ 、CD107a+、IL-2および/またはグランザイムB) の産生が決定される。細胞傷害性アッセイにおいて、エフェクター細胞による標的細胞の殺滅が、例えば、標的細胞、特にがん細胞の増殖における低下を測定することにより (例えば生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイにおいて)、または標的細胞からの細胞内タンパク質の放出を測定することにより、決定される。細胞傷害性アッセイにおいて測定される好適な細胞内タンパク質は、内因性タンパク質、例えば、抗原提示細胞により発現されるLDHまたはトランスジェニックタンパク質、例えばルシフェラーゼであり得る。

【0083】

本発明に関連して、「T2細胞」という用語は、TAP機能を欠いているMHC I分子 (HLA-A2) を発現する細胞を指す。T2細胞は、異なる濃度の外因性抗原ペプチドを容易に人工的にロードされ得る。T2細胞は、例えば、[Hosken and Bevan, Science 1990 Apr 20; 248(4953):367-70] において記載されている。T2細胞は、例えばATCC (American Type Culture Collection) から、商業的に入手可能である。T2細胞のローディングは、当業者に既知の標準的な細胞培養条件下で、T2細胞を約2時間、所望される濃度の抗原ペプチドとインキュベートすることにより達成され得る。本発明に関連して、ある特定の濃度、例えば $1 \mu\text{M}$ 、 100 nM 、 10 nM 、 1 nM 、 100 pM 、 10 pM 、 1 pM の抗原ペプチドとインキュベートされるT2細胞は、前記濃度の抗原ペプチドをロードされたT2細胞と称され、例えば、 $10 \mu\text{M}$ の抗原ペプチドとインキュベートされたT2細胞は、 $10 \mu\text{M}$ の抗原ペプチドをロードされたT2細胞と称される。

【0084】

「E:T比」という用語は、エフェクター細胞 (即ち、抗原結合タンパク質、特にTC

10

20

30

40

50

Rを発現する、免疫細胞、特にT細胞)の標的細胞に対する比を指す。いくつかの実施形態では、E:T比は、播種比、即ち、免疫細胞、特にT細胞の総数の、標的細胞の総数に対する比に対応する。いくつかの実施形態では、E:T比は、播種比よりも低い。これは、例えば低いエレクトロポレーション効率に起因して、全ての免疫細胞が抗原結合タンパク質を発現するわけではない、即ち、全ての免疫細胞がエフェクター細胞であるわけではない場合に適用される。いくつかの実施形態では、播種比は、E:T比のおおよその値として使用される。いくつかの実施形態では、E:T比は、エレクトロポレーション効率を考慮に入れて播種比を調整することにより決定される。

【0085】

例示的なルシフェラーゼ放出アッセイは、方法セクションにおいて記載されており、実施例1および2において行われている。ルシフェラーゼ放出アッセイの特定の実施形態では、エフェクター細胞は、TCRを一過的にまたは安定的に発現するT細胞、好ましくは予備刺激されたT細胞、例えば、TCRをコードするmRNAをエレクトロポレートされたT細胞、またはTCRをコードする核酸を安定的に形質導入されたT細胞、例えば、TCRをコードする核酸を含むレンチウイルスベクターを形質導入されたT細胞である。これらのエフェクター細胞は、ルシフェラーゼを発現する標的細胞と共培養される。好ましくは、標的細胞は、抗原ペプチドをロードされたT2細胞である。好ましくは、エフェクター細胞および標的細胞は、2:1~1:2、好ましくは1:1の比において播種される。定義された時間、例えば12~38時間、好ましくは18~30時間、より好ましくは約24時間の共培養の後に、上清中のルシフェラーゼの量が測定され、高いルシフェラーゼ濃度は、高い殺滅活性、およびそのため、提示されたペプチドについての、抗原結合タンパク質、好ましくはTCRの高い機能的なアビディティを示す。抗原結合タンパク質の機能的なアビディティは、細胞傷害性アッセイ、好ましくは上記に定義されているルシフェラーゼ放出アッセイにおいて、標的細胞に対するエフェクター細胞の細胞傷害活性が、コントロール毒性試薬の細胞傷害活性の少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも75%、好ましくは少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%である場合に、高いとみなされる。細胞傷害活性は100%よりも高いものであり得ることを当業者は認識している。これは、100%の細胞傷害活性は、毒性試薬との標的細胞のインキュベーションを指す「最大溶解コントロール」により定義されるという事実に起因する。いくつかの実施形態では、毒性試薬は、標的細胞の溶解をもたらす界面活性剤、例えばTriton-X100、Tween-20、Tween-80またはNP-40である。いくつかの具体例では、最大溶解コントロールは、標的細胞培養物に0.2% Triton-X100溶液を加えることを含む。毒性試薬の細胞傷害活性、即ち、毒性試薬により殺滅された標的細胞の数は、100%として定義される。標的細胞は共培養の間に依然として増殖することができるので、エフェクター細胞は、最大溶解コントロールの間に殺滅された毒性試薬(the toxic reagent)よりも多くの数の標的細胞を細胞傷害性アッセイの間に最終的に殺滅し得る。そのような場合には、算出される細胞傷害活性は100%よりも高い。

【0086】

例示的なサイトカイン産生アッセイは、方法セクションにおいて記載されており、実施例3において行われている。サイトカイン産生アッセイの特定の実施形態では、エフェクター細胞は、TCRを発現するT細胞、好ましくは予備刺激されたT細胞、例えば、TCRをコードする核酸を一過的にトランスフェクトされたかまたは安定的に形質導入されたT細胞、好ましくは、TCRをコードするmRNAをエレクトロポレートされたT細胞である。これらのエフェクター細胞は、好ましくは抗原ペプチドをロードされたT2細胞である標的細胞と共培養される。好ましくは、エフェクター細胞および標的細胞は、2:1~1:2、好ましくは1:1の比において播種される。共培養は、好ましくは、分泌遮断剤の存在下で行われる。定義された時間、例えば3~7時間、好ましくは約5時間の共培養の後に、エフェクター細胞は、例えばCD107a+、IFN-ガンマ、TNFアルファ、IL-2およびグランザイムBから選択される、少なくとも1つの細胞内サイトカイ

10

20

30

40

50

ンについて染色されて、サイトカインを産生するエフェクター細胞の量が決定される。抗原結合タンパク質の機能的なアビディティは、抗原が、上記に定義されているサイトカイン産生アッセイにおいてエフェクター細胞を活性化可能である場合に、特に、標的細胞との共培養でサイトカインを産生するエフェクター細胞の数が、免疫細胞、例えば生CD4⁺、CD8⁺および/またはCD3⁺細胞の集団当たり少なくとも2%、少なくとも2.5%、好ましくは少なくとも3%である場合に、高いとみなされる。好ましくは、標的細胞との共培養でサイトカインを産生するエフェクター細胞の数は、エフェクター細胞の総数当たり少なくとも10%、少なくとも25%、少なくとも50%である。上記に説明されるように、例えば低いエレクトロポレーション効率に起因して、全ての免疫細胞が抗原結合タンパク質を発現するわけではなく、即ち、共培養アッセイにおいて播種された全ての免疫細胞がエフェクター細胞であるわけではない。

10

【0087】

例示的な生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイは、方法セクションにおいて記載されており、実施例5において行われている。生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイの特定の実施形態では、エフェクター細胞は、TCRを一過的にまたは安定的に発現するT細胞、好ましくは予備刺激されたT細胞、例えば、TCRをコードするmRNAをエレクトロポレートされたT細胞である。これらのエフェクター細胞は、CT45-IP抗原ペプチドを内因性に発現しかつ提示し、かつ適宜CT45-IP抗原ペプチドを追加的にロードされた腫瘍細胞と共培養される。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞はA375細胞またはNCIH-1703細胞である。腫瘍細胞は好ましくは蛍光標識される。生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイのいくつかの実施形態では、全T細胞[TCRを発現するT細胞(=エフェクター細胞)およびTCRを発現しないT細胞を含む]の播種比は、9:1~0.5:1、例えば9:1、6:1、3:1、2:1または1:1である。いくつかの実施形態では、E:T比は6:1~0.2:1である。抗原結合タンパク質の有効性は、上記に定義されている生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイにおいて、腫瘍細胞の殺滅(腫瘍細胞増殖における減少により決定される)が、6:1またはそれ未満、5:1またはそれ未満、4:1またはそれ未満、3:1またはそれ未満、好ましくは2:1またはそれ未満、より好ましくは1:1またはそれ未満、よりいっそう好ましくは0.5:1またはそれ未満のE:T比において観察される場合に、高いとみなされる。

20

【0088】

「EC₅₀」とも呼ばれる「最大半量有効濃度」は、典型的には、特定の暴露時間後にベースラインと最大値との中間の反応を誘発する分子の濃度を指す。EC₅₀値が低ければ低いほど、分子の機能的なアビディティはより高い。EC₅₀値は、例えば、上記される機能アッセイまたは他のELISAもしくはフローサイトメトリーベース殺滅アッセイを使用して、様々な既知の方法により実験的に評価され得る。

30

【0089】

上記されている機能アッセイにおいてEC₅₀を決定するために、抗原提示細胞、例えばT2細胞上にロードされた異なる濃度の抗原ペプチドが「ペプチド滴定実験」において使用される必要がある。ペプチド滴定を伴う例示的なルシフェラーゼ放出アッセイは、方法セクションにおいて記載されており、実施例1において行われている。特定の実施形態では、「EC₅₀」は、標的細胞、特に、CT45抗原ペプチドをロードされたT2細胞が、上記に定義されているルシフェラーゼ放出においてエフェクター細胞と共培養された場合に、ベースラインと最大との間の半分の応答を誘導する、前記標的細胞上にロードされた抗原ペプチドの濃度を指す。抗原結合タンパク質の機能的なアビディティは、細胞傷害性アッセイ、好ましくは上記に定義されているルシフェラーゼ放出アッセイにおいて決定されたEC₅₀が、約60nM未満、約50nM未満、約30nM未満、約25nM未満、好ましくは約20nM未満、約15nM未満、約10nM未満、より好ましくは約5nM未満、約2.5nM未満、約1.5nM未満または約1nM未満である場合に、高いとみなされる。

40

【0090】

50

「デキストラマー染色」は、抗原結合タンパク質を発現する細胞を、10個のCT45-I P : MHC複合体を含む蛍光標識された多量体と接触させることを伴う。

【0091】

本発明に関連する「特異性」という用語は、その標的ペプチドを、異なるアミノ酸配列を有するペプチド、例えば、下記に定義されている類似ペプチドから識別する抗原結合タンパク質の能力を表す。抗原結合タンパク質は、標的ペプチドへの結合が、類似ペプチドへの結合よりも有意により高い親和性および/またはより高い機能的なアビディティと共に起こる場合に、標的ペプチドについて特異的であるとみなされる。抗原結合タンパク質の特異性は、アミノ酸配列CDRa1、CDRa3、CDRb1およびCDRb3により決定される。CDRa2およびCDRb2のアミノ酸配列はMHC分子に接触し、抗原特異性のために要求されない。

10

【0092】

本発明に関連して、「類似ペプチド」は、本明細書では、潜在的なオフターゲットペプチドを指しており、即ち、生化学的/生物物理学的特性に基づいて本発明の抗原結合分子が結合する可能性があり得るペプチド(例えば、限定されないが、相同配列または類似モチーフ)を指す。類似ペプチドは、典型的には、8~12個のアミノ酸の長さである。本発明に関連する類似ペプチドは、典型的には、提示されるMHC、特にMHCIである。さらに、本発明に関連する類似ペプチドとして、CT45抗原ペプチドのアミノ酸配列に類似するアミノ酸配列を含むかまたはからなるペプチド、より特に、CT45抗原ペプチドのエピトープと比較して、一部または全てのアミノ酸が、CT45抗原ペプチドのエピトープを構成するアミノ酸と同一および/または類似の生化学的/生物物理学的特性を有するエピトープを含むペプチドが挙げられる。いくつかの実施例では、本発明に関連して調査する類似ペプチドを、CT45-I Pの結合関連位置内での類似性スコアリング、および正常組織での少なくとも1つの検出の要件を使用して、腫瘍および正常組織により提示されたHLA-A*02結合ペプチドのデータベース(XPRESSIDENT(登録商標)データベース)から選択した。MHCタンパク質により提示される類似ペプチドへの抗原結合タンパク質の結合は、有害反応を引き起こす場合がある。そのような有害反応は、Lowdell et al., Cytotherapy, published on December 4, 2018で報告されている特定のTCRと健康組織中の類似ペプチドとの交差反応性等の「オフ腫瘍(off-tumor)」副作用の場合がある。

20

30

【0093】

特に、下記のペプチドは、本発明に関連する類似ペプチドである：配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)。

【0094】

類似ペプチドの中には、検出可能な程度まで本発明の抗原結合タンパク質の結合を受けないいくつかの類似ペプチド、例えば、バックグラウンドレベルを超える機能アッセイにおける結合シグナルまたは応答が検出可能でないペプチドがあることを当業者は認識している。これに関連する「バックグラウンドレベル」は、非相同的な、「非類似」ペプチド、例えばコントロールペプチドNYESO1-001について、またはペプチドの非存在下で観察される機能アッセイにおける結合シグナルまたは応答を指す。

40

【0095】

他の類似ペプチドについて、低いが、有意でない結合が検出可能であってもよい。これらの後者の類似ペプチドもまた、「潜在的に関連する」類似ペプチドとして記載され得る。抗原結合タンパク質は、類似ペプチドおよび標的抗原ペプチドへの結合が、類似の、好ましくは同一の実験条件下で比較された場合に、下記の少なくとも1つが該当する場合に、類似ペプチドに有意に結合しない、およびその標的抗原ペプチドについて特異的である

50

とみなされる：

- 上記されている機能アッセイにおいて決定された、類似ペプチドに応答した機能的なアビディティが、標的抗原ペプチドCT45-IPに応答した機能的なアビディティの25%またはそれ未満、20%またはそれ未満、15%またはそれ未満、10%またはそれ未満である。

- 上記されている細胞傷害性アッセイにおいて決定された、類似ペプチドに応答した細胞傷害活性が、標的抗原ペプチドCT45-IPに応答した細胞傷害活性の25%またはそれ未満、20%またはそれ未満、15%またはそれ未満、10%またはそれ未満である。

- 上記されている機能アッセイ、好ましくは細胞傷害性アッセイにおいて決定された、類似ペプチドのEC₅₀が、標的抗原ペプチドCT45-IPのEC₅₀と比較して、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも200または少なくとも500倍増加している。 10

- 類似ペプチドについてのK_Dが、標的抗原ペプチドCT45-IPについてのK_Dと比較して、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも75、または少なくとも100倍増加している。

【0096】

本明細書に関連して、特定の値を指す場合の「約」という用語は、値が、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%または±1%まで逸脱してもよいことを示すことが意味される。 20

【0097】

抗原結合タンパク質

第1の態様では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、

1) CDRa1は、配列番号14のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号489、好ましくは配列番号519のアミノ酸配列を含み、CDRb1は、配列番号19のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号504のアミノ酸配列を含み、 30

2) CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号490、好ましくは配列番号520のアミノ酸配列を含み、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号505、好ましくは配列番号526のアミノ酸配列を含み、

3) CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号491のアミノ酸配列を含み、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号506、好ましくは配列番号527のアミノ酸配列を含み、 40

4) CDRa1は、配列番号90のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号492のアミノ酸配列を含み、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号507、好ましくは配列番号528のアミノ酸配列を含み、

5) CDRa1は、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDRa3は、配列番号493のアミノ酸配列を含み、CDRb1は、配列番号8のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号508、好ましくは配列番号529のアミノ酸配列を含み、

6) CDRa1は、配列番号53のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR 50

a 3 は、配列番号 494、好ましくは配列番号 521 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 58 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 509、好ましくは配列番号 530 のアミノ酸配列を含み、

7) CDR a 1 は、配列番号 71 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 495 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 75 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 510、好ましくは配列番号 531 のアミノ酸配列を含み、

8) CDR a 1 は、配列番号 99 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 496、好ましくは配列番号 522 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 75 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 511 のアミノ酸配列を含み、

9) CDR a 1 は、配列番号 80 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 497 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 85 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 512、好ましくは配列番号 532 のアミノ酸配列を含み、

10) CDR a 1 は、配列番号 107 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 498、好ましくは配列番号 523 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 112 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 513、好ましくは配列番号 533 のアミノ酸配列を含み、

11) CDR a 1 は、配列番号 125 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 499 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 112 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 514、好ましくは配列番号 534 のアミノ酸配列を含み、

12) CDR a 1 は、配列番号 117 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 500 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 58 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 515、好ましくは配列番号 535 のアミノ酸配列を含み、

13) CDR a 1 は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 501、好ましくは配列番号 524 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 38 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 516、好ましくは配列番号 536 のアミノ酸配列を含み、

14) CDR a 1 は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 502、好ましくは配列番号 525 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 517、好ましくは配列番号 537 のアミノ酸配列を含み、または

15) CDR a 1 は、配列番号 43 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 503 のアミノ酸配列を含み、CDR b 1 は、配列番号 48 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 518、好ましくは配列番号 538 のアミノ酸配列を含み、

抗原結合タンパク質は、1、2 または 3 個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 CDR a 1、CDR a 3、CDR b 1 および CDR b 3 配列を含む、
抗原結合タンパク質に関する。

【0098】

CDR a 3 および CDR b 3 に含まれる上記のアミノ酸配列は CDR a 3 および CDR b 3 の中心アミノ酸（本明細書において「CDR 3 コア」とも称される）である。本発明者らは、CDR 3 配列内で、抗原ペプチドへの特異的結合に最も関連するアミノ酸を含むコア配列が定義可能であり、CDR 3 コアの外側のアミノ酸は抗原ペプチドへの特異的結合にあまり関連しないことを見出した（データ示さず）。CDR 3 コアは CDR 3 の中心の 8 アミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、CDR 3 コアは、特に CDR 3 配列が 12 アミノ酸以下である場合に、CDR 3 の中心の 8 アミノ酸からなる。12 アミノ酸より

10

20

30

40

50

も長いCDR3配列の場合、CDR3コアは、さらなるアミノ酸、特に中心の9～13アミノ酸を含んでもよい。

【0099】

実施形態1(15個の内)として本明細書に記載される全ての実施形態は、好ましくは、他の実施形態1(15個の内)と組み合わせられる。同様に、それぞれ実施形態2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14または15(15個の内)として本明細書に記載される全ての実施形態は、好ましくは、それぞれ他の実施形態2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14または15(15個の内)と組み合わせられる。例えば、実施形態1(15個の内)のCDR1およびCDR3配列は、好ましくは、実施形態1(15個の内)のCDR2配列と組み合わせられる。

10

【0100】

好ましい実施形態では、

1) CDRa3は、配列番号16のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号21のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

2) CDRa3は、配列番号133のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号136のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

3) CDRa3は、配列番号63のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号68のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

4) CDRa3は、配列番号92のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号96のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

20

5) CDRa3は、配列番号4のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号10のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

6) CDRa3は、配列番号55のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号60のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

7) CDRa3は、配列番号72のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号77のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

8) CDRa3は、配列番号101のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号104のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

9) CDRa3は、配列番号82のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号87のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

30

10) CDRa3は、配列番号109のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号114のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

11) CDRa3は、配列番号127のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号130のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、または

12) CDRa3は、配列番号119のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号122のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

13) CDRa3は、配列番号35のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号40のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

14) CDRa3は、配列番号26のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号31のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、または

40

15) CDRa3は、配列番号45のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDRb3は、配列番号50のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

抗原結合タンパク質は、1、2または3個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記CDRa1、CDRa3、CDRb1およびCDRb3配列を含む。

【0101】

1、2または3個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しないCDRa1、CDRa3、CDRb1およびCDRb3配列を含む抗原結合タンパク質は、本明細書では、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3のそれぞれにおいて1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい抗原結合タンパク質を指す。

【0102】

50

抗原結合タンパク質の好ましい実施形態では、

- 1) CDR a 2 は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 20 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 2) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 3) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 67 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 4) CDR a 2 は、配列番号 91 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 95 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 5) CDR a 2 は、配列番号 3 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 6) CDR a 2 は、配列番号 54 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 7) CDR a 2 は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 8) CDR a 2 は、配列番号 100 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 9) CDR a 2 は、配列番号 81 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 86 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 10) CDR a 2 は、配列番号 108 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 11) CDR a 2 は、配列番号 126 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 12) CDR a 2 は、配列番号 118 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 13) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、
- 14) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または
- 15) CDR a 2 は、配列番号 44 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 49 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

抗原結合タンパク質は、1、2、3または4個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 CDR a 2 および CDR b 2 配列を含む。

【0103】

1、2、3または4個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない CDR a 2 および CDR b 2 配列を含む抗原結合タンパク質は、本明細書では、CDR a 2 および/または CDR b 2 のそれぞれにおいて1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい抗原結合タンパク質を指す。

【0104】

本発明の抗原結合タンパク質の全ての実施形態では、CDR a 1、CDR a 2、CDR a 3、CDR b 1、CDR b 2 および CDR b 3 配列内のアミノ酸突然変異が存在する場合、それは、好ましくはアミノ酸置換、より好ましくは保存的アミノ酸置換である(表1を参照)。CDR 配列は、2個よりも多くの、好ましくは1個よりも多くの、アミノ酸突然変異を含まないことが好ましい。アミノ酸突然変異が存在する場合、それは、それぞれの CDR 配列の最初または最後の位置にあることがさらに好ましい。最も好ましい実施形態では、CDR 配列はいかなるアミノ酸突然変異も含まない。

【0105】

既知のアミノ酸配列中への突然変異の導入は、当該技術分野において周知の標準的な手順であり、当業者にとってルーチンの作業である。それぞれの方法は、当該分野において既知である(例えば2007年以來の Stratagene の Quick Change S

ite Directed Mutagenesis Kit)。当業者は、そのため、特定の突然変異、例えば置換を、一般にアミノ酸配列中におよび特にCDR配列中に導入することが非常に十分に可能である。

【0106】

その標的への結合についてのCDRの変異体のスクリーニングもまた、当業者により応用される標準的な手順である。本出願は、CT45-IPペプチドへの本発明の抗原結合タンパク質の結合を決定するためのサイトカイン産生およびルシフェラーゼ放出アッセイを含む、機能アッセイに言及する。CT45-IPペプチドへの本発明の抗原結合タンパク質の結合はまた、デキストラマー染色により決定され得る。

【0107】

CDR中のアミノ酸突然変異のアウトカムは容易に予測可能でないことがあるが、当業者は、過度の負担なしに複数の突然変異体を生成およびスクリーニングすることが十分に可能である。当業者は、そのため、CDR内に1、2または3個のアミノ酸突然変異を有する抗原結合タンパク質を生成し、その後、表3のCDR配列を含む抗原結合タンパク質と同じ結合特性を有する抗原結合タンパク質を同定することができる。

【0108】

好ましい実施形態では、1または2個よりも多くのアミノ酸突然変異、好ましくは1個よりも多くのアミノ酸突然変異、より好ましくは1個よりも多くのアミノ酸置換、最も好ましくは1個よりも多くの保存的アミノ酸置換は、CDRa3および/またはCDRb3の中心の8アミノ酸内、即ちCDR3コア内に含まれない。CDR3が12個よりも多くのアミノ酸を含む場合、1または2個よりも多くのアミノ酸突然変異、好ましくは1個よりも多くのアミノ酸突然変異、より好ましくは1個よりも多くのアミノ酸置換、最も好ましくは1個よりも多くの保存的アミノ酸置換は、CDRa3および/またはCDRb3の中心の9~13アミノ酸内、即ちCDR3コアマックス(CDR3 core max)内に含まれないことがよりいっそう好ましい(表3)。

【0109】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、例えば、抗原結合タンパク質を発現する細胞(抗原結合タンパク質が膜結合型である場合)、好ましくはリンパ球、より好ましくはT細胞またはNK細胞、より好ましくはT細胞において、免疫応答を誘導する。いくつかの実施形態では、免疫応答はまた、本発明の抗原結合タンパク質により動員される細胞において誘導されてもよい(抗原結合タンパク質が、例えばT細胞またはNK細胞に結合し、それにより該細胞を動員することが可能な可溶性の、二重特異性抗原結合タンパク質である場合)。好ましくは、免疫応答は、インターフェロン(IFN)および/または腫瘍壊死因子(TNF)の産生の増加によりキャラクタリゼーションされる。免疫応答は、好ましくは、CT45抗原ペプチドとMHCタンパク質との複合体を表面上に提示する腫瘍細胞に対するものである。

【0110】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、CT45抗原ペプチドとMHCタンパク質との複合体に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、CT45抗原ペプチドは、配列番号138からなる。いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、MHCタンパク質との複合体の配列番号138のアミノ酸配列に特異的に結合する。

【0111】

本発明の全ての態様では、CT45抗原ペプチドは、MHCクラスIHLAタンパク質、例えばHLA-A、HLA-BまたはHLA-C、好ましくはHLA-A、より好ましくはHLA-A*02との複合体中に存在することが好ましい。

【0112】

本発明の抗原結合タンパク質は、高い安定性、CT45-IP抗原ペプチドについての高い親和性、CT45-IP抗原ペプチドについての高い機能的なアビディティ、CT45-IP抗原ペプチドを提示する腫瘍細胞の殺滅における高い有効性および/またはCT45-IP抗原ペプチドについての高い特異性によりキャラクタリゼーションされる。

10

20

30

40

50

【0113】

本発明の抗原結合タンパク質は、増加した安定性、増加した結合親和性、増加した機能的なアビディティ、増加した有効性および/または増加した特異性、好ましくは、類似の、好ましくは同一の実験条件下で測定された場合に参照タンパク質と比較して増加した結合親和性、増加した機能的なアビディティ、増加した有効性および/または増加した特異性を有する。

【0114】

「参照タンパク質」は、本明細書では、本発明の抗原結合タンパク質が比較されるタンパク質を指す。本発明の抗原結合タンパク質と参照タンパク質との比較は、好ましくは並行して、同様の（好ましくは同一の）実験条件下で行われる。比較されるパラメータに依存して、そのような参照タンパク質は、例えば、本発明に関連して定義されているCDR配列を含まないCT45抗原ペプチドに結合するTCR、CT45に由来する異なる抗原ペプチドに結合するTCR、または無関連の抗原ペプチド、例えば抗原ペプチドNYES01-001（配列番号188）に結合するTCRであってもよい。参照タンパク質は、好ましくは、比較される抗原結合タンパク質と同じフォーマットである。抗原結合タンパク質がTCRである場合には、好適な参照タンパク質はまた、TCRである。

【0115】

「増加した安定性」は、本明細書では、例えば、同じ実験条件下の参照タンパク質と比較して増加した抗原結合タンパク質の発現レベルを指す。本発明の抗原結合タンパク質は、高い発現レベル、特に、類似の、好ましくは同一の実験条件下で測定された場合に参照タンパク質と比較して増加した発現レベルを有する。本発明者らは、実施例4において、抗原結合タンパク質はT細胞において高い発現レベルを呈することを示した。抗原結合タンパク質の発現レベルは、例えば、デキストラマー染色により測定され得る。

【0116】

本発明の抗原結合タンパク質は、CT45-IP抗原ペプチドについての高い親和性、特に、類似の、好ましくは同一の実験条件下で測定された場合に参照タンパク質と比較して増加した親和性を有する。

【0117】

本発明の抗原結合タンパク質は、CT45-IP抗原ペプチドについての高い機能的なアビディティ、特に、類似の、好ましくは同一の実験条件下で測定された場合に参照タンパク質と比較して増加した機能的なアビディティを有する。本発明者らは、実施例1において、抗原結合タンパク質はCT45-IP抗原ペプチドについての高い機能的なアビディティを呈することを示した。機能的なアビディティは、機能アッセイ、特に、上記されている細胞傷害性アッセイにおいて決定され得る。機能的活性の測定は、ペプチド滴定実験においてEC₅₀を決定することを含むことができる。

【0118】

本発明の抗原結合タンパク質は、CT45-IP抗原ペプチドを提示する腫瘍細胞の殺滅における高い有効性、特に、類似の、好ましくは同一の実験条件下で測定された場合に参照タンパク質と比較して増加した有効性を有する。本発明者らは、実施例5において、抗原結合タンパク質はCT45-IP抗原ペプチドを提示する腫瘍細胞の殺滅における高い有効性を呈することを示した。有効性は、機能アッセイ、特に、上記されている生細胞モニタリング細胞傷害性アッセイにおいて決定され得る。

【0119】

好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質は、CT45-IPの構造エピトープに特異的に結合する。より好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質は、CT45-IPの機能エピトープに特異的に結合する。本発明者らは、本発明の抗原結合タンパク質による結合に関連するCT45-IPの残基を同定するために実験を行った（実施例2、表4）。本発明者らは、配列番号138のアミノ酸3、4、5、6および7位が結合に関連することを同定した。そのため、いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号138の3、4、5、6および7位からなる群から選択される2、3または4箇所のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸位置を含むかまたはからなる機能エピトープに特異的に結合する。抗原結合タンパク質による結合に関連する残基はまた、CT45-IPの「結合モチーフ」とも称され得る。正確なエピトープまたは機能エピトープの決定は、使用された方法および選択されたカットオフ値に依存してわずかに変動し得ることを当業者は認識している。本発明に関連して、エピトープは、上記されている細胞傷害性アッセイ（ルシフェラーゼ放出）において決定されている。実験条件は実施例2においてさらに定義される。

【0120】

少なくとも1つの位置が置換されている、配列番号138に従うアミノ酸配列は、本明細書に関連して「CT45-IP変異型配列」と称される。特に、1つの位置はアラニンに置換される（配列番号139～145）。CT45-IP変異型配列を有するペプチドは、本明細書では、CT45-IP変異型ペプチドとも称される。1つの実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、減少した機能的なアビディティ、特に、配列番号138の3、4、5、6および7位の内の少なくとも1つがアラニンに置換されているCT45-IP変異型ペプチドに対する細胞傷害性アッセイ、より具体的には上記されているルシフェラーゼ放出アッセイにおける減少した細胞傷害活性、特に、CT45-IPについての機能的なアビディティと比較して70%より大きく、80%より大きく、90%より大きくまたは95%より大きく減少した機能的なアビディティを示す。

【0121】

本発明の抗原結合タンパク質は、CT45-IP抗原ペプチドについての高い特異性、特に、類似の、好ましくは同一の実験条件下で測定された場合に参照タンパク質と比較して増加した特異性を有する。本発明者らは、実施例2において、本発明の抗原結合タンパク質は、標的抗原、即ちMHCタンパク質との複合体中のCT45抗原ペプチドと高い特異性と共に結合することを実証している。

【0122】

本発明者らは、例えば、CT45-IPの配列および/またはモチーフに類似しており、そのため、CT45-IPに抗原結合タンパク質が結合するリスクが増加する、潜在的なオフターゲットペプチドを同定した。

【0123】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号146（SP-05-0001）、配列番号147（SP-05-0002）、配列番号148（SP-05-0003）、配列番号149（SP-05-0004）、配列番号150（SP-05-0005）、配列番号151（SP-05-0006）、配列番号152（SP-05-0007）、配列番号153（SP-05-0008）、配列番号154（SP-05-0009）および配列番号155（SP-05-0010）からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号146（SP-05-0001）、配列番号147（SP-05-0002）、配列番号148（SP-05-0003）、配列番号150（SP-05-0005）、配列番号151（SP-05-0006）、配列番号152（SP-05-0007）、配列番号153（SP-05-0008）、配列番号154（SP-05-0009）および配列番号155（SP-05-0010）からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号147（SP-05-0002）、配列番号151（SP-05-0006）、配列番号152（SP-05-0007）および配列番号155（SP-05-0010）からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。

【0124】

好ましい実施形態では、V_AおよびV_Bは、TCR可変ドメイン、特に、TCRアルファ、ベータ、ガンマまたはデルタ可変ドメインである。いくつかの実施形態では、V_Aは

、TCRアルファ、ガンマまたはデルタ可変ドメインであり、かつ V_B は、TCRベータ、ガンマまたはデルタ可変ドメインである。好ましくは、 V_A はTCRアルファ可変ドメインであり、かつ V_B はTCRベータ可変ドメインであるか、または V_A はTCRガンマ可変ドメインであり、かつ V_B はTCRデルタ可変ドメインであるか、または V_A はTCRアルファ可変ドメインであり、かつ V_B はTCRガンマ可変ドメインであるか、または V_A はTCRデルタ可変ドメインであり、かつ V_B はTCRベータ可変ドメインである。好ましい実施形態では、 V_A はTCRアルファ可変ドメインであり、かつ V_B はTCRベータ可変ドメインである。いくつかの実施形態では、 V_A は、TCRアルファ可変ドメインに由来するCDR1およびCDR3および適宜CDR2を含むTCRガンマ可変ドメインであり、かつ/または V_B は、TCRベータ可変ドメインに由来するCDR1およびCDR3および適宜CDR2を含むTCRデルタ可変ドメインである。

10

【0125】

好ましくは、 V_A 内で、

1) FR1 - aは、配列番号539、554もしくは569を含むか、もしくははからなり；

FR2 - aは、配列番号584を含むか、もしくははからなり；

FR3 - aは、配列番号599もしくは614を含むか、もしくははからなり；かつ/もしくは

FR4 - aは、配列番号629を含むか、もしくははからなり；または

2) FR1 - aは、配列番号540、555もしくは570を含むか、もしくははからなり；

20

FR2 - aは、配列番号585を含むか、もしくははからなり；

FR3 - aは、配列番号600もしくは615を含むか、もしくははからなり；かつ/もしくは

FR4 - aは、配列番号630を含むか、もしくははからなり；または

3) FR1 - aは、配列番号541、556もしくは571を含むか、もしくははからなり；

FR2 - aは、配列番号586を含むか、もしくははからなり；

FR3 - aは、配列番号601もしくは616を含むか、もしくははからなり；かつ/もしくは

30

FR4 - aは、配列番号631を含むか、もしくははからなり；または

4) FR1 - aは、配列番号542、557もしくは572を含むか、もしくははからなり；

FR2 - aは、配列番号587を含むか、もしくははからなり；

FR3 - aは、配列番号602もしくは617を含むか、もしくははからなり；かつ/もしくは

FR4 - aは、配列番号632を含むか、もしくははからなり；または

5) FR1 - aは、配列番号543、558もしくは573を含むか、もしくははからなり；

FR2 - aは、配列番号588を含むか、もしくははからなり；

FR3 - aは、配列番号603もしくは618を含むか、もしくははからなり；かつ/もしくは

40

FR4 - aは、配列番号633を含むか、もしくははからなり；または

6) FR1 - aは、配列番号544、559、もしくは574を含むか、もしくははからなり；

FR2 - aは、配列番号589を含むか、もしくははからなり；

FR3 - aは、配列番号604もしくは619を含むか、もしくははからなり；かつ/もしくは

FR4 - aは、配列番号634を含むか、もしくははからなり；または

7) FR1 - aは、配列番号545、560もしくは575を含むか、もしくははからなり

50

り；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 0 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 0 5 もしくは 6 2 0 を含むか、もしくははからなり；かつ
/ もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 3 5 を含むか、もしくははからなり；または

8) FR 1 - a は、配列番号 5 4 6、5 6 1 もしくは 5 7 6 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 1 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 0 6 もしくは 6 2 1 を含むか、もしくははからなり；かつ
/ もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 3 6 を含むか、もしくははからなり；または

9) FR 1 - a は、配列番号 5 4 7、5 6 2 もしくは 5 7 7 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 2 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 0 7 もしくは 6 2 2 を含むか、もしくははからなり；かつ
/ もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 3 7 を含むか、もしくははからなり；または

10) FR 1 - a は、配列番号 5 4 8、5 6 3 もしくは 5 7 8 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 3 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 0 8 もしくは 6 2 3 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 3 8 を含むか、もしくははからなり；

11) FR 1 - a は、配列番号 5 4 9、5 6 4、もしくは 5 7 9 を含むか、もしくははか
らなり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 4 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 0 9 もしくは 6 2 4 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 3 9 を含むか、もしくははからなり；または

12) FR 1 - a は、配列番号 5 5 0、5 6 5 もしくは 5 8 0 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 5 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 1 0 もしくは 6 2 5 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 4 0 を含むか、もしくははからなり；または

13) FR 1 - a は、配列番号 5 5 1、5 6 6 もしくは 5 8 1 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 6 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 1 1 もしくは 6 2 6 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 4 1 を含むか、もしくははからなり；または

14) FR 1 - a は、配列番号 5 5 2、5 6 7 もしくは 5 8 2 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 7 を含むか、もしくははからなり；

FR 3 - a は、配列番号 6 1 2 もしくは 6 2 7 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは

FR 4 - a は、配列番号 6 4 2 を含むか、もしくははからなり；または

15) FR 1 - a は、配列番号 5 5 3、5 6 8 もしくは 5 8 3 を含むか、もしくははから
なり；

FR 2 - a は、配列番号 5 9 8 を含むか、もしくははからなり；

10

20

30

40

50

- FR 2 - b は、配列番号 6 8 3 もしくは 6 9 8 を含むか、もしくははからなり；
FR 3 - b は、配列番号 7 1 3 もしくは 7 2 8 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは
FR 4 - b は、配列番号 7 4 3 を含むか、もしくははからなり；または
1 1) FR 1 - b は、配列番号 6 5 4 もしくは 6 6 9 を含むか、もしくははからなり；
FR 2 - b は、配列番号 6 8 4 もしくは 6 9 9 を含むか、もしくははからなり；
FR 3 - b は、配列番号 7 1 4 もしくは 7 2 9 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは
FR 4 - b は、配列番号 7 4 4 を含むか、もしくははからなり；または
1 2) FR 1 - b は、配列番号 6 5 5 もしくは 6 7 0 を含むか、もしくははからなり； 10
FR 2 - b は、配列番号 6 8 5 もしくは 7 0 0 を含むか、もしくははからなり；
FR 3 - b は、配列番号 7 1 5 もしくは 7 3 0 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは
FR 4 - b は、配列番号 7 4 5 を含むか、もしくははからなり；または
1 3) FR 1 - b は、配列番号 6 5 6 もしくは 6 7 1 を含むか、もしくははからなり；
FR 2 - b は、配列番号 6 8 6 もしくは 7 0 1 を含むか、もしくははからなり；
FR 3 - b は、配列番号 7 1 6 もしくは 7 3 1 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは
FR 4 - b は、配列番号 7 4 6 を含むか、もしくははからなり；または
1 4) FR 1 - b は、配列番号 6 5 7 もしくは 6 7 2 を含むか、もしくははからなり； 20
FR 2 - b は、配列番号 6 8 7 もしくは 7 0 2 を含むか、もしくははからなり；
FR 3 - b は、配列番号 7 1 7 もしくは 7 3 2 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは
FR 4 - b は、配列番号 7 4 7 を含むか、もしくははからなり；または
1 5) FR 1 - b は、配列番号 6 5 8 もしくは 6 7 3 を含むか、もしくははからなり；
FR 2 - b は、配列番号 6 8 8 もしくは 7 0 3 を含むか、もしくははからなり；
FR 3 - b は、配列番号 7 1 8 もしくは 7 3 3 を含むか、もしくははからなり；か
つ / もしくは
FR 4 - b は、配列番号 7 4 8 を含むか、もしくははからなり、
FR 1 - a、FR 2 - a、FR 3 - a、FR 4 - a、FR 1 - b、FR 2 - b、FR 3 30
- b および FR 4 - b のそれぞれは、8、7、6、5、4、3、2 または 1 個のアミノ酸
突然変異を適宜含んでもよい。

【0126】

いくつかの実施形態では、好ましくは、

- 1) FR 1 - a は、配列番号 5 3 9 を含むか、もしくははからなり；
- 2) FR 1 - a は、配列番号 5 4 0 を含むか、もしくははからなり；
- 3) FR 1 - a は、配列番号 5 4 1 を含むか、もしくははからなり；
- 4) FR 1 - a は、配列番号 5 4 2 を含むか、もしくははからなり；
- 5) FR 1 - a は、配列番号 5 4 3 を含むか、もしくははからなり；
- 6) FR 1 - a は、配列番号 5 4 4 を含むか、もしくははからなり； 40
- 7) FR 1 - a は、配列番号 5 4 5 を含むか、もしくははからなり；
- 8) FR 1 - a は、配列番号 5 4 6 を含むか、もしくははからなり；
- 9) FR 1 - a は、配列番号 5 4 7 を含むか、もしくははからなり；
- 1 0) FR 1 - a は、配列番号 5 4 8 を含むか、もしくははからなり；
- 1 1) FR 1 - a は、配列番号 5 4 9 を含むか、もしくははからなり；
- 1 2) FR 1 - a は、配列番号 5 5 0 を含むか、もしくははからなり；
- 1 3) FR 1 - a は、配列番号 5 5 1 を含むか、もしくははからなり；
- 1 4) FR 1 - a は、配列番号 5 5 2 を含むか、もしくははからなり；または
- 1 5) FR 1 - a は、配列番号 5 5 3 を含むか、もしくははからなり、
FR 1 - a、FR 2 - a、FR 3 - a および FR 4 - a のそれぞれは、8、7、6、5 50

、4、3、2または1個のアミノ酸突然変異を適宜含んでもよい。

【0127】

いくつかの実施形態では、好ましくは、

- 1) FR3 - aは、配列番号599の10位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号599を含むか、もしくははからなり；
 - 2) FR3 - aは、配列番号600の11位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号600を含むか、もしくははからなり；
 - 3) FR3 - aは、配列番号601の5位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号601を含むか、もしくははからなり；
 - 4) FR3 - aは、配列番号602の12位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号602を含むか、もしくははからなり；
 - 5) FR3 - aは、配列番号603の22位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号603を含むか、もしくははからなり；
 - 6) FR3 - aは、配列番号604の25位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号604を含むか、もしくははからなり；
 - 7) FR3 - aは、配列番号605の21位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号605を含むか、もしくははからなり；
 - 8) FR3 - aは、配列番号606の18位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号606を含むか、もしくははからなり；
 - 9) FR3 - aは、配列番号607の24位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号607を含むか、もしくははからなり；
 - 10) FR3 - aは、配列番号608の21位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号608を含むか、もしくははからなり；
- ；
- 11) FR3 - aは、配列番号609の7位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号609を含むか、もしくははからなり；
 - 12) FR3 - aは、配列番号610の30位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号610を含むか、もしくははからなり；
- ；
- 13) FR3 - aは、配列番号611の18位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号611を含むか、もしくははからなり；
- ；
- 14) FR3 - aは、配列番号612の19位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号612を含むか、もしくははからなり；
- ；または
- 15) FR3 - aは、配列番号613の23位の外側に8、7、6、5、4、3、2もしくは1個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号613を含むか、もしくははからなる。

【0128】

いくつかの実施形態では、好ましくは、

- 1) FR2 - bは、配列番号674を含むか、もしくははからなり；
- 2) FR2 - bは、配列番号675を含むか、もしくははからなり；
- 3) FR2 - bは、配列番号676を含むか、もしくははからなり；
- 4) FR2 - bは、配列番号677を含むか、もしくははからなり；
- 5) FR2 - bは、配列番号678を含むか、もしくははからなり；
- 6) FR2 - bは、配列番号679を含むか、もしくははからなり；
- 7) FR2 - bは、配列番号680を含むか、もしくははからなり；
- 8) FR2 - bは、配列番号681を含むか、もしくははからなり；
- 9) FR2 - bは、配列番号682を含むか、もしくははからなり；
- 10) FR2 - bは、配列番号683を含むか、もしくははからなり；

- 1 1) F R 2 - b は、配列番号 6 8 4 を含むか、もしくははからなり；
 1 2) F R 2 - b は、配列番号 6 8 5 を含むか、もしくははからなり；
 1 3) F R 2 - b は、配列番号 6 8 6 を含むか、もしくははからなり；
 1 4) F R 2 - b は、配列番号 6 8 7 を含むか、もしくははからなり；または
 1 5) F R 2 - b は、配列番号 6 8 8 を含むか、もしくははからなり、
 F R 1 - b、F R 2 - b、F R 3 - b および F R 4 - b のそれぞれは、6、5、4、3
 、2 または 1 個のアミノ酸突然変異を適宜含んでもよい。

【0129】

いくつかの実施形態では、好ましくは、

- 1) F R 2 - b は、配列番号 6 8 9 の 1 6 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 8 9 を含むか、もしくははからなり；または 10
 2) F R 2 - b は、配列番号 6 9 0 の 1 7 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 0 を含むか、もしくははからなり；
 3) F R 2 - b は、配列番号 6 9 1 の 5 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個の
 アミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 1 を含むか、もしくははからなり；
 4) F R 2 - b は、配列番号 6 9 2 の 1 5 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 2 を含むか、もしくははからなり；
 5) F R 2 - b は、配列番号 6 9 3 の 7 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個の
 アミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 3 を含むか、もしくははからなり；
 6) F R 2 - b は、配列番号 6 9 4 の 1 3 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個 20
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 4 を含むか、もしくははからなり；
 7) F R 2 - b は、配列番号 6 9 5 の 1 1 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 5 を含むか、もしくははからなり；
 8) F R 2 - b は、配列番号 6 9 6 の 1 1 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 6 を含むか、もしくははからなり；
 9) F R 2 - b は、配列番号 6 9 7 の 1 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個の
 アミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 7 を含むか、もしくははからなり；
 10) F R 2 - b は、配列番号 6 9 8 の 1 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 8 を含むか、もしくははからなり；
 11) F R 2 - b は、配列番号 6 9 9 の 1 6 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 30
 個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 6 9 9 を含むか、もしくははからなり；
 12) F R 2 - b は、配列番号 7 0 0 の 7 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 7 0 0 を含むか、もしくははからなり；
 13) F R 2 - b は、配列番号 7 0 1 の 1 1 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1
 個のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 7 0 1 を含むか、もしくははからなり；
 14) F R 2 - b は、配列番号 7 0 2 の 1 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 7 0 2 を含むか、もしくははからなり；または
 15) F R 2 - b は、配列番号 7 0 3 の 7 位の外側に 6、5、4、3、2 もしくは 1 個
 のアミノ酸突然変異を適宜含む、配列番号 7 0 3 を含むか、もしくははからなる。

【0130】

好ましい実施形態では、

- 1) V_A は、配列番号 1 8 9、もしくは配列番号 1 8 9 に対して少なくとも 70%、7
 5%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有し、かつ配
 列番号 1 4 を含む C D R a 1、配列番号 4 8 9 を含む C D R a 3、および適宜、配列番号
 1 5 を含む C D R a 2 を含むアミノ酸配列を含み；かつ V_B は、配列番号 3 3 9、もしく
 は配列番号 3 3 9 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%
 、98% もしくは 99% の同一性を有し、かつ配列番号 1 9 を含む C D R b 1、配列番号
 5 0 4 を含む C D R b 3 および適宜、配列番号 2 0 を含む C D R b 2 を含むアミノ酸配列
 を含み、または

- 2) V_A は、配列番号 1 9 0、もしくは配列番号 1 9 0 に対して少なくとも 70%、7 50

5%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号24を含むCDRa1、配列番号490を含むCDRa3、および適宜、配列番号25を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号340、もしくは配列番号340に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号75を含むCDRb1、配列番号505を含むCDRb3および適宜、配列番号76を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

3) VAは、配列番号191、もしくは配列番号191に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号24を含むCDRa1、配列番号491を含むCDRa3、および適宜、配列番号25を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号341、もしくは配列番号341に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号66を含むCDRb1、配列番号506を含むCDRb3および適宜、配列番号67を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

10

4) VAは、配列番号192、もしくは配列番号192に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号90を含むCDRa1、配列番号492を含むCDRa3、および適宜、配列番号91を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号342、もしくは配列番号342に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号66を含むCDRb1、配列番号507を含むCDRb3および適宜、配列番号95を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

20

5) VAは、配列番号193、もしくは配列番号193に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号2を含むCDRa1、配列番号493を含むCDRa3、および適宜、配列番号3を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号343、もしくは配列番号343に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号8を含むCDRb1、配列番号508を含むCDRb3および適宜、配列番号9を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

30

6) VAは、配列番号194、もしくは配列番号194に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号53を含むCDRa1、配列番号494を含むCDRa3、および適宜、配列番号54を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号344、もしくは配列番号344に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号58を含むCDRb1、配列番号509を含むCDRb3および適宜、配列番号59を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

7) VAは、配列番号195、もしくは配列番号195に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号71を含むCDRa1、配列番号495を含むCDRa3、および適宜、配列番号15を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号345、もしくは配列番号345に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号75を含むCDRb1、配列番号510を含むCDRb3および適宜、配列番号76を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

40

8) VAは、配列番号196、もしくは配列番号196に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号99を含むCDRa1、配列番号496を含むCDRa3、および適宜、配列番号

50

100を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号346、もしくは配列番号346に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号75を含むCDRb1、配列番号511を含むCDRb3および適宜、配列番号76を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

9) VAは、配列番号197、もしくは配列番号197に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号80を含むCDRa1、配列番号497を含むCDRa3、および適宜、配列番号81を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号347、もしくは配列番号347に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号85を含むCDRb1、配列番号512を含むCDRb3および適宜、配列番号86を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

10

10) VAは、配列番号198、もしくは配列番号198に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号107を含むCDRa1、配列番号498を含むCDRa3、および適宜、配列番号108を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号348、もしくは配列番号348に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号112を含むCDRb1、配列番号513を含むCDRb3および適宜、配列番号113を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

20

11) VAは、配列番号199、もしくは配列番号199に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号125を含むCDRa1、配列番号499を含むCDRa3、および適宜、配列番号126を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号349、もしくは配列番号349に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号112を含むCDRb1、配列番号514を含むCDRb3および適宜、配列番号113を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

12) VAは、配列番号200、もしくは配列番号200に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号117を含むCDRa1、配列番号500を含むCDRa3、および適宜、配列番号118を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号350、もしくは配列番号350に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号58を含むCDRb1、配列番号515を含むCDRb3および適宜、配列番号59を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

30

13) VAは、配列番号201、もしくは配列番号201に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号24を含むCDRa1、配列番号501を含むCDRa3、および適宜、配列番号25を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号351、もしくは配列番号351に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号38を含むCDRb1、配列番号516を含むCDRb3および適宜、配列番号39を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

40

14) VAは、配列番号202、もしくは配列番号202に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号24を含むCDRa1、配列番号502を含むCDRa3および適宜、配列番号25を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつVBは、配列番号352、もしくは配列番号352に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%

50

、 98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号29を含むCDRb1、配列番号517を含むCDRb3および適宜、配列番号30を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含み、または

15) V_Aは、配列番号203、もしくは配列番号203に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号43を含むCDRa1、配列番号503を含むCDRa3および適宜、配列番号44を含むCDRa2を含むアミノ酸配列を含み；かつV_Bは、配列番号353、もしくは配列番号353に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ配列番号48を含むCDRb1、配列番号518を含むCDRb3および適宜、配列番号49を含むCDRb2を含むアミノ酸配列を含む。

10

【0131】

好ましい実施形態では、

1) V_Aは、配列番号189、249、264もしくは279を含み；かつV_Bは、配列番号339、399、414もしくは429を含み、または

2) V_Aは、配列番号190、250、265もしくは280を含み；かつV_Bは、配列番号340、400、415もしくは430を含み、または

3) V_Aは、配列番号191、251、266もしくは281を含み；かつV_Bは、配列番号341、401、416もしくは431を含み、または

4) V_Aは、配列番号192、252、267もしくは282を含み；かつV_Bは、配列番号342、402、417もしくは432を含み、または

20

5) V_Aは、配列番号193、253、268もしくは283を含み；かつV_Bは、配列番号343、403、418もしくは433を含み、または

6) V_Aは、配列番号194、254、269もしくは284を含み；かつV_Bは、配列番号344、404、419もしくは434を含み、または

7) V_Aは、配列番号195、255、270もしくは285を含み；かつV_Bは、配列番号345、405、420もしくは435を含み、または

8) V_Aは、配列番号196、256、271もしくは286を含み；かつV_Bは、配列番号346、406、421もしくは436を含み、または

9) V_Aは、配列番号197、257、272もしくは287を含み；かつV_Bは、配列番号347、407、422、もしくは437を含み、または

30

10) V_Aは、配列番号198、258、273もしくは288を含み；かつV_Bは、配列番号348、408、423もしくは438を含み、または

11) V_Aは、配列番号199、259、274もしくは289を含み；かつV_Bは、配列番号349、409、424もしくは439を含み、または

12) V_Aは、配列番号200、260、275もしくは290を含み；かつV_Bは、配列番号350、410、425もしくは440を含み、または

13) V_Aは、配列番号201、261、276もしくは291を含み；かつV_Bは、配列番号351、411、426もしくは441を含み、または

14) V_Aは、配列番号202、262、277もしくは292を含み；かつV_Bは、配列番号352、412、427もしくは442を含み、または

40

15) V_Aは、配列番号203、263、278もしくは293を含み；かつV_Bは、配列番号353、413、428もしくは443を含む。

【0132】

いくつかの実施形態では、

1) V_Aは配列番号189を含み；かつV_Bは配列番号414を含み、または

2) V_Aは配列番号190を含み；かつV_Bは配列番号415を含み、または

3) V_Aは配列番号191を含み；かつV_Bは配列番号416を含み、または

4) V_Aは配列番号192を含み；かつV_Bは配列番号417を含み、または

5) V_Aは配列番号193を含み；かつV_Bは配列番号418を含み、または

50

- 6) V_A は配列番号 194 を含み；かつ V_B は配列番号 419 を含み、または
 7) V_A は配列番号 195 を含み；かつ V_B は配列番号 420 を含み、または
 8) V_A は配列番号 196 を含み；かつ V_B は配列番号 421 を含み、または
 9) V_A は配列番号 197 を含み；かつ V_B は配列番号 422 を含み、または
 10) V_A は配列番号 198 を含み；かつ V_B は配列番号 423 を含み、または
 11) V_A は配列番号 199 を含み；かつ V_B は配列番号 424 を含み、または
 12) V_A は配列番号 200 を含み；かつ V_B は配列番号 425 を含み、または
 13) V_A は配列番号 201 を含み；かつ V_B は配列番号 426 を含み、または
 14) V_A は配列番号 202 を含み；かつ V_B は配列番号 427 を含み、または
 15) V_A は配列番号 203 を含み；かつ V_B は配列番号 428 を含む。

10

【0133】

V_A は、好ましくは、配列番号 13、132、62、89、1、52、70、98、79、106、124、116、34、23、および 42 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 13、132、62、89、1、52、70、98、79、106、124、116、34、23、および 42 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有し、かつ、CDRa1、CDRa2 および CDRa3 配列が、1、2 もしくは 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されている CDRa1、CDRa2 および CDRa3 を含むアミノ酸配列を含むか、またはからなる。 V_B は、好ましくは、配列番号 18、135、65、94、7、57、74、103、84、111、129、121、37、28 および 47 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 18、135、65、94、7、57、74、103、84、111、129、121、37、28 および 47 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有し、かつ、CDRb1、CDRb2 および CDRb3 配列が、1、2 もしくは 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されている CDRa1、CDRa2 および CDRa3 を含むアミノ酸配列を含むか、またはからなる。

20

【0134】

本発明の抗原結合タンパク質のアミノ酸配列、および対応する DNA 配列において、それぞれ改変および変更を行ない得、それでも尚、望ましい特性を有する機能的な抗原結合タンパク質またはポリペプチドを得ることができる。

30

【0135】

好ましい実施形態では、

1) V_A は、配列番号 13 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 13 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 18 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 18 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

2) V_A は、配列番号 132 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 132 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 135 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 135 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

40

3) V_A は、配列番号 62 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 62 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 65 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 65 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははから

50

性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつV_Bは、配列番号121のアミノ酸配列、もしくは配列番号121に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

13) V_Aは、配列番号34のアミノ酸配列、もしくは配列番号34に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつV_Bは、配列番号37のアミノ酸配列、もしくは配列番号37に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

10

14) V_Aは、配列番号23のアミノ酸配列、もしくは配列番号23に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつV_Bは、配列番号28のアミノ酸配列、もしくは配列番号28に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；または

15) V_Aは、配列番号42のアミノ酸配列、もしくは配列番号42に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつV_Bは、配列番号47のアミノ酸配列、もしくは配列番号47に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

20

V_AおよびV_Bは、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。

【0136】

好ましい実施形態では、

1) V_Aは、配列番号13、204、219もしくは234を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号18、354、369もしくは384を含むか、もしくははからなり、または

30

2) V_Aは、配列番号132、205、220もしくは235を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号135、355、370もしくは385を含むか、もしくははからなり、または

3) V_Aは、配列番号62、206、221もしくは236を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号65、356、371もしくは386を含むか、もしくははからなり、または

4) V_Aは、配列番号89、207、222もしくは237を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号94、357、372もしくは387を含むか、もしくははからなり、または

5) V_Aは、配列番号1、208、223もしくは238を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号7、358、373もしくは388を含むか、もしくははからなり、または

40

6) V_Aは、配列番号52、209、224もしくは239を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号57、359、374もしくは389を含むか、もしくははからなり、または

7) V_Aは、配列番号70、210、225もしくは240を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号74、360、375もしくは390を含むか、もしくははからなり、または

8) V_Aは、配列番号198、211、226もしくは241を含むか、もしくははからなり；かつV_Bは、配列番号103、361、376もしくは391を含むか、もしくはは

50

からなり、または

9) V_A は、配列番号 79、212、227 もしくは 242 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 84、362、377、もしくは 392 を含むか、もしくははからなり、または

10) V_A は、配列番号 106、213、228 もしくは 243 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 111、363、378 もしくは 393 を含むか、もしくははからなり、または

11) V_A は、配列番号 124、214、229 もしくは 244 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 129、364、379 もしくは 394 を含むか、もしくははからなり、または

10

12) V_A は、配列番号 116、215、230 もしくは 245 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 121、365、380 もしくは 395 を含むか、もしくははからなり、または

13) V_A は、配列番号 34、216、231 もしくは 246 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 37、366、381 もしくは 396 を含むか、もしくははからなり、または

14) V_A は、配列番号 23、217、232 もしくは 247 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 28、367、382 もしくは 397 を含むか、もしくははからなり、または

15) V_A は、配列番号 42、218、233 もしくは 248 を含むか、もしくははからなり；かつ V_B は、配列番号 47、368、383 もしくは 398 を含むか、もしくははからなる。

20

【0137】

より好ましくは、

1) V_A は、配列番号 13 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 18 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

2) V_A は、配列番号 132 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 135 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

3) V_A は、配列番号 62 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 65 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

30

4) V_A は、配列番号 89 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 94 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

5) V_A は、配列番号 1 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 7 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

6) V_A は、配列番号 52 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 57 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

7) V_A は、配列番号 70 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 74 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

8) V_A は、配列番号 98 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 103 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

40

9) V_A は、配列番号 79 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 84 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

10) V_A は、配列番号 106 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 111 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

11) V_A は、配列番号 124 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 129 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

12) V_A は、配列番号 116 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 121 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

13) V_A は、配列番号 34 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 37 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

50

14) V_A は、配列番号 23 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 28 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；または

15) V_A は、配列番号 42 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 47 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなる。

【0138】

別の実施形態では、

1) V_A は、配列番号 13 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 369 を含むか、もしくははからなり、または

2) V_A は、配列番号 132 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 370 を含むか、もしくははからなり、または

3) V_A は、配列番号 62 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 371 を含むか、もしくははからなり、または

4) V_A は、配列番号 89 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 372 を含むか、もしくははからなり、または

5) V_A は、配列番号 1 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 373 を含むか、もしくははからなり、または

6) V_A は、配列番号 52 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 374 を含むか、もしくははからなり、または

7) V_A は、配列番号 70 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 375 を含むか、もしくははからなり、または

8) V_A は、配列番号 198 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 376 を含むか、もしくははからなり、または

9) V_A は、配列番号 79 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 377 を含むか、もしくははからなり、または

10) V_A は、配列番号 106 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 378 を含むか、もしくははからなり、または

11) V_A は、配列番号 124 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 379 を含むか、もしくははからなり、または

12) V_A は、配列番号 116 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 380 を含むか、もしくははからなり、または

13) V_A は、配列番号 34 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 381 を含むか、もしくははからなり、または

14) V_A は、配列番号 23 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 382 を含むか、もしくははからなり、または

15) V_A は、配列番号 42 を含むか、もしくははからなり、かつ V_B は、配列番号 383 を含むか、もしくははからなる。

【0139】

抗原結合タンパク質は、一価または多価、例えば四価、三価もしくは二価であってもよい。

【0140】

抗原結合タンパク質は、単一特異性または多重特異性、例えば四重特異性、三重特異性もしくは二重特異性である。

【0141】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、可溶性タンパク質である。

【0142】

本発明の抗原結合タンパク質では、第1および第2のポリペプチドは、単一のポリペプチド鎖に含まれ得る。そのような一本鎖コンストラクトは、例えば、一本鎖 TCR (s c TCR) または一本鎖二重特異性抗原結合タンパク質、特に一本鎖二重特異性 TCR、もしくは一本鎖二重特異性 TCR - 抗体分子であってもよい。

【0143】

10

20

30

40

50

第1および第2のポリペプチドは2つのポリペプチド鎖に含まれること、即ち、 V_A は第1のポリペプチド鎖に含まれ、かつ V_B は第2のポリペプチド鎖に含まれることが好ましい。

【0144】

抗原結合タンパク質はTCRであることが好ましい。TCRは、 α / β TCR、 γ / δ TCR、一本鎖TCR、膜結合型TCR、可溶性TCR、一価、二価もしくは多価TCR、単一特異性、二重特異性もしくは多重特異性TCR、TCRの機能的断片、TCRの機能的断片を含む融合タンパク質またはTCRの機能的断片を含むキメラタンパク質からなる群から選択されてもよい。好ましい実施形態では、TCRは、 α / β TCRまたは γ / δ TCR、好ましくは α / β TCRである。本発明に関連して、抗原結合タンパク質は好ましくはTCRであると記載される場合は常に、これは、最も好ましくは、抗原結合タンパク質は、 α / β TCRまたは γ / δ TCR、好ましくは α / β TCRであることをさらに含意する。1つの実施形態では、TCR定常ドメイン配列は、任意の好適な種、例えば任意の哺乳動物、例えば、ヒト、ラット、サル、ウサギ、ロバ、またはマウス、好ましくはヒトまたはマウス、より好ましくはヒトに由来してもよい。1つの実施形態では、TCRは、 α TCRであり、かつ配列番号5、750、751または156、好ましくは配列番号5、750または751の鎖定常ドメイン(TRAC)配列、および配列番号11、32または157、好ましくは配列番号11または32の鎖定常ドメイン(TRBC1またはTRBC2)配列を含む。

【0145】

好ましくは、第1のポリペプチドは、配列番号17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46および158~172からなる群から選択される、好ましくは配列番号17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27および46からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46もしくは158~172に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ、CDRa1、CDRa2およびCDRa3配列が、1、2もしくは3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されているCDRa1、CDRa2およびCDRa3を含むアミノ酸配列を含むか、またははからなり；かつ第2のポリペプチドは、配列番号22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33、51および173~187からなる群から選択される、好ましくは配列番号22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33および51からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33、51もしくは173~187に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつ、CDRb1、CDRb2およびCDRb3配列が、1、2もしくは3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されているCDRa1、CDRa2およびCDRa3を含むアミノ酸配列を含むか、またははからなる。

【0146】

より好ましくは、第1のポリペプチドは、配列番号17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46および158~172からなる群から選択される、好ましくは配列番号17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27および46からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46、もしくは158~172に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつアミノ酸突然変異を有しない本発明の抗原結合タンパク質に

10

20

30

40

50

関連して定義されているCDRa1、CDRa2およびCDRa3を含むアミノ酸配列を含むか、またはからなり；かつ第2のポリペプチドは、配列番号22、137、69、97、12、61、78 105、88、115、131、123、41、33、51および173～187からなる群から選択される、好ましくは配列番号22、137、69、97、12、61、78 105、88、115、131、123、41、33および51からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号22、137、69、97、12、61、78 105、88、115、131、123、41、33、51もしくは173～187に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有し、かつアミノ酸突然変異を有しない本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されているCDRa1、CDRa2およびCDRa3を含むアミノ酸配列を含むか、またはからなる。

【0147】

好ましい実施形態では、

1) 第1のポリペプチドは、配列番号17のアミノ酸配列、もしくは配列番号17に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号22のアミノ酸配列、もしくは配列番号22に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり；

2) 第1のポリペプチドは、配列番号134のアミノ酸配列、もしくは配列番号134に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号137のアミノ酸配列、もしくは配列番号137に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり；

3) 第1のポリペプチドは、配列番号64のアミノ酸配列、もしくは配列番号64に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号69のアミノ酸配列、もしくは配列番号69に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり；

4) 第1のポリペプチドは、配列番号93のアミノ酸配列、もしくは配列番号93に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号97のアミノ酸配列、もしくは配列番号97に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり；

5) 第1のポリペプチドは、配列番号6のアミノ酸配列、もしくは配列番号6に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号12のアミノ酸配列、もしくは配列番号12に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり；

6) 第1のポリペプチドは、配列番号56のアミノ酸配列、もしくは配列番号56に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号61のアミノ酸配列、もしくは配列番号61に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり；

7) 第1のポリペプチドは、配列番号73のアミノ酸配列、もしくは配列番号73に対

ドは、配列番号 51 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 51 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり；

第 1 および第 2 のポリペプチドは、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されている CDR 配列を含み、CDR 配列は、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。

【0148】

好ましい実施形態では、

1) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 17、294、309 もしくは 324 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 22、444、459 もしくは 474 を含むか、もしくははからなり； 10

2) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 134、295、310 もしくは 325 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 137、445、460 もしくは 475 を含むか、もしくははからなり；

3) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 64、296、311 もしくは 326 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 69、446、461 もしくは 476 を含むか、もしくははからなり；

4) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 93、297、312 もしくは 327 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 97、447、462 もしくは 477 を含むか、もしくははからなり； 20

5) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 6、298、313 もしくは 328 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 12、448、463 もしくは 478 を含むか、もしくははからなり；

6) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 56、299、314 もしくは 329 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 61、449、464 もしくは 479 を含むか、もしくははからなり；

7) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 73、300、315 もしくは 330 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 78、450、465 もしくは 480 を含むか、もしくははからなり；

8) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 102、301、316 もしくは 331 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 105、451、466 もしくは 481 を含むか、もしくははからなり； 30

9) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 83、302、317 もしくは 332 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 88、452、467 もしくは 482 を含むか、もしくははからなり；

10) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 110、303、318 もしくは 333 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 115、453、468 もしくは 483 を含むか、もしくははからなり；

11) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 128、304、319 もしくは 334 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 131、454、469 もしくは 484 を含むか、もしくははからなり； 40

12) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 120、305、320 もしくは 335 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 123、455、470 もしくは 485 を含むか、もしくははからなり；

13) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 36、306、321 もしくは 336 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 41、456、471 もしくは 486 を含むか、もしくははからなり；

14) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 27、307、322 もしくは 337 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 33、457、472 もしくは 487 を含むか、もしくははからなり；または 50

15) 第1のポリペプチドは、配列番号46、308、323もしくは338を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号51、458、473もしくは488を含むか、もしくははからなる。

【0149】

より好ましくは、

1) 第1のポリペプチドは、配列番号17を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号22を含むか、もしくははからなり；

2) 第1のポリペプチドは、配列番号134を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号137を含むか、もしくははからなり；

3) 第1のポリペプチドは、配列番号64を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号69を含むか、もしくははからなり； 10

4) 第1のポリペプチドは、配列番号93を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号97を含むか、もしくははからなり；

5) 第1のポリペプチドは、配列番号6を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号12を含むか、もしくははからなり；

6) 第1のポリペプチドは、配列番号56を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号61を含むか、もしくははからなり；

7) 第1のポリペプチドは、配列番号73を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号78を含むか、もしくははからなり；

8) 第1のポリペプチドは、配列番号102を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号105を含むか、もしくははからなり； 20

9) 第1のポリペプチドは、配列番号83を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号88を含むか、もしくははからなり；

10) 第1のポリペプチドは、配列番号110を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号115を含むか、もしくははからなり；

11) 第1のポリペプチドは、配列番号128を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号131を含むか、もしくははからなり；

12) 第1のポリペプチドは、配列番号120を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号123を含むか、もしくははからなり；

13) 第1のポリペプチドは、配列番号36を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号41を含むか、もしくははからなり； 30

14) 第1のポリペプチドは、配列番号27を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号33を含むか、もしくははからなり；または

15) 第1のポリペプチドは、配列番号46を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号51を含むか、もしくははからなる。

【0150】

他の実施形態では、

1) 第1のポリペプチドは、配列番号17を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号459を含むか、もしくははからなり；

2) 第1のポリペプチドは、配列番号134を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号460を含むか、もしくははからなり； 40

3) 第1のポリペプチドは、配列番号64を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号461を含むか、もしくははからなり；

4) 第1のポリペプチドは、配列番号93を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号462を含むか、もしくははからなり；

5) 第1のポリペプチドは、配列番号6を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号463を含むか、もしくははからなり；

6) 第1のポリペプチドは、配列番号56を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリペプチドは、配列番号464を含むか、もしくははからなり；

7) 第1のポリペプチドは、配列番号73を含むか、もしくははからなり、かつ第2のポリ 50

リペプチドは、配列番号 465 を含むか、もしくははからなり；

8) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 102 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 466 を含むか、もしくははからなり；

9) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 83 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 467 を含むか、もしくははからなり；

10) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 110 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 468 を含むか、もしくははからなり；

11) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 128 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 469 を含むか、もしくははからなり；

12) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 120 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 470 を含むか、もしくははからなり；

13) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 36 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 471 を含むか、もしくははからなり；

14) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 27 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 472 を含むか、もしくははからなり；または

15) 第 1 のポリペプチドは、配列番号 46 を含むか、もしくははからなり、かつ第 2 のポリペプチドは、配列番号 473 を含むか、もしくははからなる。

【0151】

いくつかの好ましい実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、例えば、発現および安定性を増加させ得る異種配列、好ましくはマウス配列の導入により操作されてもよい。同様に、当該技術分野で既知のさらなる安定化突然変異（例えば、国際公開第 2018/104407 号パンフレット、PCT/EP2018/069151、国際公開第 2011/044186 号パンフレット、国際公開第 2014/018863 号パンフレット）、例えば、可変ドメインにおける望ましくないアミノ酸の置き換え、ならびに/または、例えば TCR の定常ドメインの間の、ジスルフィド結合の導入、および不對システインの除去が導入されてもよい。

【0152】

特に、TCR 定常ドメイン配列を切断または置換により改変して、TRAC のエクソン 2 の Cys4 と、TRBC1 または TRBC2 のエクソン 2 の Cys2 との間のネイティブなジスルフィド結合を欠失させ得る。アルファ鎖および/またはデルタ鎖の定常ドメイン配列をまた、TRAC の Thr48 および TRBC1 または TRBC2 の Ser57 のシステイン残基の置換によっても改変し得、前記システインは、TCR のアルファ定常ドメインとベータ定常ドメインとの間にジスルフィド結合を形成する。TRBC1 または TRBC2 は、定常ドメインの 75 位でのシステインからアラニンへの突然変異、および定常ドメインの 89 位でのアスパラギンからアスパラギン酸への突然変異をさらに含み得る。定常ドメインは、さらにまたはあるいは、ネイティブ TRAC および/または TRBC1/2 配列に対するさらなる突然変異、置換、または欠失を含み得る。TRAC および TRBC1/2 という用語は、天然の多型変異体（例えば、TRAC の 4 位での N から K へ）を包含する（Bragado et al Int Immunol. 1994 Feb;6(2):223-30）。

【0153】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、一価または多価、例えば四価、三価もしくは二価である。

【0154】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、二重特異性、特に二重特異性 TCR、二重特異性抗体または二重特異性 TCR-抗体分子である。抗原結合タンパク質が二重特異性「抗体」である場合、抗原結合部位の 1 つは、本発明の抗原結合タンパク質に関連して定義されている TCR 由来 CDR1、CDR3 および適宜 CDR2 配列を含み、他の抗原結合部位は全体が抗体由来であってもよいことを当業者は認識している。

【0155】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は可溶性タンパク質である。いくつかの

実施形態では、抗原結合タンパク質は可溶性TCRである。本明細書で使用される場合、「可溶性TCR」という用語は、例えばジスルフィド結合により連結された、TCR鎖および鎖の細胞外部分を含むが、ネイティブなタンパク質の膜貫通およびサイトゾルドメインを欠いた、ネイティブなTCRのヘテロ二量体切断型変異体を指す。

【0156】

1つの実施形態では、抗原結合タンパク質はヒト起源であり、これは、ヒト遺伝子座から生成され、従ってヒト配列を含むとして理解される。

【0157】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、ヒト化、キメラ化および/またはマウス化されている。

【0158】

一実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、下記：

- (i) 1箇所または複数箇所のさらなる抗原結合部位；
- (ii) 細胞質シグナル伝達領域を含んでもよい膜貫通領域；
- (iii) 診断薬；
- (iv) 治療薬；

の内の1つまたは複数をさらに含む。

【0159】

上記に列挙された成分(i)~(v)が、本発明の抗原結合タンパク質に融合したポリペプチドである場合には、この抗原結合タンパク質は、「TCR融合タンパク質」とも称され得る。

【0160】

さらなる抗原結合部位は、存在する場合、それは、好ましくは、抗体由来である。

【0161】

代替的なドメイン、例えば、内因性の膜貫通領域の代わりに膜アンカードメインを有する、抗原結合タンパク質、特にTCRが本発明により包含される。TCRの発現もしくは安定性および/または鎖対合を向上させるためにTCR可変ドメインまたは定常ドメイン中に点突然変異を有する抗原結合タンパク質、特にTCRもまた包含される。

【0162】

本発明に関連する「膜貫通領域」は、例えば、TCRアルファまたはベータ膜貫通ドメインであり得る。

【0163】

「細胞質シグナル伝達領域」は、例えば、TCRアルファまたはベータ細胞内ドメインであり得る。

【0164】

「診断薬」は、本明細書では、検出可能な分子または物質（例えば、蛍光分子、放射性分子、またはシグナルを生じる（直接的または間接的）ことが当該技術分野で既知のあらゆる他の標識を指す。

【0165】

当該技術分野で既知の「蛍光分子」として、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）、フィコエリトリン（PE）、青色レーザーで使用されるフルオロフォア（例えば、PerCP、PE-Cy7、PE-Cy5、FL3、およびAPCまたはCy5、FL4）、赤色、紫色、またはUVレーザーで使用されるフルオロフォア（例えば、パシフィックブルー、パシフィックオレンジ）が挙げられる。

【0166】

「放射性分子」として、 I^{123} 、 I^{124} 、 In^{111} 、 Re^{186} 、 Re^{188} 、 Tc^{99} 等のシンチグラフィ研究用の放射性原子が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の抗原結合タンパク質はまた、核磁気共鳴（NMR）撮像（磁気共鳴撮像、MRIとしても既知である）用のスピン標識（例えば、ヨウ素-123、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン、または鉄

10

20

30

40

50

)も含み得る。

【0167】

そのような診断薬は、抗原結合タンパク質に直接結合（即ち、物理的に連結）されていてもよいし、間接的に連結されていてもよい。

【0168】

「治療薬」は、本明細書では、治療効果を有する薬剤を指す。治療薬 (therapeutic agent) および治療薬 (therapeutic drug) という用語は、本明細書では互換的に使用される。一実施形態では、治療薬は、細胞傷害剤または放射性同位体等の成長阻害剤であり得る。

【0169】

「成長阻害剤」または「抗増殖剤」（これらは無関係に使用される得る）は、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞（特に腫瘍細胞）の成長を阻害する化合物または組成物を指す。

【0170】

「細胞傷害剤」という用語は、本明細書で使用される場合、細胞の機能を阻害するもしくは予防するおよび/または細胞の破壊を引き起こす物質を指す。「細胞傷害剤」という用語は、化学療法剤、酵素、抗生物質、および毒素（例えば、細菌、真菌、植物、または動物起源の低分子毒素または酵素活性毒素）（これらの断片および/または変異体を含む）、ならびに下記で開示する様々な抗腫瘍剤または抗癌剤を含むことが意図されている。いくつかの実施形態では、細胞毒製剤は、タキソイド、ピンカ、タキサン、メイタンシノイドもしくはメイタンシノイド類似体（例えば、DM1もしくはDM4）、小薬、トマイマイシンもしくはピロロベンゾジアゼピン誘導体、クリプトフィシン誘導体、レプトマイシン誘導体、オーリスタチンもしくはドラスタチン類似体、プロドラッグ、トポイソメラーゼII阻害剤、DNAアルキル化剤、抗チューブリン剤、CC-1065、またはCC-1065類似体である。

【0171】

「放射性同位体」という用語は、癌の処置に適した放射性同位体を含むことが意図されており、例えば、At²¹¹、Bi²¹²、Er¹⁶⁹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、In¹¹¹、P³²、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Sr⁸⁹、およびLuの放射性同位体を含むことが意図されている。そのような放射性同位体は、一般には、主にベータ線を放射する。一実施形態では、放射性同位体は、アルファ放射体同位体であり、より正確には、アルファ線を放射するトリウム227である。

【0172】

いくつかの実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、直接的に、または切断可能なもしくは切断不可能なリンカーを介して、少なくとも1種の成長阻害剤に共有結合している。そのような少なくとも1種の成長阻害剤が結合している抗原結合タンパク質はまた、コンジュゲートとも称され得る。切断可能なリンカーは、細胞内での抗原結合タンパク質からの細胞毒製剤または成長阻害剤の放出を促進する。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、エステラーゼ不安定性リンカー、光不安定性リンカー、またはジスルフィド含有リンカー（例えば、米国特許第5,208,020号を参照されたい）を使用し得る。このリンカーはまた、場合によっては、より良好な耐性をもたらす可能性がある「切断不可能なリンカー」（例えば、SMCCリンカー）でもあり得る。

【0173】

そのようなコンジュゲート（例えば、免疫コンジュゲート）の調製は、国際公開第2004/091668号パンフレット、またはHudecz, F., Methods Mol. Biol. 298: 209-223 (2005) and Kirin et al., Inorg Chem. 44(15): 5405-5415 (2005)（これらの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）で説明されており、当業者は、そのような少なくとも1種の成長阻害剤が結合している本発明の抗原結合タンパク質の調製に転用し得る。

【0174】

10

20

30

40

50

あるいは、本発明の抗原結合タンパク質と、細胞傷害性ポリペプチドまたは増殖阻害性ポリペプチドとを含む融合タンパク質を、組換え技術またはペプチド合成により作製し得る。DNAの長さは、互いに隣接しているコンジュゲートの2つの部分をコードするそれぞれの領域を含んでもよいし、コンジュゲートの所望の特性を破壊しないリンカーペプチドをコードする領域により分離された、コンジュゲートの2つの部分をコードするそれぞれの領域を含んでもよい。

【0175】

本発明の抗原結合タンパク質をまた、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、国際公開第81/01145号パンフレットを参照されたい）を活性抗癌剤（例えば、国際公開第88/07378号パンフレットおよび米国特許第4,975,278号明細書を参照されたい）に変換するプロドラッグ活性化酵素にポリペプチドをコンジュゲートさせることにより、依存性酵素媒介プロドラッグ療法でも使用し得る。

【0176】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号138のアミノ酸1、3および4位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。いくつかの好ましい実施形態では、これらの抗原結合タンパク質は、配列番号138のアミノ酸1、3、4および5位、または1、3、4および6位または1、3、4、5および6位または1、3、4、5、6および7位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。

【0177】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号138のアミノ酸4、6および7位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。いくつかの好ましい実施形態では、これらの抗原結合タンパク質は、配列番号138のアミノ酸1、4、6および7位、または3、4、6および7位または1、3、4、6および7位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。

【0178】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号138のアミノ酸5および7位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。いくつかの好ましい実施形態では、これらの抗原結合タンパク質は、配列番号138のアミノ酸5、6および7位、または3、4、5、6および7位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。

【0179】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号146（SP-05-0001）、配列番号147（SP-05-0002）、配列番号148（SP-05-0003）、配列番号149（SP-05-0004）、配列番号150（SP-05-0005）、配列番号151（SP-05-0006）、配列番号152（SP-05-0007）、配列番号153（SP-05-0008）、配列番号154（SP-05-0009）および配列番号155（SP-05-0010）からなる群の類似ペプチドに有意に結合しない。

【0180】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、配列番号146（SP-05-0001）、配列番号147（SP-05-0002）、配列番号148（SP-05-0003）、配列番号150（SP-05-0005）、配列番号151（SP-05-0006）、配列番号152（SP-05-0007）、配列番号153（SP-05-0008）、配列番号154（SP-05-0009）および配列番号155（SP-05-0010）からなる群の類似ペプチドに有意に結合しない。

【0181】

本発明の抗原結合タンパク質のV_AおよびV_Bに含まれるV領域およびJ領域をコードする遺伝子を表2に列挙する。アノテーションは、参照データベースとしてIMGT/GENE-DB（バージョン：28/11/2019）を使用してGeneData 11

10

20

30

40

50

. 0 . 1 により行った。

【 0 1 8 2 】

いくつかの実施形態では、 V_A は、 $TRAV14$ 、特に $TRAV14/DV4$ によりコードされる V 領域、ならびに配列番号 24 の $CDRa1$ および配列番号 25 の $CDRa2$ を含む。

【 0 1 8 3 】

いくつかの実施形態では、 V_B は、 $TRBV13$ によりコードされる V 領域、ならびに配列番号 75 の $CDRb1$ および配列番号 76 の $CDRb2$ を含む。

【 0 1 8 4 】

いくつかの実施形態では、 V_B は、 $TRBV4-1$ によりコードされる V 領域、ならびに配列番号 58 の $CDRb1$ および配列番号 59 の $CDRb2$ を含む。 10

【 0 1 8 5 】

いくつかの実施形態では、 V_B は、 $TRBV6-1$ によりコードされる V 領域、ならびに配列番号 112 の $CDRb1$ および配列番号 113 の $CDRb2$ を含む。

【 0 1 8 6 】

本発明者らは、本発明の抗原結合タンパク質は、 $CD8+$ T細胞中で発現された場合、抗原提示細胞により MHC 上に提示された $CT45-IP$ への結合で前記 $CD8+$ T細胞を活性化可能であることを示した。

【 0 1 8 7 】

$CD8+$ T細胞の他に、ヘルパー T細胞と称される $CD4+$ T細胞もまた、全ての種類の異なる免疫細胞にエンゲージする協調的に指揮された免疫応答のために決定的である。そのコグネイトペプチド- MHC 複合体との遭遇後の T細胞の完全な活性化のために、それぞれの補助受容体の追加の結合が通常は必要である。 $CD8+$ T細胞の場合、この助けは $CD8$ 補助受容体により提供され、 $CD4+$ T細胞の場合、この助けは $CD4$ 補助受容体により提供される。希少な場合にのみ、 $CD8+$ T細胞に由来する TCR は、 $CD4+$ T細胞に移入された場合に、 $CD4+$ T細胞の活性化をもたらすために十分に強い細胞内シグナル伝達を誘発することができる。 20

【 0 1 8 8 】

本発明者らは、本発明の抗原結合タンパク質のいくつかは、 $CD4+$ T細胞、特に $CD4+CD8-$ T細胞中で発現された場合、抗原提示細胞により MHC 上に提示された $CT45-IP$ への結合で前記 $CD4+CD8-$ T細胞を活性化可能であることを示した（実施例 3、データ示さず）。 30

【 0 1 8 9 】

本発明に関連して、抗原結合タンパク質は、上記に定義されているサイトカイン産生アッセイにおいて、抗原結合タンパク質を発現する T細胞（即ち、エフェクター細胞）が、 $CT45-IP$ 抗原ペプチドを提示する標的細胞との共培養で少なくとも 1つの細胞内サイトカインを産生する場合に、特に、抗原結合タンパク質を発現し、かつ少なくとも 1つの細胞内サイトカインを産生する T細胞の数が、分析された T細胞の集団、例えば $CD4+$ または $CD8+$ T細胞当たりで少なくとも 2%、少なくとも 2.5%、好ましくは少なくとも 3% である場合に、「T細胞を活性化可能である」とみなされる。 40

【 0 1 9 0 】

そのため、いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、 $CD8+$ T細胞、特に $CD8+CD4-$ T細胞、および/または $CD4+$ T細胞、特に $CD4+CD8-$ T細胞を活性化可能である。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質は、 $CD4+$ T細胞、特に $CD4+CD8-$ T細胞を活性化可能である。換言すれば、抗原結合タンパク質、好ましくは TCR は、 $CD8$ から独立して $CD4+$ T細胞を活性化可能である。換言すれば、抗原結合タンパク質、好ましくは TCR は、 $CD8$ の非存在下で $CT45$ 抗原ペプチドと MHC 分子との複合体に結合可能である。最も好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質は、 $CD4+$ T細胞、特に $CD4+CD8-$ T細胞と、 $CD8+$ T細胞、特に $CD8+CD4-$ T細胞との両方を活性化可能である。好ましい 50

実施形態では、抗原結合タンパク質はTCRである。

【0191】

本発明に関連して、抗原結合タンパク質は、上記されている機能的サイトカイン産生アッセイにおいて、サイトカイン産生が、前記CD4+またはCD4- CD8+ T細胞集団の少なくとも2%、少なくとも2.5%、好ましくは少なくとも3%において検出される場合に、T細胞集団を活性化可能であるとみなされる。分泌されるサイトカインは例えばIFN-ガンマおよび/またはTNF-アルファであり得る。

【0192】

CD8+ T細胞由来TCRを介するCD4+ T細胞の活性化は、CD8補助受容体をTCRと共にCD4+細胞に移入することにより増強され得る。本発明者らは、本明細書に記載されるCT45-IP特異的TCRおよびCD8とのCD4+ T細胞の併用トランスフェクションは、CT45-IP提示腫瘍細胞の殺滅を有意に増強することを示した(実施例8、データ示さず)。エンゲージするCD4+ T細胞は、CD8+ T細胞と並んで、細胞免疫療法のために多くの利点をもたらす。CD4+ T細胞は、腫瘍細胞に対する直接的な細胞傷害性を誘発できるだけでなく、他の免疫細胞にエンゲージして、長期持続性の抗腫瘍効果に寄与することができる。このヘルパー機能は、サイトカイン、ケモカインおよび共刺激分子を提供することにより発揮され、細胞傷害性CD8+ T細胞のサポート、エフェクターおよびメモリーT細胞の形成、マクロファージ/樹状細胞の活性化および成熟、樹状細胞のライセンスング(これは次いで有効にCD8+ T細胞を刺激してCD8+ T細胞エフェクターおよびメモリー形成を駆動する)、先天免疫細胞、例えばNK細胞の活性化、メモリーB細胞の形成ならびに多くの他の効果を含む。

【0193】

いくつかの実施形態では、抗原結合タンパク質は、特に一過性発現後に、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、または少なくとも40%の平均発現を有する。TCRの平均発現は、実施例に記載されているTCR表面染色により決定され得る。染色は、当該技術分野において既知の技術により行われ得る。例えば、染色は、特定のV_B抗体(ヒトTCRの場合)、または抗mTCRB抗体(キメラTCRの場合)または標識されたCT45-IP:MHC多量体(例えば四量体もしくはデキストラマー)を使用して行われ得る。そのような染色は、特定の細胞集団を同定するための染色とさらに組み合わせられてもよい。

【0194】

抗原結合タンパク質1

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号14のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号16のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号19のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号21のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質1」とも称される。抗原結合タンパク質1の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号15のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号20のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質1は、配列番号138の1、3、4、5、6および7位からなる群から選択される4、5または6箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特

異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質1を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約15nM未満または約10nM未満である。抗原結合タンパク質1は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質1の好ましい実施形態では、V_Aは、配列番号13のアミノ酸配列、または配列番号13に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつV_Bは、配列番号18のアミノ酸配列、または配列番号18に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；V_AおよびV_Bは、抗原結合タンパク質1について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質1のアルファ鎖可変領域はTRAV38-1によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質1のベータ鎖可変領域はTRBV7-9によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質1は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。
【0195】

抗原結合タンパク質2

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号133のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号136のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質2」とも称される。抗原結合タンパク質2の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号25のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号76のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質2は、配列番号138の3、4、5、6および7位からなる群から選択される3、4または5箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質2を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約15nM未満、約10nM未満または約5nM未満である。抗原結合タンパク質2は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(

S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0 8)、配列番号 1 5 4 (S P - 0 5 - 0 0 0 9) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群から選択される少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5 個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質 2 の好ましい実施形態では、V_A は、配列番号 1 3 2 のアミノ酸配列、または配列番号 1 3 2 に対して少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % もしくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ V_B は、配列番号 1 3 5 のアミノ酸配列、または配列番号 1 3 5 に対して少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 8 % もしくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；V_A および V_B は、抗原結合タンパク質 2 について上記されている C D R 配列を含み、C D R 配列は、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質 2 のアルファ鎖可変領域は T R A V 1 4 / D V 4 によりコードされる、かつ / または抗原結合タンパク質 2 のベータ鎖可変領域は T R B V 1 3 によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質 2 は、C D 8 + T 細胞、特に C D 8 + C D 4 - T 細胞、および / または C D 4 + T 細胞、特に C D 4 + C D 8 - T 細胞を活性化可能である。

10

【 0 1 9 6 】

抗原結合タンパク質 3

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体 (M H C) タンパク質との複合体で存在している C T 4 5 抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、C T 4 5 抗原ペプチドは、配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列 (K I F E M L E G V) を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域 (C D R) C D R a 1、C D R a 2 および C D R a 3 を含む可変ドメイン V_A を含む第 1 のポリペプチドと、C D R b 1、C D R b 2 および C D R b 3 を含む可変ドメイン V_B を含む第 2 のポリペプチドとを含み、C D R a 1 は、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、C D R a 3 は、配列番号 6 3 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、C D R b 1 は、配列番号 6 6 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 6 8 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、C D R a 1、C D R a 3、C D R b 1 および / または C D R b 3 配列は、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記 C D R 配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質 3」とも称される。抗原結合タンパク質 3 の好ましい実施形態では、C D R a 2 は、配列番号 2 5 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ C D R b 2 は、配列番号 6 7 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、C D R a 2 および / または C D R b 2 配列は、1、2、3 または 4 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質 3 は、配列番号 1 3 8 の 3、4、5、6 および 7 位からなる群から選択される 3、4 または 5 箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質 3 を発現する T 細胞による C T 4 5 - I P : M H C 複合体提示細胞、例えば C T 4 5 - I P ロード T 2 細胞の殺滅の誘導についての E C₅₀ は、約 1 5 n M 未満、約 1 0 n M 未満、約 5 n M 未満、約 2 . 5 n M 未満または約 1 . 5 n M 未満である。抗原結合タンパク質 3 は、配列番号 1 4 6 (S P - 0 5 - 0 0 0 1)、配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 4 8 (S P - 0 5 - 0 0 0 3)、配列番号 1 4 9 (S P - 0 5 - 0 0 0 4)、配列番号 1 5 0 (S P - 0 5 - 0 0 0 5)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0 8)、配列番号 1 5 4 (S P - 0 5 - 0 0 0 9) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群から選択される、好ましくは配列番号 1 4 6 (S P - 0 5 - 0 0 0 1)、配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 4 9 (S P - 0 5 - 0 0 0 4)、配列番号 1 5 0 (S P - 0 5 - 0 0 0 5)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0

20

30

40

50

8)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質3の好ましい実施形態では、V_Aは、配列番号62のアミノ酸配列、または配列番号62に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつV_Bは、配列番号65のアミノ酸配列、または配列番号65に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；V_AおよびV_Bは、抗原結合タンパク質3について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質3のアルファ鎖可変領域はTRAV14/DV4によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質3のベータ鎖可変領域はTRBV27によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質3は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

10

【0197】

抗原結合タンパク質4

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号90のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号92のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号96のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質4」とも称される。抗原結合タンパク質4の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号91のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号95のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質4は、配列番号138の3、4、6、7および8位からなる群から選択される3、4または5箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質4を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約25nM未満、約20nM未満、約15nM未満、約10nM未満、約5nM未満、約2.5nM未満または約1.5nM未満である。抗原結合タンパク質1は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される、好ましくは配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、

20

30

40

50

少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質4の好ましい実施形態では、 V_A は、配列番号89のアミノ酸配列、または配列番号89に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ V_B は、配列番号94のアミノ酸配列、または配列番号94に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり； V_A および V_B は、抗原結合タンパク質4について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質4のアルファ鎖可変領域はTRAV3によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質4のベータ鎖可変領域はTRBV6-2によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質4は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

10

【0198】

抗原結合タンパク質5

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメイン V_A を含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメイン V_B を含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号4のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号8のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号10のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質5」とも称される。抗原結合タンパク質5の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号3のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号9のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質5は、配列番号138の3、6、7および8位からなる群から選択される2、3または4箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質5を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約25nM未満、約15nM未満、約10nM未満、約5nM未満、約2.5nM未満、約1.5nM未満または約1nM未満である。抗原結合タンパク質5は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質5の好ましい実施形態では、 V_A は、配列番号1のアミノ酸配列、または配列番号1に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ V_B は、配列番号7のアミノ酸配列、または配列番号7に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり； V_A および V_B は、抗原結合タンパク質5について

20

30

40

50

上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質5のアルファ鎖可変領域はTRAV35によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質5のベータ鎖可変領域はTRBV9によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質5は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

【0199】

抗原結合タンパク質6

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であつて、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号53のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号55のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号58のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号60のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質6」とも称される。抗原結合タンパク質6の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号54のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号59のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質6は、配列番号138の1、3、4および6位からなる群から選択される2、3または4箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質6を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC50は、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約15nM未満、約10nM未満または約5nM未満である。抗原結合タンパク質6は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される、好ましくは配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される、より好ましくは配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質6の好ましい実施形態では、VAは、配列番号52のアミノ酸配列、または配列番号52に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつVBは、配列番号57のアミノ酸配列、または配列番号57に対して少なくとも70%

10

20

30

40

50

、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり； V_A および V_B は、抗原結合タンパク質6について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質6のアルファ鎖可変領域はTRAV12-3によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質6のベータ鎖可変領域はTRBV4-1によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質6は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

【0200】

10

抗原結合タンパク質7

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメイン V_A を含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメイン V_B を含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号71のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号72のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号77のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質7」とも称される。抗原結合タンパク質7の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号15のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号76のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質7は、配列番号138の1、4、6および7位からなる群から選択される3または4箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質7を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についての EC_{50} は、約5nM未満、約2.5nM未満、約1.5nM未満または約1nM未満である。抗原結合タンパク質7は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質7の好ましい実施形態では、 V_A は、配列番号70のアミノ酸配列、または配列番号70に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ V_B は、配列番号74のアミノ酸配列、または配列番号74に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり； V_A および V_B は、抗原結合タンパク質7について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質7のアルファ鎖可変領域はTRAV38-2/DV8によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質7のベータ鎖可変領域はTRBV13によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質

20

30

40

50

7は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

【0201】

抗原結合タンパク質8

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号99のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号101のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号104のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質8」とも称される。抗原結合タンパク質8の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号100のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号76のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質8は、配列番号138の5および7位からなる群から選択される1または2箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質8を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC50は、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約15nM未満、または約10nM未満である。抗原結合タンパク質8は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される、好ましくは配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質8の好ましい実施形態では、VAは、配列番号98のアミノ酸配列、または配列番号98に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつVBは、配列番号103のアミノ酸配列、または配列番号103に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；VAおよびVBは、抗原結合タンパク質8について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質8のアルファ鎖可変領域はTRAV19によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質8のベータ鎖可変領域はTRBV13によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質8は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

10

20

30

40

50

【 0 2 0 2 】

抗原結合タンパク質 9

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体 (M H C) タンパク質との複合体で存在している C T 4 5 抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、 C T 4 5 抗原ペプチドは、配列番号 1 3 8 のアミノ酸配列 (K I F E M L E G V) を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域 (C D R) C D R a 1、 C D R a 2 および C D R a 3 を含む可変ドメイン V_A を含む第 1 のポリペプチドと、 C D R b 1、 C D R b 2 および C D R b 3 を含む可変ドメイン V_B を含む第 2 のポリペプチドとを含み、 C D R a 1 は、配列番号 8 0 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、 C D R a 3 は、配列番号 8 2 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、 C D R b 1 は、配列番号 8 5 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ C D R b 3 は、配列番号 8 7 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、 C D R a 1、 C D R a 3、 C D R b 1 および / または C D R b 3 配列は、 1、 2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記 C D R 配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質 9」とも称される。抗原結合タンパク質 9 の好ましい実施形態では、 C D R a 2 は、配列番号 8 1 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ C D R b 2 は、配列番号 8 6 のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、 C D R a 2 および / または C D R b 2 配列は、 1、 2、 3 または 4 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質 9 は、配列番号 1 3 8 の 1、 3、 4、 5、 6、 7 および 8 位からなる群から選択される 5、 6 または 7 箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質 9 を発現する T 細胞による C T 4 5 - I P : M H C 複合体提示細胞、例えば C T 4 5 - I P ロード T 2 細胞の殺滅の誘導についての E C₅₀ は、約 5 n M 未満、約 2 . 5 n M 未満、約 1 . 5 n M 未満または約 1 n M 未満である。抗原結合タンパク質 9 は、配列番号 1 4 6 (S P - 0 5 - 0 0 0 1)、配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 4 8 (S P - 0 5 - 0 0 0 3)、配列番号 1 4 9 (S P - 0 5 - 0 0 0 4)、配列番号 1 5 0 (S P - 0 5 - 0 0 0 5)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0 8)、配列番号 1 5 4 (S P - 0 5 - 0 0 0 9) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群から選択される、好ましくは配列番号 1 4 6 (S P - 0 5 - 0 0 0 1)、配列番号 1 4 7 (S P - 0 5 - 0 0 0 2)、配列番号 1 4 8 (S P - 0 5 - 0 0 0 3)、配列番号 1 5 0 (S P - 0 5 - 0 0 0 5)、配列番号 1 5 1 (S P - 0 5 - 0 0 0 6)、配列番号 1 5 2 (S P - 0 5 - 0 0 0 7)、配列番号 1 5 3 (S P - 0 5 - 0 0 0 8)、配列番号 1 5 4 (S P - 0 5 - 0 0 0 9) および配列番号 1 5 5 (S P - 0 5 - 0 0 1 0) からなる群から選択される少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5 個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質 9 の好ましい実施形態では、 V_A は、配列番号 7 9 のアミノ酸配列、または配列番号 7 9 に対して少なくとも 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 8 % もしくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ V_B は、配列番号 8 4 のアミノ酸配列、または配列番号 8 4 に対して少なくとも 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 8 % もしくは 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり ; V_A および V_B は、抗原結合タンパク質 9 について上記されている C D R 配列を含み、 C D R 配列は、 1、 2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質 9 のアルファ鎖可変領域は T R A V 5 によりコードされ、かつ / または抗原結合タンパク質 9 のベータ鎖可変領域は T R B V 2 によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質 9 は、 C D 8 + T 細胞、特に C D 8 + C D 4 - T 細胞、および / または C D 4 + T 細胞、特に C D 4 + C D 8 - T 細胞を活性化可能である。

【 0 2 0 3 】

抗原結合タンパク質 1 0

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体（MHC）タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列（KIFEMLEGV）を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域（CDR）CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号107のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号109のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号112のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号114のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質10」とも称される。抗原結合タンパク質10の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号108のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号113のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質10は、配列番号138の5、6および7位からなる群から選択される2または3箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質10を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC50は、約30nM未満、約25nM未満、約20nM未満、約15nM未満または約10nM未満である。抗原結合タンパク質10は、配列番号146（SP-05-0001）、配列番号147（SP-05-0002）、配列番号148（SP-05-0003）、配列番号149（SP-05-0004）、配列番号150（SP-05-0005）、配列番号151（SP-05-0006）、配列番号152（SP-05-0007）、配列番号153（SP-05-0008）、配列番号154（SP-05-0009）および配列番号155（SP-05-0010）からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質10の好ましい実施形態では、VAは、配列番号106のアミノ酸配列、または配列番号106に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつVBは、配列番号111のアミノ酸配列、または配列番号111に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；VAおよびVBは、抗原結合タンパク質10について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質10のアルファ鎖可変領域はTRAV1-2によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質10のベータ鎖可変領域はTRBV6-1によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質10は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

【0204】

抗原結合タンパク質11

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体（MHC）タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列（KIFEMLEGV）を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域（CDR）CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペ

プチドとを含み、CDRa1は、配列番号125のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号127のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号112のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号130のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質11」とも称される。抗原結合タンパク質11の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号126のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号113のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質11は、配列番号138の1、3、4、5、6および8位からなる群から選択される4、5または6箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質11を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約60nM未満である。抗原結合タンパク質11は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質11の好ましい実施形態では、VAは、配列番号124のアミノ酸配列、または配列番号124に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつVBは、配列番号129のアミノ酸配列、または配列番号129に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；VAおよびVBは、抗原結合タンパク質11について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質11のアルファ鎖可変領域はTRAV22によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質11のベータ鎖可変領域はTRBV6-1によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質11は、CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞、および/またはCD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞を活性化可能である。

10

20

30

40

50

【0205】

抗原結合タンパク質12

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインVAを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインVBを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号117のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号119のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号58のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号122のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質12」とも称される。抗原結合タンパク質12の好ましい実

施形態では、CDRa2は、配列番号118のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号59のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質12は、配列番号138の3、4、6および7位からなる群から選択される2、3または4箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質12を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約60nM未満、または約50nM未満である。抗原結合タンパク質12は、配列番号146(SP-05-0001)、配列番号147(SP-05-0002)、配列番号148(SP-05-0003)、配列番号149(SP-05-0004)、配列番号150(SP-05-0005)、配列番号151(SP-05-0006)、配列番号152(SP-05-0007)、配列番号153(SP-05-0008)、配列番号154(SP-05-0009)および配列番号155(SP-05-0010)からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質12の好ましい実施形態では、V_Aは、配列番号116のアミノ酸配列、または配列番号116に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつV_Bは、配列番号121のアミノ酸配列、または配列番号121に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；V_AおよびV_Bは、抗原結合タンパク質12について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質12のアルファ鎖可変領域はTRAV27によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質12のベータ鎖可変領域はTRBV4-1によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質12は、CD8⁺T細胞、特にCD8⁺CD4⁻T細胞、および/またはCD4⁺T細胞、特にCD4⁺CD8⁻T細胞を活性化可能である。

【0206】

抗原結合タンパク質13

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号35のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号38のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号40のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質13」とも称される。抗原結合タンパク質13の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号25のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号39のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質13は、配列番号138の1、3、4、6および7位からなる群から選択される3、4または5箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質13を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばC

T45 - IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約50 nM未満、約30 nM未満、約25 nM未満、約20 nM未満または約15 nM未満である。抗原結合タンパク質13は、配列番号146 (SP-05-0001)、配列番号147 (SP-05-0002)、配列番号148 (SP-05-0003)、配列番号149 (SP-05-0004)、配列番号150 (SP-05-0005)、配列番号151 (SP-05-0006)、配列番号152 (SP-05-0007)、配列番号153 (SP-05-0008)、配列番号154 (SP-05-0009) および配列番号155 (SP-05-0010) からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質13の好ましい実施形態では、V_Aは、配列番号34のアミノ酸配列、または配列番号34に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつV_Bは、配列番号37のアミノ酸配列、または配列番号37に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；V_AおよびV_Bは、抗原結合タンパク質13について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質13のアルファ鎖可変領域はTRAV14/DV4によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質13のベータ鎖可変領域はTRBV19によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質13は、CD8⁺ T細胞、特にCD8⁺ CD4⁻ T細胞、および/またはCD4⁺ T細胞、特にCD4⁺ CD8⁻ T細胞を活性化可能である。

10

20

【0207】

抗原結合タンパク質14

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号26のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号29のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号31のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質14」とも称される。抗原結合タンパク質14の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号25のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号30のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質14は、配列番号138の1、3、4および5位からなる群から選択される2、3または4箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質14を発現するT細胞によるCT45 - IP : MHC複合体提示細胞、例えばCT45 - IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約50 nM未満、約30 nM未満、約25 nM未満または約20 nM未満である。抗原結合タンパク質14は、配列番号146 (SP-05-0001)、配列番号147 (SP-05-0002)、配列番号148 (SP-05-0003)、配列番号149 (SP-05-0004)、配列番号150 (SP-05-0005)、配列番号151 (SP-05-0006)、配列番号152 (SP-05-0007)、配列番号153 (SP-05-0008)、配列

30

40

50

番号154 (SP-05-0009) および配列番号155 (SP-05-0010) からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパク質14の好ましい実施形態では、V_Aは、配列番号23のアミノ酸配列、または配列番号23に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつV_Bは、配列番号28のアミノ酸配列、または配列番号28に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%もしくは99%の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり；V_AおよびV_Bは、抗原結合タンパク質14について上記されているCDR配列を含み、CDR配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質14のアルファ鎖可変領域はTRAV14/DV4によりコードされ、かつ/または抗原結合タンパク質14のベータ鎖可変領域はTRBV11-2によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質14は、CD8⁺ T細胞、特にCD8⁺ CD4⁻ T細胞、および/またはCD4⁺ T細胞、特にCD4⁺ CD8⁻ T細胞を活性化可能である。

10

【0208】

抗原結合タンパク質15

いくつかの実施形態では、本発明は、主要組織適合複合体(MHC)タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列(KIFEMLEGV)を含むか、またはからなり、かつ抗原結合タンパク質は、相補性決定領域(CDR)CDRa1、CDRa2およびCDRa3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDRb1、CDRb2およびCDRb3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、CDRa1は、配列番号43のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa3は、配列番号45のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRb1は、配列番号48のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb3は、配列番号50のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa1、CDRa3、CDRb1および/またはCDRb3配列は、1、2または3個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、抗原結合タンパク質に関する。前記CDR配列を含む抗原結合タンパク質は以下において「抗原結合タンパク質15」とも称される。抗原結合タンパク質15の好ましい実施形態では、CDRa2は、配列番号44のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつCDRb2は、配列番号49のアミノ酸配列を含むか、またはからなり、CDRa2および/またはCDRb2配列は、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい。抗原結合タンパク質15は、配列番号138の1、3、4、5、6および7位からなる群から選択される4、5または6箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する。例えばルシフェラーゼ放出アッセイにおいて測定される、抗原結合タンパク質15を発現するT細胞によるCT45-IP:MHC複合体提示細胞、例えばCT45-IPロードT2細胞の殺滅の誘導についてのEC₅₀は、約50nM未満、約30nM未満、約25nM未満または約20nM未満である。抗原結合タンパク質15は、配列番号146 (SP-05-0001)、配列番号147 (SP-05-0002)、配列番号148 (SP-05-0003)、配列番号149 (SP-05-0004)、配列番号150 (SP-05-0005)、配列番号151 (SP-05-0006)、配列番号152 (SP-05-0007)、配列番号153 (SP-05-0008)、配列番号154 (SP-05-0009) および配列番号155 (SP-05-0010) からなる群から選択される、好ましくは配列番号146 (SP-05-0001)、配列番号147 (SP-05-0002)、配列番号148 (SP-05-0003)、配列番号149 (SP-05-0004)、配列番号151 (SP-05-0006)、配列番号152 (SP-05-0007)、および配列番号155 (SP-05-0010) からなる群から選択される少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない。抗原結合タンパ

20

30

40

50

ク質 15 の好ましい実施形態では、 V_A は、配列番号 42 のアミノ酸配列、または配列番号 42 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ V_B は、配列番号 27 のアミノ酸配列、または配列番号 27 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり； V_A および V_B は、抗原結合タンパク質 15 について上記されている CDR 配列を含み、CDR 配列は、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよく、好ましくはアミノ酸突然変異を含まない。好ましくは、抗原結合タンパク質 15 のアルファ鎖可変領域は TRAV21 によりコードされ、かつ / または抗原結合タンパク質 15 のベータ鎖可変領域は TRBV5-1 によりコードされる。好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質 15 は、CD8+ T 細胞、特に CD8+ CD4- T 細胞、および / または CD4+ T 細胞、特に CD4+ CD8- T 細胞を活性化可能である。

【0209】

本発明はまた、抗原結合タンパク質（特に、TCR）を提示する粒子、および粒子のライブラリ内の前記粒子の包含も含む。そのような粒子として、ファージ、酵母、リボソーム、または哺乳動物細胞が挙げられるが、これらに限定されない。そのような粒子およびライブラリを製造する方法は、当該技術分野で既知である（例えば、国際公開第 2004/044004 号パンフレット；同第 01/48145 号パンフレット，Chervin et al. (2008) J. Immuno. Methods 339.2: 175-184 を参照されたい）。

【0210】

核酸、ベクター、および組換え宿主細胞

本発明の抗原結合タンパク質のポリペプチドは、核酸によりコードされ、インビボ（*in vivo*）、エクスピボ（*ex vivo*）またはインビトロ（*in vitro*）で発現され得る。そのため、第 2 の態様では、本発明は、本発明の第 1 の態様の抗原結合タンパク質をコードする 1 つまたは複数の配列を含むか、またはからなる 1 つまたは複数の核酸に関する。

【0211】

核酸は、1 つの核酸分子に含まれてもよく、または 2 つもしくはより多くの核酸分子に分離されてもよく、それぞれの核酸分子は、本発明の第 1 の態様の抗原結合タンパク質をコードする 1 つまたは複数の配列の内の少なくとも 1 つを含む。いくつかの実施形態では、1 つの核酸分子は、本発明の抗原結合タンパク質の 1 つの部分または単量体（例えば本発明の TCR の 2 つの鎖の内の 1 つ）をコードし、かつ別の核酸分子は、本発明の抗原結合タンパク質の別の部分または単量体（例えば TCR の 2 つの鎖の内の他方）をコードする。いくつかの実施形態では、核酸は、2 つまたはより多くの抗原結合タンパク質ポリペプチド鎖、例えば、少なくとも 2 つの TCR 鎖をコードする。複数の抗原結合タンパク質ポリペプチド鎖をコードする核酸は、少なくとも 2 つの鎖配列の間の核酸切断部位を含むことができ、転写もしくは翻訳開始部位、例えば 2 つもしくはより多くの鎖配列の間の内部リボソーム進入部位（IRES）をコードすることができ、かつ / または 2 つもしくはより多くの抗原結合タンパク質鎖の間のタンパク質分解標的部位をコードすることができる。2 つまたはより多くの抗原結合タンパク質ポリペプチド鎖が 1 つの核酸分子上にコードされる場合、2 つまたはより多くの抗原結合タンパク質ポリペプチド鎖は、同じプロモーターの制御下または別々のプロモーターの制御下にあることができる。

【0212】

「核酸」という用語は、本発明に関連して、デオキシリボヌクレオチド、またはリボヌクレオチド塩基、または両方の一本鎖または二本鎖のオリゴマーまたはポリマーを指す。ヌクレオチド単量体は、核酸塩基、五炭糖（例えば、限定されないが、リボースまたは 2'-デオキシリボース）、および 1 ~ 3 個のリン酸基で構成されている。典型的には、核酸は、個々のヌクレオチド単量体間のホスホジエステル結合により形成されている。本発明に関連して、核酸という用語は、リボ核酸（RNA）分子およびデオキシリボ核酸（DNA）分子を含むがこれらに限定されず、他の結合を含む核酸の合形成態も含む [例えば

、Nielsen et al. (Science 254:1497-1500, 1991)で説明されているペプチド核酸]。典型的には、核酸は、一本鎖分子または二本鎖分子であり、天然に存在するヌクレオチドで構成されている。核酸の一本鎖の描写は、相補鎖の配列も(少なくとも部分的に)定義する。核酸は、一本鎖であってもよいし二本鎖であってもよいが、または二本鎖配列および一本鎖配列の両方の一部を含んでもよい。例示されている二本鎖核酸分子は、3'または5'オーバーハングを有し得、そのため、その全長にわたり完全な二本鎖である必要はないが、そうであると思われる。核酸という用語は、染色体または染色体セグメント、ベクター(例えば、発現ベクター)、発現カセット、裸のDNAまたはRNAポリマー、プライマー、プローブ、cDNA、ゲノムDNA、組換えDNA、cRNA、mRNA、tRNA、マイクロRNA(miRNA)、または低分子干渉RNA(siRNA)を含む。核酸は、例えば、一本鎖、二本鎖、または三本鎖であり得、任意の特定の長さに限定されない。別途示されない限り、特定の核酸配列は、明示的に示されている任意の配列に加えて、相補配列を含むか、またはコードする。

10

【0213】

好ましい実施形態では、核酸は、単離された核酸である。好ましい実施形態では、核酸は組換え核酸である。

【0214】

核酸は、細胞全体中に存在し得、細胞溶解物中に存在し得、または部分的に精製されているかもしくは実質的に純粋な形態の核酸であり得る。核酸は、標準的な技術により、他の細胞成分または他の夾雑物(例えば、他の細胞核酸またはタンパク質)から精製されている場合に、「単離されている」か、または「実質的に純粋になっている」。

20

【0215】

本開示の核酸分子を、増幅およびRNAの逆転写の方法が挙げられるがこれらに限定されない標準的な分子生物学的技術を使用し得ることができる。例えば可変鎖をコードするDNA断片が得られると、このDNA断片を、標準的な組換えDNA技術によりさらに操作して、例えば可変領域遺伝子を完全長鎖遺伝子へと変換させ得る。この操作では、変異体をコードするDNA断片は、別のDNA分子、または別のタンパク質(例えば、定常領域またはフレキシブルリンカー)をコードする断片に、作動可能に連結されている。「作動可能に連結されている」という用語は、この文脈で使用される場合、例えば、2つのDNA断片によりコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるように、またはタンパク質が所望のプロモーターの制御下で発現されるように、これら2つのDNA断片が機能的に連結されていることを意味することが意図されている。可変コードDNAを、定常領域をコードする別のDNA分子に作動可能に連結することにより、可変領域(例えば、可変アルファ領域および/または可変ベータ領域)をコードする単離DNAを完全長鎖遺伝子へと変換させ得る。例えばTCRまたは抗体に関するヒト定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野で既知であり、この領域を包含するDNA断片を、標準的なPCR増幅により得ることができる。

30

【0216】

典型的には、前記核酸は、1つまたは複数のDNAまたはRNA分子を含み、該分子は、1つまたは複数の好適なベクターに含まれてもよい。

40

【0217】

第3の態様では、本発明は、本発明の第2の態様の核酸を含むベクターまたはベクターの集合体に関する。好ましくは、抗原結合タンパク質をコードする配列は、プロモーター配列に作動可能に連結されている。「ベクターの集合体」は、本明細書では、2つまたはより多くのベクターを指す。2つまたはより多くの抗原結合タンパク質ポリペプチド鎖が1つのベクター上にコードされる場合、2つまたはより多くの抗原結合タンパク質ポリペプチド鎖は、同じプロモーターの制御下または別々のプロモーターの制御下にあることができる。

【0218】

「ベクター」、「クローニングベクター」、および「発現ベクター」という用語は、D

50

NAまたはRNA配列（例えば外来遺伝子）を宿主細胞に導入して、この宿主を形質転換して、導入された配列の発現（例えば、転写および翻訳）を促進し得る媒体を指す。

【0219】

様々な発現ベクターを採用して、抗原結合タンパク質またはその機能的断片をコードするポリヌクレオチドを発現させ得る。ウイルスベースの発現ベクターおよび非ウイルスベースの発現ベクターの両方を使用して、哺乳動物宿主細胞中において、本明細書で説明されている抗原結合タンパク質またはその機能的断片を産生させ得る。非ウイルス性のベクターおよびシステムとして、複数のプラスミド、プラスミド、コスミド、エピソーム、人工染色体、ファージ、またはウイルスベクターが挙げられる。

【0220】

そのようなベクターは、対象への投与時に前記ポリペプチドの発現を引き起こすかまたは誘導するために、調節エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、ターミネーター、および同類のもの）を含み得る。動物細胞用の発現ベクターで使用されるプロモーターおよびエンハンサーの例として、SV40の初期プロモーターおよびエンハンサー（Mizukami T. et al. 1987）、Moloneyマウス白血病ウイルスのLTRプロモーターおよびエンハンサー（Kuwana Y et al. 1987）、抗体重鎖のプロモーター（Mason JO et al. 1985）およびエンハンサー（Gillies SD et al. 1983）、ならびに同類のものが挙げられる。

【0221】

例えば、哺乳動物（例えば、ヒトまたは非ヒト）細胞中における、本明細書で説明されているポリヌクレオチドおよびポリペプチドの発現に有用な非ウイルスベクターとして、タンパク質の発現用に当該技術分野で既知の全ての好適なベクターが挙げられる。プラスミドの他の例として、複製起点を含む複製プラスミド、または組込みプラスミド（例えばpUC、pcDNA、pBR、および同類のもの）が挙げられる。

【0222】

「ウイルスベクター」という用語は、ウイルス起源の少なくとも1つの要素を含み、ウイルスベクター粒子へとパッケージされる能力を有しており、かつ少なくとも外来性核酸をコードする核酸ベクターコンストラクトを指す。ベクターおよび/または粒子を、インビトロまたはインビボのいずれかで細胞に目的の核酸を導入する目的に利用し得る。多数の形態のウイルスベクターが、当該技術分野で既知である。有用なウイルスベクターとして、レトロウイルス、レンチウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルスに基づくベクター、SV40、パピローマウイルス、エプスタイン・バーウイルス、ワクシニアウイルスベクター、およびSemliki Forest virus（SFV）に基づくベクターが挙げられる。組換えウイルスを、当該技術分野で既知の技術により製造し得、例えば、パッケージング細胞をトランスフェクトすることにより製造し得るか、またはヘルパープラスミドもしくはウイルスによる一過性トランスフェクションにより製造し得る。ウイルスパッケージング細胞の典型例として、PA317細胞、PsiCRIP細胞、GPenv+細胞、293細胞等が挙げられる。そのような複製欠損組換えウイルスを製造するための詳細なプロトコルを、例えば、国際公開第95/14785号パンフレット、同第96/22378号パンフレット、米国特許第5,882,877号明細書、同第6,013,516号明細書、同第4,861,719号明細書、同第5,278,056号明細書、および国際公開第94/19478号パンフレットで見出し得る。

【0223】

本明細書に記載される第1のポリペプチドおよび第2のポリペプチドは、同じベクターまたは別々のベクター、即ちベクターの集合物中に存在することができる。

【0224】

第4の態様では、本発明は、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸または本発明の第3の態様のベクターを含む宿主細胞に関する。宿主細胞は、特に本発明に従う核酸および/またはベクターを用いて、トランスフェクト、感染また

10

20

30

40

50

は形質導入または形質転換されてもよい。

【0225】

宿主細胞は、真核細胞、例えば、植物、動物、真菌、もしくは藻類、または原核細胞、例えば、細菌もしくは原生動物であり得る。宿主細胞は、培養された細胞または初代細胞、即ち、生物、例えば、ヒトから直接的に単離された細胞であり得る。宿主細胞は、接着細胞または懸濁された細胞、即ち、懸濁状態で増殖する細胞であり得る。組換え抗原結合タンパク質、例えばTCR、ポリペプチド、またはタンパク質を製造する目的のために、宿主細胞は好ましくは哺乳動物細胞である。最も好ましくは、宿主細胞はヒト細胞である。宿主細胞は任意の細胞タイプであり得、任意のタイプの組織を起源とすることができ、かつ任意の発生ステージであり得るが、宿主細胞は、好ましくは、末梢血白血球(PBL)または末梢血単核細胞(PBMC)である。より好ましくは、宿主細胞は、リンパ球、例えばT細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞である。NK細胞は、ウイルスに感染した細胞および腫瘍細胞を迅速に殺滅することができる天然に存在するリンパ球非T細胞である。NK細胞は、がん療法における細胞療法製造物としての使用のための腫瘍特異的TCRを発現するように操作され得る(Shimasaki et al., Nat Rev Drug Discov. 2020 Mar;19(3):200-218)。好ましい実施形態では、宿主細胞は、T細胞、例えばCD4もしくはCD8陽性T細胞またはT細胞である。T細胞は、任意のT細胞、例えば、培養されたT細胞、例えば、初代T細胞、または培養されたT細胞株、例えば、Jurkat、SupT1等からのT細胞、または哺乳動物から得られたT細胞、好ましくはヒト患者からのT細胞もしくはT細胞前駆体であり得る。哺乳動物から得られる場合、T細胞は、血液、骨髄、リンパ節、胸腺、または他の組織もしくは流体が挙げられるがこれらに限定されない、多数の供給源から得られ得る。T細胞はまた、濃縮または精製され得る。好ましくは、T細胞はヒトT細胞である。より好ましくは、T細胞は、ヒトから単離されたT細胞である。T細胞は、任意のタイプのT細胞であり得、かつ任意の発生ステージであり得、CD4陽性ヘルパーT細胞、例えば、Th1およびTh2細胞、CD8陽性T細胞(例えば、細胞傷害性T細胞)、腫瘍浸潤細胞(TIL)、メモリーT細胞、ナイーブT細胞、ならびにT細胞等が挙げられるがこれらに限定されない。

【0226】

他の好ましい実施形態では、宿主細胞は、組換え発現用の細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞または酵母細胞である(isor)。

【0227】

「形質転換」という用語は、宿主細胞が、導入された遺伝子または配列を発現して、所望の物質(典型的には、本明細書で説明されている抗原結合タンパク質またはその機能的断片)を産生するような、宿主細胞への「外来」(即ち外因性)遺伝子、DNA、またはRNA配列の導入を意味する。導入されたDNAまたはRNAを受け取って発現する宿主細胞は、「形質転換されている」。

【0228】

本発明の核酸を使用して、好適な発現系で本発明の組換え抗原結合タンパク質を産生し得る。「発現系」という用語は、例えば、ベクターにより運ばれて宿主細胞に導入された外来DNAによりコードされるタンパク質の発現のための、好適な条件下での宿主細胞および適合するベクターを意味する。

【0229】

一般的な発現系として、大腸菌(E. coli)宿主細胞およびプラスミドベクター、昆虫宿主細胞およびバキュロウイルス(Baculovirus)ベクター、ならびに哺乳動物宿主細胞およびベクターが挙げられる。宿主細胞の他の例として、原核細胞(例えば細菌)、および真核細胞(例えば、酵母細胞、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞等)が挙げられるが、これらに限定されない。具体例として、大腸菌(E. coli)、クリベロミセス属(Kluyveromyces)またはサッカロマイセス属(Saccharomyces)の酵母、哺乳動物細胞株(例えば、Vero細胞、CHO細胞、3T3細胞、COS細胞、HEK細胞等)、ならびに初代または確立された哺乳動物細胞培養物

(例えば、リンパ芽球、線維芽細胞、胚細胞、上皮細胞、神経細胞、脂肪細胞等から産生されたもの)が挙げられる。例としてまた、マウスSP2/0-Ag14細胞(ATCC CRL1581)、マウスP3X63-Ag8.653細胞(ATCC CRL1580)、ジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子が欠損しているCHO細胞(Ur1aub Getal; 1980)、ラットYB2/3HL.P2.G11.16Ag.20細胞(ATCC CRL1662)、および同類のものも挙げられる。いくつかの実施形態では、YB2/0細胞が好ましい場合があり、なぜならば、この細胞中で発現された場合には、キメラ抗体またはヒト化抗体のADCC活性が増強されるからである。好ましい実施形態では、上記される宿主細胞は、発現システムとして使用される。

【0230】

特に、本発明の抗原結合タンパク質のいくつか、特に、連結されていない2つのポリペプチドを含む抗原結合タンパク質の発現のために、発現ベクターは、第1のポリペプチド、例えばTCRアルファ鎖をコードする遺伝子および第2のポリペプチド、例えばTCRベータ鎖等をコードする遺伝子が別々のベクター上に存在するタイプ、または両方の遺伝子が同じベクター上に存在するタイプ(タンデムタイプ)のいずれかであってもよい。抗原結合タンパク質発現ベクターの構築の容易性、動物細胞中への導入の容易性、ならびに動物細胞中での2つのポリペプチド、例えばTCRアルファおよびベータ鎖の発現レベルの間の均衡の点において、ヒト化抗体に関連して記載されているタンデムタイプの発現ベクターは好ましい(Shitara K et al. J Immunol Methods. 1994 Jan. 3; 167(1-2):271-8)。ヒト化抗体に関連して記載されているタンデムタイプ発現ベクターの例として、pKANTEX93(国際公開第97/10354号パンフレット)、およびpEE18等が挙げられる。

【0231】

一実施形態では、そのような組換え宿主細胞を、本発明の少なくとも1種の抗原結合タンパク質の製造に使用し得る。

【0232】

医薬組成物

第5の態様では、本発明は、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第3の態様のベクターまたは本発明の第4の態様の宿主細胞と、適宜、医薬的に許容される担体とを含む医薬組成物に関する。

【0233】

本発明の抗原結合タンパク質は、CT45-IP抗原ペプチドを提示する細胞に対して細胞傷害性をもたらすことが可能であることが示されている。このペプチドは特に腫瘍細胞により提示されるので、本発明の抗原結合タンパク質は、患者において腫瘍細胞を破壊するために有用である。患者における免疫反応を、理想的には、免疫原性を増強する薬剤(即ち、アジュバント)と組み合わせられた、説明されている抗原結合タンパク質の患者への直接投与により誘発し得る。そのような治療用ワクチン接種により生じる免疫反応は、腫瘍細胞に対して非常に特異的であることが予想され得、なぜならば、ペプチドKIFEMLEGV(配列番号138)は、正常組織上では、同程度のコピー数で提示されないかまたは過剰に提示されないからであり、患者の正常組織細胞に対する望ましくない自己免疫反応のリスクが予防される。

【0234】

本発明はまた、医薬品としての使用のための、本発明に係る抗原結合タンパク質にも関する。本発明はまた、医薬品としての使用のための、本発明の医薬組成物にも関する。

【0235】

「医薬組成物」または「治療用組成物」という用語は、本明細書で使用される場合、対象に適切に投与された場合に所望の治療効果を誘発可能な化合物または組成物を指す。

【0236】

いくつかの実施形態では、対象はまた、患者とも称され得る。

【0237】

10

20

30

40

50

そのような治療用組成物または医薬組成物は、投与様式に適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に許容される製剤との混合物で、本発明の抗原結合タンパク質、または治療薬をさらに含む抗原結合タンパク質の治療上有効な量を含み得る。

【0238】

いくつかの実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、薬学的に許容される担体を通常は含む滅菌医薬組成物の一部として供給される。

【0239】

「薬学的に」または「薬学的に許容される」は、必要に応じて、哺乳動物（特に、ヒト）に投与された場合に、有害反応、アレルギー反応、または他の有害な反応を生じない分子実態および組成物を指す。薬学的に許容される担体は、任意のタイプの非毒性の固体、半固体、または液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、または製剤化補助剤を指す。

10

【0240】

「薬学的に許容される担体」は、生理学的に適合する溶媒、増量剤、安定化剤、分散媒体、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張化剤および吸収遅延剤、および同類のものを含み得る。一実施形態では、担体は、水性担体である。いくつかの実施形態では、水性担体は、本明細書で説明されている抗原結合タンパク質と組み合わせられた場合に、改善された特性（例えば、改善された溶解性、有効性、および/または改善された免疫療法）を付与することが可能である。

【0241】

本発明において有用な医薬的に許容される担体または希釈剤のさらなる例として、安定化剤、例えばSPGA、炭水化物（例えばソルビトール、マンニトール、デンプン、スクロース、グルコース、デキストラン）、タンパク質、例えばアルブミンまたはカゼイン、タンパク質含有剤、例えばウシ血清または脱脂粉乳および緩衝剤（例えばリン酸緩衝剤）が挙げられる。

20

【0242】

医薬組成物の形態、投与経路、投与量、およびレジメンは、当然のことながら、処置する状態、疾病の重症度、患者の年齢、体重、および性別等に依存する。この医薬組成物は、（患者に投与する所望の方法に応じて）任意の好適な形態であり得る。この医薬組成物は、単位剤形で提供され得、一般に、密封容器で提供され得、かつキットの一部として提供され得る。そのようなキットは、通常は（必ずしもではないが）使用説明書を含むだろう。そのようなキットはまた、複数の前記単位剤形を含み得る。

30

【0243】

好ましくは、医薬組成物は、注射により、例えば、静脈内に投与される。医薬組成物が、本発明の抗原結合タンパク質、好ましくはTCRを発現する宿主細胞を含む場合、注射用の細胞のための医薬的に許容される担体は、任意の等張担体、例えば、生理食塩水（水中の約0.90% w/vのNaCl、水中の約300mOsm/LのNaCl、もしくは水1リットル当たり約9.0gのNaCl）、NORMOSOL R電解質溶液（Abbott、Chicago、IL）、PLASMA-LYTE A（Baxter、Deerfield、IL）、水中の約5%のデキストロース、または乳酸リンゲル液等を含んでもよい。一実施形態では、医薬的に許容される担体は、ヒト血清卵白（human serum albumen）を補充される。

40

【0244】

生物学的半減期等の経験による考察は、一般に、投与量の決定に寄与する。投与頻度は、決定されて治療期間中に調整され得、かつがん細胞の数の減少、がん細胞の減少の維持、がん細胞の増殖の減少、またはがん細胞の殺滅に基づいている。あるいは、抗原結合タンパク質の持続的連続放出製剤が適切であり得る。持続放出を達成するための様々な製剤およびデバイスが、当該技術分野で既知である。

【0245】

一実施形態では、抗原結合分子の投与量を、1回または複数回の投与を受けている個体において、経験的に決定し得る。個体に、抗原結合タンパク質の漸増投与量を投与する。

50

抗原結合タンパク質の有効性を評価するために、がん細胞の状態のマーカーを追跡し得る。これには、FACS、他の撮像技術によるがん細胞の増殖および細胞死の直接測定、そのような測定により評価される場合の健康状態の改善、または受け入れられている検査により測定した場合の生活の質の向上、もしくは生存期間の延長が含まれる。投与量が、個体、疾患の段階、ならびに使用されている過去および同時の処置に応じて異なることは、当業者に明らかであるだろう。

【0246】

投与に使用される用量を、様々なパラメータの関数として適合させ得、特に、使用される投与様式の関数として適合させ得るか、関連する病理の関数として適合させ得るか、あるいは所望の処置期間の関数として適合させ得る。

10

【0247】

本発明の医薬組成物、ベクター、核酸、および細胞は、実質的に純粋な形態で提供され得、例えば、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%純粋な形態で提供され得る。

【0248】

抗原結合タンパク質を製造する方法

第6の態様では、本発明は、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質を製造する方法であって、(a)宿主細胞を準備する工程、(b)本発明の第1の態様のいずれかの抗原結合タンパク質をコードするコード配列を含む遺伝子コンストラクトを準備する工程、(c)遺伝子コンストラクトを宿主細胞に導入する工程、および(d)宿主細胞により遺伝子コンストラクトを発現させる工程を含む方法に関する。

20

【0249】

1つの実施形態では、方法は、宿主細胞からの抗原結合タンパク質の単離および精製、ならびに、適宜、宿主細胞、好ましくはリンパ球、より好ましくはT細胞またはNK細胞、最も好ましくはT細胞中での抗原結合タンパク質の再構成をさらに含む。当業者は、抗原結合タンパク質を発現させるための好適な宿主細胞を選択することが完全に可能である。

【0250】

本発明の抗原結合タンパク質を、当該技術分野で既知の任意の技術(例えば、限定されないが、任意の化学的技術、生物学的技術、遺伝学的技術、または酵素的技術の単独または組合せ)により製造し得る。

30

【0251】

本発明の抗原結合タンパク質は、抗体精製手順(例えば、例えば、プロテインA-セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、または親和性クロマトグラフィー)により、培養培地から好適に分離される。

【0252】

一実施形態では、発現された抗原結合タンパク質またはポリペプチドを回収することは、本明細書では、プロテインAクロマトグラフィー、カップセレクトクロマトグラフィー、および/またはサイズ排除クロマトグラフィー、好ましくはプロテインAクロマトグラフィーおよび/またはサイズ排除クロマトグラフィー、より好ましくはプロテインAクロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーを実施することを指す。

40

【0253】

所望の配列のアミノ酸配列を知ることにより、当業者は、ポリペプチドの製造のための標準的な技術により、本発明の抗原結合タンパク質を製造し得る。例えば、このタンパク質を、公知の固相法を使用して、特に、市販のペプチド合成装置(例えば、Applied Biosystems, Foster City, California製のもの)を使用して、かつ製造業者の指示に従って、合成し得る。あるいは、本発明の抗体および抗原結合タンパク質を、当該技術分野で公知の組換えDNAおよび遺伝性トランスフェク

50

ション技術により製造し得る [Morrison S L. et al. (1984) and patent documents US5,202,238; and US5,204,244を参照されたい]。例えば、断片を、所望の (ポリ)ペプチドをコードするDNA配列を発現ベクターに組み込み、そのようなベクターを、所望のポリペプチドを発現する好適な真核生物または原核生物の宿主に導入した後に、DNA発現産物として得ることができ、その後、この断片を、公知の技術を使用して単離し得る。

【0254】

従来の組換えDNAおよび遺伝子のトランスフェクション技術に基づいてヒト化抗体を製造する方法は、当該技術分野で公知であり (例えば、Riechmann L. et al. 1988; Neuberger M S. et al. 1985を参照されたい)、本発明の抗原結合タンパク質の製造に容易に適用し得る。

10

【0255】

一例では、本発明の組換え抗原結合タンパク質の発現用のベクターを、例えば、HCMV由来のプロモーターエレメント、pUC19誘導体により制御されるモノシストロニックとして設計した。プラスミドDNAを、標準的な培養方法に従って例えば大腸菌 (E. coli) 中で増幅させ、その後市販のキット (Macherey & Nagel) を使用して精製した。精製されたプラスミドDNAを、例えば、製造業者の指示に従って、CHO-S細胞の一過性トランスフェクションに使用した (ExpichO (商標) システム; Thermo Fisher Scientific)。トランスフェクトされたCHO細胞を、例えば32 ~ 37 で6 ~ 14日にわたり培養し、ExpichO (商標) Feed溶液の1 ~ 2回の餌を与えた。

20

【0256】

条件付け細胞上清を、例えば、Sartoclear Dynamics (登録商標) Lab Filter Aid (Sartorius) を利用するろ過 (0.22 μm) により清澄化した。二重特異性抗原結合タンパク質を、例えば、親和性クロマトグラフィーおよびサイズ排除クロマトグラフィーをインラインで実施するように装備されたAekta Pure 25 L FPLCシステム (GE Lifesciences) を使用して精製した。親和性クロマトグラフィーを、例えば、標準的な親和性クロマトグラフィープロトコルに従ってプロテインAまたはLカラム (GE Lifesciences) で実施した。例えば、サイズ排除クロマトグラフィーを、例えば、標準プロトコルに従ってSuperdex 200 pg 16/600カラム (GE Lifesciences) を使用して、親和性カラムからの溶出 (pH 2.8) 直後に実施して、高純度の単量体タンパク質を得た。タンパク質濃度を、例えば、予測されるタンパク質配列に従って算出された減衰係数を使用して、NanoDropシステム (Thermo Scientific) で決定した。濃度を、必要に応じて、Vivaspinデバイス (Sartorius) を使用して調整した。最後に、精製された分子を、例えば、2 ~ 8 の温度で約1 mg/mLの濃度にて、リン酸緩衝生理食塩水中で保存した。

30

【0257】

精製された二重特異性抗原結合タンパク質の品質を、例えば、Vanquish UHPLC-System内で、300 mM NaClを含む50 mM リン酸ナトリウム (pH 6.8) で動作するMabPac SEC-1カラム (5 μm、7.8 x 300 mm) によるHPLC-SECにより決定した。

40

【0258】

治療方法および治療用途

第7の態様では、本発明は、医薬での使用のための、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第3の態様のベクター、本発明の第4の態様の宿主細胞、または本発明の第4の態様の医薬組成物に関する。

【0259】

第8の態様では、本発明は、増殖性疾患の処置および/または診断方法での使用のための、本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第

50

3の態様のベクター、本発明の第4の態様の宿主細胞、または本発明の第4の態様の医薬組成物に関する。

【0260】

本発明の抗原結合タンパク質は、特に、増殖性疾患の予防および/または処置のための免疫療法、好ましくは養子細胞療法、より好ましくは養子T細胞療法での使用のためのものである。本発明の化合物の投与は、例えば、前記患者への本発明のリンパ球、好ましくはNK細胞またはT細胞、より好ましくはT細胞の注入を伴うことができる。好ましくは、そのようなリンパ球は、患者の自家リンパ球であり、本発明の核酸または抗原結合タンパク質をインビトロで形質導入される。

【0261】

好ましい実施形態では、増殖性疾患は、がん、特にCT45発現がんである。

【0262】

本発明に関連して、がんは、関連するペプチド、例えばCT45-IPペプチド等が、NCIによるガイドラインに従って全てのがんの98%超において提示される場合に、「CT45発現がん」(CT45「陽性」がんとも称される)であるとみなされる。ここで挙げられた全ての他の適応症では、生検を、これらの癌の処置で標準的であることから実施し得、ペプチドを、X President (登録商標)および関連する方法に従って[国際公開第03/100432号パンフレット;同第2005/076009号パンフレット;同第2011/128448号パンフレット;同第2016/107740号パンフレット、米国特許第7,811,828号明細書、同第9,791,444号明細書、および米国特許出願公開第2016/0187351号明細書(それぞれの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に従って]同定し得る。一実施形態では、例えば、本発明の抗原結合タンパク質を使用することにより、がんを容易にアッセイする(即ち、診断する)。抗原結合タンパク質を使用して、抗原を発現するがんを同定する方法は、当業者に既知である。癌腫は、身体の臓器を補強するかまたは覆う皮膚または組織で出現する特定のタイプのがんであることから、「がん」および「癌腫」という用語は、本明細書では互換的に使用されないことを理解しなければならない。

【0263】

1つの実施形態では、CT45発現がんは、肺がん、NSCLC、胆嚢がん、胆管がん、リンパ節がん、卵巣がん、食道がん、肝臓がん、子宮がんおよび黒色腫からなる群から選択される。

【0264】

1つの実施形態では、がんは、CT45抗原が、過剰発現される、突然変異している、かつ/またはCT45抗原ペプチドが提示されるがんである。そのようながんは、例えば本発明の抗原結合タンパク質を使用することにより、容易にアッセイ(即ち診断)される。抗原結合タンパク質を使用して、抗原を発現するがんを同定する方法は、当業者に既知である。

【0265】

別の態様では、本発明は、増殖性疾患の処置方法であって、それを必要とする対象に治療有効量の、本明細書において上記で定義されている本発明の抗原結合タンパク質、核酸もしくはベクター、宿主細胞または医薬組成物を投与することを含む方法に関する。

【0266】

特定の実施形態では、本発明は、増殖性疾患を有する対象の処置方法であって、前記対象に、細胞表面上に本発明の抗原結合タンパク質を発現するリンパ球、好ましくはNK細胞またはT細胞、より好ましくはT細胞を投与することを含む方法に関する。

【0267】

「対象」または「個体」という用語は、互換的に使用され、例えば、ヒトまたは非ヒト哺乳動物であり得、好ましくはヒトであり得る。

【0268】

本発明に関連して、「処置する」または「処置」という用語は、治療的処置(即ち、所

10

20

30

40

50

与の疾患を有する対象におけるもの)および/または予防的もしくは防止的処置(即ち、所与の疾患を発症しやすい対象におけるもの)の両方を含む。治療的処置は、障害または状態の1つまたは複数の症状の好転、軽減および/またはその進行の阻害を意味する(and means)。防止的処置は、障害または状態の1つまたは複数の症状の発生の予防を意味する。従って、処置は、疾患の完全な治癒をもたらす処置を指すだけでなく、疾患の進行を減速させ、疾患の発生を予防しもしくは遅延させ、かつ/または対象の生存を長期化させる処置も指す。

【0269】

一実施形態では、「疾患」または「障害」とは、本発明の抗原結合タンパク質による処置から利益を得るであろうあらゆる状態のことである。一実施形態では、これには、対象を問題の障害にかかりやすくさせる病理学的状態を含む慢性および急性の障害または疾患が含まれている。「処置が必要な」という用語は、障害を既に有する対象、および障害を予防すべきである対象を指す。

10

【0270】

がん等の「増殖性疾患」は、細胞の無秩序なおよび/または不適当な増殖を伴う。

【0271】

1つの実施形態では、処置方法は、免疫療法、特に養子自家または異種細胞療法、好ましくはT細胞療法を含む。

【0272】

好ましい実施形態では、抗原結合タンパク質は、TCRまたはその機能的断片であるか、またはそれを含む。

20

【0273】

抗原結合タンパク質は宿主細胞の表面上に発現されることが好ましい。

【0274】

1つの実施形態では、処置方法は、抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞の投与を含み、宿主細胞は、T細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、好ましくはT細胞である。

【0275】

1つの実施形態では、宿主細胞、好ましくはT細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、より好ましくはT細胞は、自家である。

【0276】

1つの実施形態では、宿主細胞、好ましくはT細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、より好ましくはT細胞は、同種である。

30

【0277】

1つの実施形態では、抗原結合タンパク質は、治療活性剤、好ましくは、放射性核種、化学療法剤および毒素からなる群から選択される治療活性剤にコンジュゲートされる。

【0278】

1つの実施形態では、処置方法は、処置を必要とする対象に少なくとも1つの化学療法剤を投与することをさらに含む。

【0279】

1つの実施形態では、処置方法は、処置を必要とする対象に放射線療法を投与することをさらに含む。

40

【0280】

関連する態様では、本発明は、増殖性疾患、特に、MHCタンパク質との複合体中のKIFEMLEGV(配列番号138)のアミノ酸配列を含むか、またはからなるペプチドを提示するがんを有する患者において免疫応答を誘発する方法であって、患者に本開示の抗原結合タンパク質を投与することを含み、前記がんは、肺がん、NSCLC、胆嚢がん、胆管がん、リンパ節がん、卵巣がん、食道がん、肝臓がん、子宮がんおよび黒色腫からなるがんの群から選択される方法に関する。1つの実施形態では、前記方法において言及される免疫応答は細胞傷害性T細胞応答である。

【0281】

50

さらに別の態様では、本発明は、対象における増殖性疾患の処置用の医薬の製造のための、本発明の抗原結合タンパク質、核酸もしくはベクター、宿主細胞または医薬組成物の使用に関する。

【0282】

さらに別の態様では、本発明は、対象において疾患を処置するための、本発明の抗原結合タンパク質、核酸もしくはベクター、宿主細胞または医薬組成物の使用に関する。

【0283】

がん治療のガイドラインを示すテキストは、Cancer, Principles and Practice of Oncology, 4th Edition, DeVita et al, Eds. J. B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa. (1993)である。関連分野で認識されているように、特定のタイプのがん、および他の因子（例えば、患者の全身状態）に従って、適切な治療アプローチが選択される。本発明の抗原結合タンパク質を、それ自体で使用し得るか、またはがん患者の処置で他の抗新生物剤を使用する治療レジメンに加え得る。

10

【0284】

従って、いくつかの実施形態では、例えば、抗原結合タンパク質を、化学療法剤、非化学療法剤、抗新生物剤、および/または放射線等のがん処置で広く採用されている様々な薬物および処置と同時に、その前に、またはその後に投与し得る。

【0285】

「診断」は、本明細書では、医学的診断を指し、いずれの疾患または状態が、ある人の症状および徴候を説明するのかを決定することを指す。

20

【0286】

抗原結合タンパク質またはその医薬組成物の「治療上有効な量」は、任意の医学的処置に適用可能な妥当なベネフィット/リスク比で前記増殖性疾患を処置するのに十分な量の抗原結合タンパク質を意味する。しかしながら、本発明の抗原結合タンパク質、核酸またはベクター、宿主細胞または医薬組成物の1日当たりの総使用量は、健全な医学的判断の範囲内で主治医により決定されることが理解されるだろう。任意の特定の患者に関する具体的な治療上有効な用量は、様々な因子に依存しており、この因子として下記が挙げられる：処置される障害および障害の重症度；採用される具体的な抗原結合タンパク質の活性；採用される具体的な組成物；患者の年齢、体重、全体的な健康状態、性別、および食事；採用される具体的なポリペプチドの投与時間、投与経路、および排出速度；処置の継続期間；採用される具体的なポリペプチドと併用されるかまたは同時に使用される薬物；ならびに医学技術分野で公知の同類の因子。例えば、所望の治療効果を得るのに必要なレベルと比べて低いレベルで化合物の用量を開始し、所望の効果が得られるまで投与量を徐々に増加させることが当業者に公知である。

30

【0287】

一実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質による処置の有効性を、例えば、がんのマウスモデルにおいて、例えば、処置群とコントロール群との間の腫瘍体積の変化を測定することにより、インビボでアッセイする。

【0288】

本発明の抗原結合タンパク質、本発明の核酸または本発明のベクター、本発明の宿主細胞または本発明の医薬組成物を、任意の実現可能な方法により投与し得る。

40

【0289】

本明細書で開示されているように、いくつかの実施形態では、本明細書の上記で定義されている宿主細胞を、本明細書で説明されている医療用途または処置方法で使用する。そのような実施形態では、宿主細胞は、好ましくはリンパ球、例えばNK細胞、T細胞またはT細胞前駆細胞、好ましくはCD4および/もしくはCD8陽性T細胞またはT細胞、最も好ましくはCD4および/またはCD8陽性T細胞、最も好ましくはCD4および/またはCD8陽性T細胞である。

【0290】

従って、本発明の宿主細胞（好ましくは、T細胞）を、治療用組成物の有効成分として

50

使用し得る。そのため、本発明はまた、ペプチド K I F E M L E G V (配列番号 1 3 8) を含むポリペプチドを標的細胞が異常発現する患者において標的細胞を殺滅する方法であって、患者に、宿主細胞(好ましくは T 細胞)の有効数を投与することを含む方法も提供する。この方法に関連して、宿主細胞は、対象に投与されると、好ましくは免疫反応を誘発する。

【0291】

ある態様では、TCRにより誘発された反応、またはT細胞反応は、インビトロ、エクスピボまたはインピボにおける、K I F E M L E G V (配列番号 1 3 8)等のペプチドにより誘発されるエフェクター機能の増大および活性化を指し得る。MHCクラスIにより制限された細胞傷害性T細胞の場合には、例えば、エフェクター機能は、ペプチドパルス 10
された、ペプチド前駆体パルスされた、もしくは天然にペプチドを提示する標的細胞の溶解、ペプチドにより誘発されるサイトカイン(好ましくは、インターフェロン-ガンマ、TNF-アルファ、もしくはIL-2)の分泌、ペプチドにより誘発されるエフェクター分子(例えば、グランザイムもしくはパーフォリン)の分泌、または脱顆粒であり得る。

【0292】

本発明に関連して、T細胞を医薬品として使用する場合には、通常、T細胞を、アフレーシスにより細胞から採取する。次いで、T細胞を、その細胞表面上で本発明の抗原結合タンパク質を発現するように遺伝子操作し、次いで、遺伝子操作されたT細胞を増殖させて、次いで対象に再注入する。この例では、抗原結合タンパク質は、好ましくは膜結合型抗原結合タンパク質、より好ましくはTCRである。 20

【0293】

従って、宿主細胞は、本明細書の上記「核酸、ベクター、および組換え宿主細胞」セクションで説明されているように、本発明に係る核酸および/またはベクターでトランスフェクトされているか、感染されているか、または形質転換されている。

【0294】

本発明の抗原結合タンパク質を発現させるために宿主細胞をトランスフェクトした場合には、好ましくは、細胞は、抗原結合タンパク質を発現可能な発現ベクターを含む。次いで、宿主細胞は、活性化宿主細胞と称され得る。

【0295】

このいわゆるT細胞の養子移入のプロトコルは、当該技術分野で公知である。概説を、Gattioni et al.およびMorgan et al. [Gattinoni, L. et al., Nat.Rev.Immunol. 6 (2006): 383-393; Morgan, R. A. et al., Science 314 (2006): 126-129]で見出し得る。 30

【0296】

本発明の目的のために、投与される本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質、本発明の第2の態様の核酸、本発明の第3の態様のベクター、本発明の第4の態様の宿主細胞、または本発明の第5の態様の医薬組成物の量または用量は、合理的な時間枠にかけて対象または動物において、例えば、治療的または予防的な応答をもたらすために十分なものであってもよい。例えば、本発明の抗原結合タンパク質、核酸、ベクター、宿主細胞、または医薬組成物の用量は、投与の時点から、約2時間またはより長い期間、例えば、12 40
~24時間またはより長い時間において、がん抗原に結合するため、またはがんを検出、処置もしくは予防するために十分であるべきである。ある特定の実施形態では、期間はよりいっそう長いものであり得る。用量は、本発明の抗原結合タンパク質、核酸、ベクター、宿主細胞、または医薬組成物の有効性および動物(例えば、ヒト)の状態の他に、処置される動物(例えば、ヒト)の体重により決定される。

【0297】

多くの他の方法を使用して、インビトロでT細胞を生成し得る。例えば、自己腫瘍浸潤リンパ球を、CTLの生成で使用し得る。Plebanski et al. (Plebanski, M. et al., Eur.J Immunol 25 (1995): 1783-1787)は、T細胞の調製において自己末梢血リンパ球(PLB)を使用した。同様に、B細胞を、自己T細胞の製造で使用し得る。 50

【0298】

T細胞の調製では同種細胞も使用し得、方法が、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6805861号明細書で詳細に説明されている。

【0299】

ペプチドK I F E M L E G V (配列番号138)に対して本発明の抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞は、治療に有用である。そのため、本発明のさらなる態様は、本発明の上述の方法により得られる活性化宿主細胞を提供する。

【0300】

上記方法により製造される活性化宿主細胞は、ペプチドK I F E M L E G V (配列番号138)を含むポリペプチドを異常発現する細胞を特異的に認識し得る。

10

【0301】

「異常発現される」により、本発明者らはまた、ポリペプチドが、正常な(健康な)組織の発現レベルと比較して過剰発現されていること、または腫瘍が由来する組織では遺伝子がサイレントであるが腫瘍内では遺伝子が発現されることも意味する。「過剰発現される」により、本発明者らは、ポリペプチドが、正常組織中に存在するレベルの少なくとも1.2倍のレベルで存在することを意味しており、好ましくは、正常組織中に存在するレベルの少なくとも2倍、より好ましくは少なくとも5倍または10倍のレベルで存在することを意味している。

【0302】

ある態様では、宿主細胞(特に、T細胞)は、その抗原結合タンパク質(特に、そのTCR)を介してCT45-IP:MHC複合体と相互作用する(例えば結合する)ことにより、細胞を認識する。宿主細胞は、ペプチドK I F E M L E G V (配列番号138)を含むポリペプチドを標的細胞が異常発現する患者の標的細胞を殺滅する方法で有用であり、この患者に、活性化宿主細胞の有効数を投与する。患者に投与されるT細胞は、患者に由来し得、上述したように活性化され得る(即ち、自己T細胞である)。あるいは、T細胞は、患者由来ではないが、別の個体由来である(即ち、それらは異種T細胞である)。そのような場合には、これは、個体が健康な個体である場合に好ましい。「健康な個体」により、本発明者らは、個体が、一般に良好な健康状態であり、好ましくは、適格性の免疫系を有しており、より好ましくは、容易に検査されて検出され得る任意の疾患に罹患していないことを意味する。

20

30

【0303】

インビボでは、本発明に係るCD8陽性T細胞の標的細胞は、腫瘍の細胞(MHCクラスIIを発現することがある)および/または腫瘍(腫瘍細胞)を取り囲む間質細胞(MHCクラスIIも発現することがある)であり得る[Dengjel, J. et al., Clin Cancer Res 12 (2006): 4163-4170]。

【0304】

診断用途

CT45は、本明細書の上記で定義されたがんの表面上で発現される。CT45抗原ペプチドは、がんマーカーを構成し、従って、抗がん治療の有効性を示すために使用される可能性を有するか、または疾患の再発の検出のために使用される可能性を有する。

40

【0305】

そのため、別の態様では、本発明は、診断薬としての使用のための、特に、インビボ診断薬としての使用のための、第1の態様の抗原結合タンパク質、第2の態様の核酸、第3の態様のベクター、第4の態様の宿主細胞、または第5の態様の医薬組成物を提供する。好ましい実施形態では、この診断薬は、増殖性疾患の診断用である。より好ましい実施形態では、診断剤は、MHCタンパク質との複合体中のK I F E M L E G V (配列番号138)のアミノ酸配列を含むか、またはからなるペプチドを提示するがんの診断用であり、好ましくは、前記がんは、肺がん、NSCLC、胆嚢がん、胆管がん、リンパ節がん、卵巣がん、食道がん、肝臓がん、子宮がんおよび黒色腫からなるがんの群から選択される。

【0306】

50

ある実施形態では、本発明の抗原結合タンパク質は、治療薬に対する患者の感受性を決定するために、抗がん治療の有効性をモニタリングするために、または処置後の疾患の再発を検出するために、CT45を発現する腫瘍を標的とする治療に関連するアッセイの構成要素として使用される。

【0307】

そのため、本発明のさらなる目的は、対象中でのCT45発現をインビボで検出するための使用のための、または対象の生物学的サンプル中でのCT45発現をエクスピボもしくはインビトロで検出するための使用のための、本発明に係る抗原結合タンパク質に関する。前記検出は、特に、

- a) 対象におけるがんの存在の診断、または
- b) CT45を標的とする治療剤に対する、がんを有する患者の感受性の決定、または
- c) 腫瘍細胞上のCT45抗原ペプチドの提示を検出することによる；抗CT45がん療法の有効性のモニタリング、もしくは、特に本発明の抗原結合タンパク質を用いた療法のための、抗CT45がん療法後のがんの再発の検出のために意図されてもよい。

10

【0308】

一実施形態では、抗原結合タンパク質は、インビトロまたはエクスピボでの使用のために意図される。

【0309】

さらに別の態様では、本発明は、生物学的サンプル中のがんを検出するインビトロの方法であって、(a)生物学的サンプルを本発明の第1の態様の抗原結合タンパク質と接触させる工程、および(b)生物学的サンプルへの抗原結合タンパク質の結合を検出する工程を含む方法に関する。

20

【0310】

キット

最後に、本発明はまた、本発明の少なくとも1種の抗原結合タンパク質を含むキットも提供する。

【0311】

1つの実施形態では、キットは、

- a) 本明細書において上記の「抗原結合タンパク質」セクション中で定義されている本発明の少なくとも1つの抗原結合タンパク質、前記抗原結合タンパク質をコードする核酸、前記核酸を含むベクター、または前記抗原結合タンパク質、核酸および/もしくはベクターを含む宿主細胞、
- b) 適宜、パッケージング材料、ならびに
- c) 適宜、前記抗原結合タンパク質が、がんを処置するために有効であることまたはがんの処置のための使用のためのものであることを示す前記パッケージング材料内に含有される標識またはパッケージング挿入物を含む。

30

【0312】

好ましい実施形態では、キットは、本発明の抗原結合タンパク質をコードする核酸、またはこの核酸を含むベクターを含む。キットは、細胞、好ましくはT細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、より好ましくはT細胞の表面上での抗原結合タンパク質の調節可能な発現のための使用説明書をさらに含んでもよい。

40

【0313】

本開示のキットは、細胞、好ましくはT細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、より好ましくはT細胞の表面上の抗原結合タンパク質の調節可能な発現のために有用な任意の他の試薬、例えば核酸または発現ベクターを細胞に導入するために有用なトランスフェクション/形質導入試薬をさらに含んでもよい。

【0314】

キットが、本発明の抗原結合タンパク質をコードする核酸、またはこの核酸を含むベク

50

ターを含む宿主細胞、即ち、本発明の抗原結合タンパク質を発現可能な宿主細胞を含むこともまた好ましいことがある。

【0315】

キットの構成要素は別々の容器中に存在してもよく、または複数の構成要素は単一の容器中に存在してもよい。好適な容器として、単一のチューブ、またはプレート（例えば、96ウェルプレート、384ウェルプレート等）の1つもしくは複数のウェル等が挙げられる。

【0316】

関連する実施形態では、本発明の少なくとも1種の抗原結合タンパク質は、単室および/または多室のプレ充填シリンジ [例えば、液体シリンジおよび凍結乾燥シリンジ (lyo syringe)] に入っている。 10

【0317】

一実施形態では、本発明は、単回容量投与単位を製造するためのキットを包含する。

【0318】

従って、一実施形態では、本発明のキットのa)で言及されている本発明の少なくとも1種の抗原結合タンパク質は、第1の容器に入っている本発明の乾燥抗原結合タンパク質である。次いで、このキットは、水性製剤が入っている第2の容器をさらに含む。

【0319】

従って、一実施形態では、キットは、

a) 本明細書の上記「抗原結合タンパク質」セクションで定義されている本発明の少なくとも1種の乾燥抗原結合タンパク質が入っている第1の容器、 20

b) 水性製剤が入っている第2の容器、

c) 適宜パッケージング材料、および

d) 適宜前記抗原結合タンパク質ががんの処置に有効であるかまたはがんの処置のための使用に有効であることを示す、前記パッケージング材料に含まれるラベルまたはパッケージング挿入物を含む。

【0320】

水性製剤は、典型的には、本明細書の上記「医薬組成物」セクションで定義されている薬学的に許容される担体を含む水溶液である。 30

【0321】

関連する実施形態では、「第1の容器」および「第2の」容器は、多室のプレ充填シリンジ（例えば、凍結乾燥シリンジ）のチャンバーを指す。

【0322】

本願全体を通して、「および/または」という用語は、これが接続する場合の内の1つまたは複数が起こり得ることを包含すると解釈されるべき文法上の接続詞である。例えば、「そのような天然配列タンパク質を、標準的な組換え方法および/または合成方法を使用して調製し得る」という文言は、天然配列タンパク質を、標準的な組換え方法および合成方法を使用して調製し得ること、または天然配列タンパク質を、標準的な組換え方法を使用して調製し得ること、または天然配列タンパク質を、合成方法を使用して調製し得ることを示す。 40

【0323】

さらに、本願全体を通して、「含む」という用語は、具体的に言及された全ての特徴だけでなく、任意の、追加の、不特定のものも包含すると解釈されるべきである。本明細書で使用される場合、「含む」という用語の使用はまた、具体的に言及された特徴以外の特徴が存在していない（即ち、「からなる」）実施形態も開示する。

【0324】

さらに、不定冠詞「a」または「an」は、複数を除外しない。ある特定の手段が相互に異なる従属請求項で列挙されているという単なる事実は、これらの手段の組合せが有利に使用され得ないことを示すものではない。 50

【 0 3 2 5 】

これより、本発明を、下記の図面および実施例を参照してより詳細に説明する。本明細書で引用されている全ての文献および特許文献は、参照により本明細書に組み込まれる。本発明を、下記の説明において詳細に示して説明しているが、実施例は例示的なものであり限定的ではないと考えられるべきである。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 3 2 6 】

【 図 1 - 1 】 T C R をトランスフェクトされた T 細胞による C T 4 5 - I P ペプチドロード T 2 細胞の殺滅効率により測定された機能的なアビディティ (E C 5 0) 。構成的にルシフェラーゼを発現する T 2 細胞に、滴定された量の C T 4 5 - I P ペプチドをロードし、次に特定の T C R をトランスフェクトされた C D 8 + T 細胞と共培養した。死にゆく T 2 細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2 人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを 2 回繰り返した (塗りつぶした丸および菱形記号により示される) 。試験された T C R の半数最大殺滅効率を算出することにより機能的なアビディティを評価した。 10

【 図 1 - 2 】 T C R をトランスフェクトされた T 細胞による C T 4 5 - I P ペプチドロード T 2 細胞の殺滅効率により測定された機能的なアビディティ (E C 5 0) 。構成的にルシフェラーゼを発現する T 2 細胞に、滴定された量の C T 4 5 - I P ペプチドをロードし、次に特定の T C R をトランスフェクトされた C D 8 + T 細胞と共培養した。死にゆく T 2 細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2 人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを 2 回繰り返した (塗りつぶした丸および菱形記号により示される) 。試験された T C R の半数最大殺滅効率を算出することにより機能的なアビディティを評価した。 20

【 図 1 - 3 】 T C R をトランスフェクトされた T 細胞による C T 4 5 - I P ペプチドロード T 2 細胞の殺滅効率により測定された機能的なアビディティ (E C 5 0) 。構成的にルシフェラーゼを発現する T 2 細胞に、滴定された量の C T 4 5 - I P ペプチドをロードし、次に特定の T C R をトランスフェクトされた C D 8 + T 細胞と共培養した。死にゆく T 2 細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2 人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを 2 回繰り返した (塗りつぶした丸および菱形記号により示される) 。試験された T C R の半数最大殺滅効率を算出することにより機能的なアビディティを評価した。 30

【 図 1 - 4 】 T C R をトランスフェクトされた T 細胞による C T 4 5 - I P ペプチドロード T 2 細胞の殺滅効率により測定された機能的なアビディティ (E C 5 0) 。構成的にルシフェラーゼを発現する T 2 細胞に、滴定された量の C T 4 5 - I P ペプチドをロードし、次に特定の T C R をトランスフェクトされた C D 8 + T 細胞と共培養した。死にゆく T 2 細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2 人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを 2 回繰り返した (塗りつぶした丸および菱形記号により示される) 。試験された T C R の半数最大殺滅効率を算出することにより機能的なアビディティを評価した。

【 図 1 - 5 】 T C R をトランスフェクトされた T 細胞による C T 4 5 - I P ペプチドロード T 2 細胞の殺滅効率により測定された機能的なアビディティ (E C 5 0) 。構成的にルシフェラーゼを発現する T 2 細胞に、滴定された量の C T 4 5 - I P ペプチドをロードし、次に特定の T C R をトランスフェクトされた C D 8 + T 細胞と共培養した。死にゆく T 2 細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2 人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを 2 回繰り返した (塗りつぶした丸および菱形記号により示される) 。試験された T C R の半数最大殺滅効率を算出することにより機能的なアビディティを評価した。 40

【 図 2 - 1 】 配列類似ペプチドについての交差反応性の確認。構成的にルシフェラーゼを発現する T 2 細胞に、ペプチド当たり 1 0 μ M の濃度の C T 4 5 - I P ペプチド、1 0 の異なる配列類似ペプチド、無関連ペプチドコントロール N Y E S O 1 - 0 0 1 をそれぞれ 50

ロードしたか、またはロードしなかった。それらのT2細胞を次に、特定のTCRをトランスフェクトされたCD8+ T細胞と共培養した。死にゆくT2細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを2回繰り返した(黒バー=アッセイ1、ドナー1;赤バー=アッセイ2、ドナー2)。

【図2-2】配列類似ペプチドについての交差反応性の確認。構成的にルシフェラーゼを発現するT2細胞に、ペプチド当たり10μMの濃度のCT45-IPペプチド、10の異なる配列類似ペプチド、無関連ペプチドコントロールNYESO1-001をそれぞれロードしたか、またはロードしなかった。それらのT2細胞を次に、特定のTCRをトランスフェクトされたCD8+ T細胞と共培養した。死にゆくT2細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを2回繰り返した(黒バー=アッセイ1、ドナー1;赤バー=アッセイ2、ドナー2)。

10

【図2-3】配列類似ペプチドについての交差反応性の確認。構成的にルシフェラーゼを発現するT2細胞に、ペプチド当たり10μMの濃度のCT45-IPペプチド、10の異なる配列類似ペプチド、無関連ペプチドコントロールNYESO1-001をそれぞれロードしたか、またはロードしなかった。それらのT2細胞を次に、特定のTCRをトランスフェクトされたCD8+ T細胞と共培養した。死にゆくT2細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを2回繰り返した(黒バー=アッセイ1、ドナー1;赤バー=アッセイ2、ドナー2)。

20

【図2-4】配列類似ペプチドについての交差反応性の確認。構成的にルシフェラーゼを発現するT2細胞に、ペプチド当たり10μMの濃度のCT45-IPペプチド、10の異なる配列類似ペプチド、無関連ペプチドコントロールNYESO1-001をそれぞれロードしたか、またはロードしなかった。それらのT2細胞を次に、特定のTCRをトランスフェクトされたCD8+ T細胞と共培養した。死にゆくT2細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを2回繰り返した(黒バー=アッセイ1、ドナー1;赤バー=アッセイ2、ドナー2)。

【図2-5】配列類似ペプチドについての交差反応性の確認。構成的にルシフェラーゼを発現するT2細胞に、ペプチド当たり10μMの濃度のCT45-IPペプチド、10の異なる配列類似ペプチド、無関連ペプチドコントロールNYESO1-001をそれぞれロードしたか、またはロードしなかった。それらのT2細胞を次に、特定のTCRをトランスフェクトされたCD8+ T細胞と共培養した。死にゆくT2細胞により放出される上清中のルシフェラーゼ活性を測定することにより殺滅を分析した。2人の異なるドナーの細胞を用いてアッセイを2回繰り返した(黒バー=アッセイ1、ドナー1;赤バー=アッセイ2、ドナー2)。

30

【図3-1】TCR表面染色。pHLA-Dextramer結合により測定されたTCR発現のフローサイトメトリー評価。ヒストグラムは、CT45-IP-HLA-A2*02デキストラマーを用いた染色後のTCR-mRNAをエレクトロポレートされたT細胞(黒線)およびMock-TCRコントロール(ライトグレーの点線)を示す。陽性事象パーセントをプロットで示す。Mock-TCRコントロールは、デキストラマー陰性区画用の参照として使用している。

40

【図3-2】TCR表面染色。pHLA-Dextramer結合により測定されたTCR発現のフローサイトメトリー評価。ヒストグラムは、CT45-IP-HLA-A2*02デキストラマーを用いた染色後のTCR-mRNAをエレクトロポレートされたT細胞(黒線)およびMock-TCRコントロール(ライトグレーの点線)を示す。陽性事象パーセントをプロットで示す。Mock-TCRコントロールは、デキストラマー陰性区画用の参照として使用している。

【図4】腫瘍細胞株への有効性。我々の関心対象のTCRを発現するT細胞のありまたは

50

なしで共培養された R F P を発現する腫瘍細胞株の生細胞モニタリング。腫瘍細胞を表す赤色カウントを 48 h の期間にかけて定量化し、時点 0 h に対して正規化した。左側のプロットは腫瘍細胞株 N C I H 1 7 0 3 を示し、右側のプロットは細胞株 A 3 7 5 の増殖を示す。M o c k - T C R (陰性コントロール、上)、T C R - 9 (中央) および T C R - 7 (下) をエレクトロポレートされた C D 8 + T 細胞を示す。陽性コントロールとして 10 μ M の C T 4 5 - I P ペプチドを追加的にロードされた標的細胞 (中央に点を伴う丸) の他に、エフェクター細胞なしの標的細胞 (アステリクス) および関心対象の T C R を発現する異なる E : T 比のエフェクター細胞 (灰色の異なる濃淡の丸) を使用した。

【発明を実施するための形態】

【実施例】

【0327】

材料および方法

T C R の同定

アルファおよびベータ T C R 鎖配列を健常ドナーの T 細胞から単離した。ペプチド特異的 T 細胞の濃縮を確実にするために、細胞を Walter et al., 2003 J Immunol., Nov 15; 171(10):4974-8 に記載されるように C T 4 5 - I P - M H C および C D 2 8 (P r i m i n g) で被覆した人工的な抗原提示細胞を用いて繰り返し刺激し、その後、C T 4 5 - I P - H L A - A * 0 2 四量体を使用して単一細胞を選別したか、または代替的に C T 4 5 - I P ロード T 2 細胞を用いて刺激した。十分な拡大増殖後に、C T 4 5 - I P - H L A - A * 0 2 四量体を使用して細胞を選別した。

【0328】

例えば Molecular Cloning, Laboratory Manual, Fourth Edition by Green and Sambrook に記載されるように標準的な方法、例えば 5 ' R A C E およびサンガーシーケンシングを介して T C R ヌクレオチド配列を得た。T C R の V 領域および J 領域をコードする遺伝子を表 2 に列挙する。アノテーションは、参照データベースとして I M G T / G E N E - D B (パージョン : 2 8 / 1 1 / 2 0 1 9) を使用して G e n e D a t a 1 1 . 0 . 1 により行った。T C R アミノ酸配列を表 3 に列挙する。

【0329】

10

20

30

40

50

【表 2】

表2 - 同定されたTCR

ID	Vアルファ	Jアルファ	Vベータ	Jベータ
TCR-1	TRAV38-1	TRAJ22	TRBV7-9	TRBJ2-7
TCR-2	TRAV14/DV4	TRAJ52	TRBV13	TRBJ1-1
TCR-3	TRAV14/DV4	TRAJ33	TRBV27	TRBJ1-5
TCR-4	TRAV3	TRAJ30	TRBV6-2	TRBJ2-1
TCR-5	TRAV35	TRAJ26	TRBV9	TRBJ2-7
TCR-6	TRAV12-3	TRAJ7	TRBV4-1	TRBJ2-1
TCR-7	TRAV38-2/DV8	TRAJ32	TRBV13	TRBJ2-1
TCR-8	TRAV19	TRAJ40	TRBV13	TRBJ2-1
TCR-9	TRAV5	TRAJ17	TRBV2	TRBJ2-1
TCR-10	TRAV1-2	TRAJ44	TRBV6-1	TRBJ2-1
TCR-11	TRAV22	TRAJ44	TRBV6-1	TRBJ2-7
TCR-12	TRAV27	TRAJ50	TRBV4-1	TRBJ1-2
TCR-13	TRAV14/DV4	TRAJ5	TRBV19	TRBJ2-1
TCR-14	TRAV14/DV4	TRAJ22	TRBV11-2	TRBJ1-6
TCR-15	TRAV21	TRAJ37	TRBV5-1	TRBJ2-7

10

20

30

40

50

【 0 3 3 0 】

【表 3 - 1】

表3 - TCRアミノ酸配列

配列番号	TCR	鎖	領域/ドメイン(domian)	配列
1	TCR-5	アルファ	可変ドメイン	QQLNQSPQSMFIQEGEDVSMNCTSSSIFNTWLWYKQDPGEG PVLIIALYKAGELTSNGRLTAQFGITRKDSFLNISASIPSDVGIYFC AGGYNYGQNFVFGPGTRLSVLP
2	TCR-5	アルファ	CDR1	SIFNT
3	TCR-5	アルファ	CDR2	LYKAGEL
4	TCR-5	アルファ	CDR3	AGGYNYGQNF V
5	TCR-5	アルファ	定常ドメイン	YIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRWSS
6	TCR-5	アルファ	全長	QQLNQSPQSMFIQEGEDVSMNCTSSSIFNTWLWYKQDPGEG PVLIIALYKAGELTSNGRLTAQFGITRKDSFLNISASIPSDVGIYFC AGGYNYGQNFVFGPGTRLSVLPYIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKS VCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKNSAVA WSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTN LNFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTRLRWSS
7	TCR-5	ベータ	可変ドメイン	GVTQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQGLQF LIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSLELGDALYFC ASSAGLAGGYEQYFGPGTRLTVT
8	TCR-5	ベータ	CDR1	SGDLS
9	TCR-5	ベータ	CDR2	YNGEE
10	TCR-5	ベータ	CDR3	ASSAGLAGGY EQY
11	TCR-5	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSAFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDSRG
12	TCR-5	ベータ	全長	GVTQTPKHLITATGQRVTLRCSPRSGDLSVYWYQQSLDQGLQF LIQYYNGEERAKGNILERFSAQQFPDLHSELNLSLELGDALYFC ASSAGLAGGYEQYFGPGTRLTVTEDLKNVFPPEVAVFEPSEAEIS HTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLK EQPALNDSRYCLSSRLRVSAFWQNPRNHFRQCQVQFYGLSEN EWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTSESYQQGVLSATILYEI LLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDSRG
13	TCR-1	アルファ	可変ドメイン	QTVTQSQPEM SVQEAETVTL SCTYDTSENN YYLFWYKQPP SRQMILVIRQ EAYKQQNATE NRFSVNFQKA AKSFSKISD SQLGDTAMYF CAPLGLVAGS ARQLTFGSGT QLTVLP
14	TCR-1	アルファ	CDR1	TSENNYY
15	TCR-1	アルファ	CDR2	QEAYKQQN
16	TCR-1	アルファ	CDR3	APLGLVAGSA RQLT

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

750	TCR-1	アルファ	定常ドメイン	DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
17	TCR-1	アルファ	全長	QVTVTSQSPQEM SVQEAETVTL SCTYDTSENN YYLFWYKQPP SRQMILVIRO EAYKQQNATE NRFSVNFQKA AKSFSLKISD SQLGDTAMYF CAPLGLVAGS ARQLTFGSGT QLTVLP DIQN PDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYITDKT VLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
18	TCR-1	ベータ	可変ドメイン	GVSQDPRHKI TKRGQNVTFR CDPSEHNRL YWYRQTLGQG PEFLTYFQNE AQLEKSRLS DRFSAERPKG SFSTLEIQRT E QGDSAMYLC ASSTDITSYE QYFGPGTRLT VT
19	TCR-1	ベータ	CDR1	SEHNR
20	TCR-1	ベータ	CDR2	FQNEAQ
21	TCR-1	ベータ	CDR3	ASSTDITSYE QY
11	TCR-1	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPРНHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDSRG
22	TCR-1	ベータ	全長	GVSQDPRHKI TKRGQNVTFR CDPSEHNRL YWYRQTLGQG PEFLTYFQNE AQLEKSRLS DRFSAERPKG SFSTLEIQRT E QGDSAMYLC ASSTDITSYE QYFGPGTRLT VT EDLKNVFP PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYDPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPРНHFR CQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKR KDSRG
23	TCR-14	アルファ	可変ドメイン	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNQKA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CAINGLPGSA RQLTFGSGTQ LTVLP
24	TCR-14	アルファ	CDR1	TSDQSYG
25	TCR-14	アルファ	CDR2	QGSYDEQN
26	TCR-14	アルファ	CDR3	AINGLPGSAR QLT
750	TCR-14	アルファ	定常ドメイン	DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
27	TCR-14	アルファ	全長	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNQKA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CAINGLPGSA RQLTFGSGTQ LTVLP DIQNP DPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYITDKT VLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
28	TCR-14	ベータ	可変ドメイン	GVAQSPRYKI IEKRQSVAFW CNPISGHATL YWYQQLGQG PKLLIQFQNN GVVDDSQLPK DRFSAERLKG VDSTLKIQPA KLEDSAVYLC ASSRFVATGT SPLHFGNGTR LTVT

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

29	TCR-14	ベータ	CDR1	SGHAT
30	TCR-14	ベータ	CDR2	FQNGNV
31	TCR-14	ベータ	CDR3	ASSRFVATGT SPLH
32	TCR-14	ベータ	定常ドメイン	EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKDF
33	TCR-14	ベータ	全長	GVAQSPRYKI IEKRQSVAFW CNPISGHATL YWYQQILGQG PKLLIQFQNN GVVDDSQLPK DRFSAERLKG VDSTLKIQPA KLEDSAVYLC ASSRFVATGT SPLHFGNGTR LTVT EDLNKVF PPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKE VHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH RCQVQFYGLSENDEWTDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTSV SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDF
34	TCR-13	アルファ	可変ドメイン	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNFKQA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CAMSDPIMDT GRRALTFGSG TRLQVQP
24	TCR-13	アルファ	CDR1	TSDQSYG
25	TCR-13	アルファ	CDR2	QGSYDEQN
35	TCR-13	アルファ	CDR3	AMSDPIMDTG RRALT
751	TCR-13	アルファ	定常ドメイン	NIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQKSDVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRWSS
36	TCR-13	アルファ	全長	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNFKQA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CAMSDPIMDT GRRALTFGSG TRLQVQP NI QNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQKSDVYITD KTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLM TRLRWSS
37	TCR-13	ベータ	可変ドメイン	GITQSPKYLF RKEGQNVTL CEQNLNHDAM YWYRQDPGQ G LRLIYYSQIV NDFQKGDIAE GYSVREKKE SFPLTVTSAQ KNPTAFYLCA SKSRGPNLAD TQYFGPGTRL TVL
38	TCR-13	ベータ	CDR1	LNHDA
39	TCR-13	ベータ	CDR2	SQIVND
40	TCR-13	ベータ	CDR3	ASKSRGPNLA DTQY
11	TCR-13	ベータ	定常ドメイン	EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK KDSRG
41	TCR-13	ベータ	全長	GITQSPKYLF RKEGQNVTL CEQNLNHDAM YWYRQDPGQ G LRLIYYSQIV NDFQKGDIAE GYSVREKKE SFPLTVTSAQ KNPTAFYLCA SKSRGPNLAD TQYFGPGTRL TVL EDLNKVF PPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKE VHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH RCQVQFYGLSENDEWTDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTSE

10

20

30

40

50

【表 3 - 4】

				SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRSDSRG
42	TCR-15	アルファ	可変ドメイン	KQEVTPQIPAA LSVPEGENLV LNCSTDSAI YNLQWFRQDP GKGLTSLLLI QSSQREQTSG RLNASLDKSS GRSTLYIAAS QP GDSATYLC AVLLTGKLI GQGTTLQVKP
43	TCR-15	アルファ	CDR1	DSAIYN
44	TCR-15	アルファ	CDR2	IQSSQRE
45	TCR-15	アルファ	CDR3	AVLLTGKLI
750	TCR-15	アルファ	定常ドメイン	DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKVGAFNLL MTLRLWSS
46	TCR-15	アルファ	全長	KQEVTPQIPAA LSVPEGENLV LNCSTDSAI YNLQWFRQDP GKGLTSLLLI QSSQREQTSG RLNASLDKSS GRSTLYIAAS QP GDSATYLC AVLLTGKLI GQGTTLQVKP DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDSVYITDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKVGAFNLLMTLRLWSS
47	TCR-15	ベータ	可変ドメイン	GVTQTPRYLI KTRGQQVTLSPISGHRSV SWYQQTPGQG LQFLFEYFSE TQRNKGNFPG RFSGRQFSNS RSEMNVTLE LGDSALYLCA SSGGPGPSGE QYFGPGTRLT VT
48	TCR-15	ベータ	CDR1	SGHRS
49	TCR-15	ベータ	CDR2	YFSETQ
50	TCR-15	ベータ	CDR3	ASSGGPGPSG EQY
11	TCR-15	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRSDSRG
51	TCR-15	ベータ	全長	GVTQTPRYLI KTRGQQVTLSPISGHRSV SWYQQTPGQG LQFLFEYFSE TQRNKGNFPG RFSGRQFSNS RSEMNVTLE LGDSALYLCA SSGGPGPSGE QYFGPGTRLT VT EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRSDSRG
52	TCR-6	アルファ	可変ドメイン	QQKEVEQDPG PLSVPEGAIV SLNCTYSNSA FQYFMWYRQY SRKGPPELLMY TYSSGNKEDG RFTAQVDKSS KYISLFIRDS QPSDSATYLC AMSGNSGARD YGNNRLAFGK GNQVVVIP
53	TCR-6	アルファ	CDR1	NSAFQY
54	TCR-6	アルファ	CDR2	TYSSGN
55	TCR-6	アルファ	CDR3	AMSGNSGARD YGNNRLA
751	TCR-6	アルファ	定常ドメイン	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPSSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKVGAFNLL MTLRLWSS

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

56	TCR-6	アルファ	全長	QQKEVEQDPG PLSVPEGAIV SLNCTYSNSA FQYFMWYRQY SRKGPPELLMY TYSSGNKEDG RFTAQVDKSS KYISLFIRDS QPSDSATYLC AMSGNSGARD YGNRNRLAFGK GNQVVVIP NIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYI TDKTVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRLWSS
57	TCR-6	ベータ	可変ドメイン	EVTQTPKHLV MGMTNKKSLK CEQHMGHARAM YWYKQKA KKP PELMFVYSYE KLSINESVPS RFSPECNNS LLNLHLHAL Q PEDSALYLCA SATWEEAGPY NEQFFGPGTR LTVL
58	TCR-6	ベータ	CDR1	MGHRA
59	TCR-6	ベータ	CDR2	YSYEKL
60	TCR-6	ベータ	CDR3	ASATWEEAGP YNEQF
11	TCR-6	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKR KDSRG
61	TCR-6	ベータ	全長	EVTQTPKHLV MGMTNKKSLK CEQHMGHARAM YWYKQKA KKP PELMFVYSYE KLSINESVPS RFSPECNNS LLNLHLHAL Q PEDSALYLCA SATWEEAGPY NEQFFGPGTR LTVL EDLK NVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVN GKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPR NHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCG FTSESYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKR KDSRG
62	TCR-3	アルファ	可変ドメイン	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNFKQA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CGYSNYQLIW GAGTKLIKP
24	TCR-3	アルファ	CDR1	TSDQSYG
25	TCR-3	アルファ	CDR2	QGSYDEQN
63	TCR-3	アルファ	CDR3	GYSNYQLI
750	TCR-3	アルファ	定常ドメイン	DIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYI TDKTVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRLWSS
64	TCR-3	アルファ	全長	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNFKQA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CGYSNYQLIW GAGTKLIKP DIQNPDPVAVYQ LRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSVYITDKTVLDMRS MDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTRLRLWSS
65	TCR-3	ベータ	可変ドメイン	QVTQNPRYLI TVTGKCLVT CSQNMNHEYM SWYRQDPGL G LRQIYYSMNV EVTDKGDVPE GYKVSRRKEK RNFPLILESPS PNQTSLYFCA SREGTGGYQP QHFGDGTRLS IL
66	TCR-3	ベータ	CDR1	MNHEY
67	TCR-3	ベータ	CDR2	SMNVEV
68	TCR-3	ベータ	CDR3	ASREGTGGYQ PQH
32	TCR-3	ベータ	定常ド	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSW

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

			メイン	WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRQCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVK RKDF
69	TCR-3	ベータ	全長	QVTQNPRIYLI TVTGKCLTVT CSQNMNHEYM SWYRQDPGL G LRQIYYSMNVT EVDKGDVPE GYKVSREKER NFPLILESPS PNQTSLYFCA SREGTGGYQP QHFGDGTLS IL EDLNKVF PPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVNGKE VHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH RCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSV SYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVLSALVLMAMVKKRDF
70	TCR-7	アルファ	可変ドメイン	QTVTQSQPEM SVQEAETVTL SCTYDTSSED YYLFWYKQP SRQMILVIRQ EAYKQQNATE NRFSVNFQKA AKSFLKISD S QLGDAAMYF CTFRYGGATN KLIFGTGTL AVQP
71	TCR-7	アルファ	CDR1	TSESDYY
15	TCR-7	アルファ	CDR2	QEAYKQQN
72	TCR-7	アルファ	CDR3	TFRYGGATNK LI
751	TCR-7	アルファ	定常ドメイン	NIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDNLNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLRWSS
73	TCR-7	アルファ	全長	QTVTQSQPEM SVQEAETVTL SCTYDTSSED YYLFWYKQP SRQMILVIRQ EAYKQQNATE NRFSVNFQKA AKSFLKISD S QLGDAAMYF CTFRYGGATN KLIFGTGTL AVQP NIQNP DPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDVYITDKTVL DMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFPSPE SSCDVKLVEKSFETDNLNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTRL RWSS
74	TCR-7	ベータ	可変ドメイン	GVIQSPRHLLI KEKRETATLK CYPPIRHDTV YWYQQGPGQD PQFLISFYEK MQSDKGSIPD RFSAQQFSDY HSELNMSLE L GDSALYFCA SRGGWAETPD TQYFGPGTRL TVL
75	TCR-7	ベータ	CDR1	PRHDT
76	TCR-7	ベータ	CDR2	FYEKMQ
77	TCR-7	ベータ	CDR3	ASRGGWAETP DTQY
11	TCR-7	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYDPH V ELSWVWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRYCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPVT QI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALVLM MA MVKRDSTRG
78	TCR-7	ベータ	全長	GVIQSPRHLLI KEKRETATLK CYPPIRHDTV YWYQQGPGQD PQFLISFYEK MQSDKGSIPD RFSAQQFSDY HSELNMSLE L GDSALYFCA SRGGWAETPD TQYFGPGTRL TVL EDLKNV FPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYDPH VELS WVWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRYCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPVTQI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRDSTRG
79	TCR-9	アルファ	可変ドメイン	EDVEQSLFLS VREGDSSVIN CTYDSSSTY LYWYKQEPGA G LQLLYIFNS NMDMKQDQRL TVLLNKKDKH LSLRIADTQT G

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

				DSAIYFCAE KETAGNKLTFF GGGTRVLVKP
80	TCR-9	アルファ	CDR1	DSSSTY
81	TCR-9	アルファ	CDR2	IFSNMDM
82	TCR-9	アルファ	CDR3	AEKETAGNKL T
751	TCR-9	アルファ	定常ドメイン	NIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSNNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVSVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
83	TCR-9	アルファ	全長	EDVEQSLFLS VREGDSSVIN CTYDSSSTY LYWYKQEPGA G LQLLTYIFS NMDMKQDQRL TVLLNKDKH LSLRIADTQT G DSAIYFCAE KETAGNKLTFF GGGTRVLVKP NIQNPDPVAVYQL RDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYITDKTVLDMRSM DFKSNNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLV EKSFETDTNLFQNLVSVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
84	TCR-9	ベータ	可変ドメイン	EPEVTQTPSH QVTQMGQEV LRCVPISNHL YFYWYRQILG QKVEFLVSFY NNEISEKSEI FDDQFSVERP DGSNFTLKIR ST KLEDSAMY FCASTVQSPR TNEQFFGPGT RLTVL
85	TCR-9	ベータ	CDR1	SNHLY
86	TCR-9	ベータ	CDR2	FYNNEI
87	TCR-9	ベータ	CDR3	ASTVQSPRTN EQF
11	TCR-9	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH V ELSWVWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRVCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPV QI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRKDSRG
88	TCR-9	ベータ	全長	EPEVTQTPSH QVTQMGQEV LRCVPISNHL YFYWYRQILG QKVEFLVSFY NNEISEKSEI FDDQFSVERP DGSNFTLKIR ST KLEDSAMY FCASTVQSPR TNEQFFGPGT RLTVL EDLKNV PPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH VELSWV WVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRVCLSSRL RVSATFW QNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPVQI VSAE AWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRKDSRG
89	TCR-4	アルファ	可変ドメイン	QSVAPQEDQV NVAEGNPLTV KCTYSVSGNP YLFWYVQYP N RGLQFLLYI TGDNLVKGSY GFEEAFNKSQ TSFHLKPSA LVSDSALYFC AAPRDDKIIIF GKGTRLHILP
90	TCR-4	アルファ	CDR1	VSGNPY
91	TCR-4	アルファ	CDR2	YITGDNLV
92	TCR-4	アルファ	CDR3	AAPRDDKII
751	TCR-4	アルファ	定常ドメイン	NIQNPDPVAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSNNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVSVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
93	TCR-4	アルファ	全長	QSVAPQEDQV NVAEGNPLTV KCTYSVSGNP YLFWYVQYP N RGLQFLLYI TGDNLVKGSY GFEEAFNKSQ TSFHLKPSA

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

				LVSDSALYFC AAPRDDKIIF GKGTRLHILP NIQNPDPAVYQL RDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDVYITDKTVLDMRSM DFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSSCDVKLV EKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTRLWSS
94	TCR-4	ベータ	可変ド メイン	GVTQTPKFRV LKTGQSMILL CAQDMNHEYM YWYRQDPG MG LRLIHYSVGE GTTAKGEVPD GYNVSRLLKQ NFLLGLES AA PSQTSVYFCA SSYLRTGGNE QFFGPGTRLT VL
66	TCR-4	ベータ	CDR1	MNHEY
95	TCR-4	ベータ	CDR2	SVGEGT
96	TCR-4	ベータ	CDR3	ASSYLRTGGN EQF
11	TCR-4	ベータ	定常ド メイン	EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH V ELSWWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRVCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCVQVQF YGLSENDEWT QDRAKPV QI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALVMA MVKRKDSRG
97	TCR-4	ベータ	全長	GVTQTPKFRV LKTGQSMILL CAQDMNHEYM YWYRQDPG MG LRLIHYSVGE GTTAKGEVPD GYNVSRLLKQ NFLLGLES AA PSQTSVYFCA SSYLRTGGNE QFFGPGTRLT VL EDLKN VFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH VELS WVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRVCLSSRL RVS ATFWQNP RNHFRCVQVQF YGLSENDEWT QDRAKPVQI V SAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALVMA MVKRKDSRG
98	TCR-8	アルファ	可変ド メイン	QKVTQAQTEI SVVEKEDVTL DCVYETRDTT YLFWYKQPP SGELVFLIRR NSFDEQNEIS GRYSWNFQKS TSSFNFTITA S QVVDSAVYF CALSGRGSGT YKYIFGTGTR LKVLA
99	TCR-8	アルファ	CDR1	TRDTTYY
100	TCR-8	アルファ	CDR2	RNSFDEQN
101	TCR-8	アルファ	CDR3	ALSGRGSGTY KYI
751	TCR-8	アルファ	定常ド メイン	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDVYI TDKTVLDMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDT FFPSPSSCDVKLVKESFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTRLWSS
102	TCR-8	アルファ	全長	QKVTQAQTEI SVVEKEDVTL DCVYETRDTT YLFWYKQPP SGELVFLIRR NSFDEQNEIS GRYSWNFQKS TSSFNFTITA S QVVDSAVYF CALSGRGSGT YKYIFGTGTR LKVLA NIQNPD PAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQSQKSDVYITDKTVL DMRSMDFKNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPES CDVKLVKESFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTRL WSS
103	TCR-8	ベータ	可変ド メイン	GVIQSPRHIL KEKRETATLK CYPPIRHDTV YWYQQGPGQD PQFLISFYEK MQSDKGSIPD RFSAQQFSDY HSELNMSLE L GDSALYFCA SSAGTSYNEQ FFGPGTRLT L
75	TCR-8	ベータ	CDR1	PRHDT
76	TCR-8	ベータ	CDR2	FYEKMQ
104	TCR-8	ベータ	CDR3	ASSAGTSYNE QF
11	TCR-8	ベータ	定常ド メイン	EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH V ELSWWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRVCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCVQVQF YGLSENDEWT QDRAKPV

10

20

30

40

50

【表 3 - 9】

				QI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRKDSRG
105	TCR-8	ベータ	全長	GVIQSPRH LI KEKRE TATLK CYPIR HDTV YWYQQGPGQD PQFLISFYEK MQSDKGSIPD RFS AQQFS DY HSELNMS SLE L GDSALYFCA SSAGTSYNEQ FFGPGTR LTV L EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYDPH VELSWWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSR YCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPV TQI VSAEAWGRA D CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRKDSRG
106	TCR-10	アルファ	可変ドメイン	QNIDQPTEMT ATEGAI VQIN CTYQTS GFNG LFWYQQHAG E APTFLSYNVL DGLEEKGRFS SFLSRKGY S YLLKELQMK DSASYLCAVP APYTG TASKL TFGTGTR LQV TL
107	TCR-10	アルファ	CDR1	TSGFNG
108	TCR-10	アルファ	CDR2	NVL DGL
109	TCR-10	アルファ	CDR3	AVPAPYTGTA SKLT
750	TCR-10	アルファ	定常ドメイン	DIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQT NVSQKSDVYI TDKT VLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPESCDV KLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLL MTLRLWSS
110	TCR-10	アルファ	全長	QNIDQPTEMT ATEGAI VQIN CTYQTS GFNG LFWYQQHAG E APTFLSYNVL DGLEEKGRFS SFLSRKGY S YLLKELQMK DSASYLCAVP APYTG TASKL TFGTGTR LQV TL DIQNPDP AV YQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQT NVSQKSDVYITDKT VLDMR SMDFKSN SAVAWSNKSD FACANAFNNSIIPEDTF FPSPESCDV KLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLL MTLRLWSS
111	TCR-10	ベータ	可変ドメイン	GVTQTPKFQV LKTGQSMTLQ CAQDMNHNSM YWYRQDP GMG LRLIYYSASE GTTDKGEV PN GYNVSR LNK R EFSLRLE SAA PSQTSVYFCA SSEGYSTYNE QFFGPGTR LTV VL
112	TCR-10	ベータ	CDR1	MNHNS
113	TCR-10	ベータ	CDR2	SASEGT
114	TCR-10	ベータ	CDR3	ASSEGYSTYN EQF
11	TCR-10	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYDPH V ELSWWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSR YCLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPV TQI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRKDSRG
115	TCR-10	ベータ	全長	GVTQTPKFQV LKTGQSMTLQ CAQDMNHNSM YWYRQDP GMG LRLIYYSASE GTTDKGEV PN GYNVSR LNK R EFSLRLE SAA PSQTSVYFCA SSEGYSTYNE QFFGPGTR LTV VL EDLKN VFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYDPH VELSW WVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSR YCLSSRL RVSA TFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPV TQI VS AEA WGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVS ALV LMA MVKRKDSRG
116	TCR-12	アルファ	可変ドメイン	QLLEQSPQFL SIQEGENLTV YCNSSSVFSS LQWYRQEPGE GPVLLVTVVT GGEVKLKR L TFQFGDARKD SSLHITAAQP GDTGLYLCAG GLSDSYDKVI FPGTSLSVI P
117	TCR-12	アルファ	CDR1	SVFSS

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 0】

		ア		
118	TCR-12	アルファ ア	CDR2	VVTGGGEV
119	TCR-12	アルファ ア	CDR3	AGGLSDSYDK VI
751	TCR-12	アルファ ア	定常ド メイン	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKDSDVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
120	TCR-12	アルファ ア	全長	QLLEQSPQFL SIQEGENLTV YCNSSSVFSS LQWYRQEPGE GPVLLVTVVT GGEVKKLRRL TFQFGDARKD SSLHITAAQP GDTGLYLCAG GLSDSYDKVI FPGTSLSVI P NIQNPDPAVY QLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKDSDVYITDKTVLDMRS MDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVK LVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
121	TCR-12	ベータ	可変ド メイン	EVTQTPKHLV MGMTNKKSLK CEQHMGHRAM YWYKQKA KKP PELMFVYSYE KLSINESVPS RFSPECNNS LLNLHLHAL Q PEDSALYLCA SSQGVGQEYG YTFGSGTRLT VV
58	TCR-12	ベータ	CDR1	MGHRA
59	TCR-12	ベータ	CDR2	YSYEKL
122	TCR-12	ベータ	CDR3	ASSQGVGQEY GYT
32	TCR-12	ベータ	定常ド メイン	EDLNKVPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVLSW WVNGKEVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFW QNPRNHFRCCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGR ADCGFTSVSYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVK RKDF
123	TCR-12	ベータ	全長	EVTQTPKHLV MGMTNKKSLK CEQHMGHRAM YWYKQKA KKP PELMFVYSYE KLSINESVPS RFSPECNNS LLNLHLHAL Q PEDSALYLCA SSQGVGQEYG YTFGSGTRLT VV EDLNKV FPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVLSWVWNGK EVHSGVSTDPQLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH FRCVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTVQIVSAEAWGRADCGFTS VSYQQGVL SATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKKRDF
124	TCR-11	アルファ ア	可変ド メイン	IQVEQSPDDL ILQEGANSTL RCNFSDSVNN LQWFHQNPW G QLINLFYIPS GTKQNGRLSA TTVATERYSL LYISSQTTD S GVYFCAVNT GTASKLFTGT GTRLQVTL
125	TCR-11	アルファ ア	CDR1	DSVNN
126	TCR-11	アルファ ア	CDR2	IPSGT
127	TCR-11	アルファ ア	CDR3	AVNTGTASKL T
750	TCR-11	アルファ ア	定常ド メイン	DIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKDSDVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLL MTLRLWSS
128	TCR-11	アルファ ア	全長	IQVEQSPDDL ILQEGANSTL RCNFSDSVNN LQWFHQNPW G QLINLFYIPS GTKQNGRLSA TTVATERYSL LYISSQTTD S GVYFCAVNT GTASKLFTGT GTRLQVTL DIQNPDPAVYQLRD SKSSDKSVCLFTDFDSQTNVVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDF KSN SAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDVKLVEK SFETDTNLFQNLVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS

10

20

30

40

50

【表 3 - 1 1】

129	TCR-11	ベータ	可変ドメイン	GVTQTPKFQV LKTGQSMTLQ CAQDMNHNSM YWYRQDP GMG LRLIYYSASE GTTDKGEVNP GYNVSRNLNR EFSRLRE SAA PSQTSVYFCA SSPRGQGRSY EQYFGPGTRL TVT
112	TCR-11	ベータ	CDR1	MNHNS
113	TCR-11	ベータ	CDR2	SASEGT
130	TCR-11	ベータ	CDR3	ASSPRGQGRS YEQY
11	TCR-11	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH V ELSWVWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRYLSSRL RVSATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPVT QI VSAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLVSALV LMA MVKRKDSRG
131	TCR-11	ベータ	全長	GVTQTPKFQV LKTGQSMTLQ CAQDMNHNSM YWYRQDP GMG LRLIYYSASE GTTDKGEVNP GYNVSRNLNR EFSRLRE SAA PSQTSVYFCA SSPRGQGRSY EQYFGPGTRL TVT EDL KNVFPPE VAVFEPSEAE ISHTQKATLV CLATGFYPDH VELS WVWVNGK EVHSGVSTDP QPLKEQPALN DSRYLSSRL RVS ATFWQNP RNHFRCQVQF YGLSENDEWT QDRAKPVTQI V SAEAWGRAD CGFTSESYQQ GVLSATILYE ILLGKATLYA VLV SALV LMA MVKRKDSRG
132	TCR-2	アルファ	可変ドメイン	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNFKQA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CAMREGSDAG GTSYGKLTFG QGTILT VHP
24	TCR-2	アルファ	CDR1	TSDQSYG
25	TCR-2	アルファ	CDR2	QGSYDEQN
133	TCR-2	アルファ	CDR3	AMREGSDAGG TSYGKLT
751	TCR-2	アルファ	定常ドメイン	NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQS KSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVA WSNKSD FACANAFN NSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLL MTRLRWSS
134	TCR-2	アルファ	全長	QKITQTQPGM FVQEKEAVTL DCTYDTSQDS YGLFWYKQPS SGEMIFLIYQ GSYDEQNATE GRYSLNFKQA RKSANLVISA SQLGDSAMYF CAMREGSDAG GTSYGKLTFG QGTILT VHP NIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVQS KSDSVYI TDKTVLDMRSMDFKSN SAVA WSNKSD FACANAFN NSIIPEDTF FPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLL MTRLRWSS
135	TCR-2	ベータ	可変ドメイン	GVIQSPRH LI KEKRETATLK CYPIRHDTV YWYQQGPGQD PQFLISFYEK MQSDKGSIPD RFSAQQFSDY HSELNMS SLE L GDSALYFCA SSPSTGRLNT EAFFGQGTRL TVV
75	TCR-2	ベータ	CDR1	PRHDT
76	TCR-2	ベータ	CDR2	FYEKMQ
136	TCR-2	ベータ	CDR3	ASSPSTGRLN TEAF
32	TCR-2	ベータ	定常ドメイン	EDLKNVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSW WVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYLSSRLRVSATFW QNP RNHFRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGR ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALV LMA MVK RKDF
137	TCR-2	ベータ	全長	GVIQSPRH LI KEKRETATLK CYPIRHDTV YWYQQGPGQD PQFLISFYEK MQSDKGSIPD RFSAQQFSDY HSELNMS SLE L

10

20

30

40

【表 3 - 1 2】

				GDSALYFCA SSPSTGRLNT EAFFGQGTRL TVV EDLKNVFP PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWVWVNGKEV HSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYLSSRLRVSATFWQNP RNHFRC QVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVS YQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALV LMA MVKRKDF
--	--	--	--	--

【 0 3 3 1】

T C R の再発現

50

ヒト定常鎖ドメインを、疎水性を増強するための膜貫通ドメイン中の追加の突然変異を有するそれらのマウス対応物により交換した。両方の改変は、Jin et al., JCI Insight. 2018;3(8):e99488において記載されている。

【0332】

機能的な特性を評価するために、同定されたTCRを、TCR mRNAエレクトロポレーション技術を使用して健常ドナーの初代T細胞中で再発現させた。簡潔に述べれば、T7転写をTCRアルファおよびベータ鎖ヌクレオチド配列のDNA鋳型上で行った。得られたTCR mRNAを、共培養実験において検証された外因性TCRの一過性発現のための予備活性化されたT細胞のエレクトロポレーションのために使用した。

【0333】

共培養アッセイ（機能的なアビディティ、特異性、およびTCRモチーフの評価）

TCRの機能的な特性を、T2細胞を用いた共培養実験において評価した。CD8+ T細胞を予備刺激し、TCR mRNAをエレクトロポレートした。共培養の日に、ルシフェラーゼを形質導入されたT2細胞に、異なる濃度のペプチドCT45-IP（配列番号138）（機能的なアビディティの評価、EC50）、10 μMの濃度の配列類似ペプチド（配列番号146～155）、またはそれぞれのTCRの平均EC50を10～30倍上回る濃度範囲のCT45-IPペプチドのアラニン置換変異体（配列番号139～145）（TCRモチーフ決定）のいずれかをロードした。コントロールとして、10 μMの濃度の無関連ペプチドNYESO1-001（配列番号188）およびロードされていないT2細胞を使用した。簡潔に述べれば、T2細胞をそれぞれの量のペプチドと2時間インキュベートし、その後洗浄および採取した。

【0334】

モデルTCR 1G4-a95Lyをエレクトロポレートされた細胞の他に、外因性TCRを有しないmockエレクトロポレートT細胞をコントロールとした。T細胞およびペプチドロードT2細胞を1:1の比で播種し、上清採取まで24hインキュベートした。上清を、ペプチド特異的T細胞により殺滅されたアポトーシス/ネクローシスT2細胞により放出されるルシフェラーゼの存在についての分析に供した。特異的な基質を加えることにより、上清中に存在するルシフェラーゼの量を、マイクロプレートリーダーにおいて化学発光シグナルを測定することにより決定した。

【0335】

CD4+ T細胞における機能性についての試験

CD3+ T細胞を刺激し、TCR mRNAをエレクトロポレートした。終夜のインキュベーション後に、TCRをトランスフェクトされたT細胞を、10 μMのCT45-IP（配列番号138）または10 μMの無関連NYESO1-001（配列番号188）ペプチドのいずれかをロードされたT2細胞と1:1の比で共培養した。共培養の開始の直後に、サイトカイン分泌遮断試薬を加え、37 °Cで5hインキュベートした。その後、T細胞を、異なる表面マーカー、例えばCD4およびCD8のための蛍光標識された抗体で染色した。固定および透過処理の後に、細胞を細胞内サイトカイン（TNF-αおよびIFN-γ）について染色し、フローサイトメーター上で分析した（データ示さず）。

【0336】

共刺激分子CD8のレンチウイルス併用形質導入

MHCクラスI制限TCRの形質導入後にCD4+ T細胞を免疫応答に関与させるために、共刺激分子CD8を用いる併用形質導入を実行した。その目的のために、TCR鎖の他にCD8分子をコードするレンチウイルスベクターを、予備刺激されたCD3+ T細胞の形質導入のために使用した。IL-2の追加と共にプレートに被覆されたCD3および抗CD28を使用してT細胞を24h活性化させた。予備滴定された濃縮されたレンチウイルス上清を、レンチウイルス粒子の形質導入増強用のアジュバント、例えば、Lentiboost（登録商標）試薬（Sirion Biotech）と共に細胞に加えた。T細胞をより大きい細胞培養フラスコに連続的に移しながら、増加容量の培地および減

10

20

30

40

50

少濃度の I L - 2 を使用して 10 日にかけて T 細胞を拡大増殖させた。T 細胞の形質導入効率および静止状態を細胞の凍結に先立ってフローサイトメトリーを介して確認した。その後、C T 4 5 - I P 提示腫瘍細胞に対する殺滅効率における C D 8 併用トランスフェクションの効果を生細胞モニタリング殺滅アッセイにおいて分析した (データ示さず) 。

【 0 3 3 7 】

T C R 表面染色

エレクトロポレートおよび予備活性化された C D 8 + T 細胞を用いて表面マーカー染色を行った。この目的のために、抗 C D 8、C D 3 および / または m T C R B 抗体を使用した他に、蛍光標識された D e x t r a m e r (コンジュゲートされた C T 4 5 - I P - H L A - A * 0 2 または無関連 N Y E S O 1 - 0 0 1 - H L A - A * 0 2 を有するデキストラマー骨格) を用いて T C R 染色を行った。30 分後に、細胞を洗浄し、固定し、その後フローサイトメトリーにより分析した。デキストラマー陽性細胞を定義するために、ゲートを、無関連ペプチド - M H C デキストラマーを用いて染色された細胞のシグナルに従って設定した。

10

【 0 3 3 8 】

生細胞モニタリング殺滅アッセイ

赤色蛍光タンパク質 (R F P) を発現する腫瘍細胞株の増殖を、生細胞イメージングシステムを使用して、赤色物体カウントを経時的に定量化することによりモニターした。細胞株 N C I H 1 7 0 3 および A 3 7 5 を、本発明の T C R を発現する T 細胞と 9 : 1、3 : 1 もしくは 1 : 1 の E : T 比で共培養したか、または T 細胞なしで培養し、48 h の期間にかけてモニターした。陽性コントロールとして、標的細胞に 10 μ M のペプチド C T 4 5 - I P をロードした。経時的な腫瘍細胞株増殖の低下は腫瘍細胞殺滅についての指標である。

20

[実施例 1]

【 0 3 3 9 】

機能的なアビディティ

15 個全ての同定された C T 4 5 - I P 特異的 T C R は、図 1 に示される半数最大殺滅能力 E C ₅₀ として表されるペプチド滴定実験により測定された場合の高い機能的なアビディティを示す。測定された E C ₅₀ 値は 0 . 1 5 n M ~ 5 9 . 5 n M の範囲に及ぶ。特に、E C ₅₀ 値は、7 . 7 8 n M (T C R - 1) ; 4 . 6 9 n M (T C R - 2) ; 1 . 0 2 n M (T C R - 3) ; 1 . 3 1 n M (T C R - 4) ; 1 . 3 2 n M (T C R - 5) ; 3 . 2 5 n M (T C R - 6) ; 0 . 4 8 n M (T C R - 7) ; 6 . 5 2 n M (T C R - 8) ; 0 . 1 5 n M (T C R - 9) ; 8 . 7 5 n M (T C R - 1 0) ; 5 9 . 5 0 n M (T C R - 1 1) ; 4 7 . 4 7 n M (T C R - 1 2) ; 1 1 . 3 8 n M (T C R - 1 3) ; 1 7 . 6 9 n M (T C R - 1 4) ; 1 8 . 6 0 n M (T C R - 1 5) である。

30

[実施例 2]

【 0 3 4 0 】

特異性および T C R モチーフ

本明細書に記載される T C R を、10 個の C T 4 5 - I P 配列類似ペプチド (配列番号 1 4 6 ~ 1 5 5) を認識する能力を試験することによりそれらの特異性プロファイルについて試験した。C T 4 5 - I P および C T 4 5 - I P 配列類似ペプチドを用いたローディングは、低いシグナルを検出するために、10 μ M の非常に高い濃度で行った。T C R は、C T 4 5 - I P 以外の別のペプチドへの結合を示さなかった。図 2 において描写されるように、ペプチド S P - 0 5 - 0 0 0 4 (配列番号 1 4 9) に対する軽微な結合シグナルが T C R - 9 および T C R - 6 について検出された。T C R のキャラクタリゼーションはまた、表 4 に列挙されている C T 4 5 - I P ペプチドに対する T C R 結合モチーフの決定を伴った。この目的のために、C T 4 5 - I P アラニン交換ペプチド変異体 (配列番号 1 3 9 ~ 1 4 5) を、15 個全ての T C R を用いた共培養実験において試験した。アラニン交換ペプチドは、それぞれの T C R の平均 E C ₅₀ を 10 ~ 30 倍上回る濃度範囲において試験した。関連する位置は数 (ペプチド中のアミノ酸の位置を指す) により示され、関

40

50

連しない位置はハイフンにより表され、試験されなかった位置はxにより標識される。

【0341】

【表4】

表4 - コンセンサスモチーフ

ID	コンセンサスモチーフ
TCR-1	1x34567-x
TCR-2	-x3(4)567-x
TCR-3	-x34567-x
TCR-4	-x34-678x
TCR-5	-x3--67(8)x
TCR-6	1x34-6--x
TCR-7	1x-4-67-x
TCR-8	-x---5-7-x
TCR-9	1x34567(8)x
TCR-10	-x--567-x
TCR-11	1x3456-8x
TCR-12	-x34-67-x
TCR-13	1x34-67-x
TCR-14	1x345---x
TCR-15	1x34567-x

10

20

[実施例3]

【0342】

CD4機能性

CD4+ T細胞における機能性についての試験を上記のように行った。15個の試験されたTCRの中で、本発明者らは、CD8+ T細胞の他にCD4+ T細胞において機能性を示すTCRを同定した(データ示さず)。

30

[実施例4]

【0343】

表面発現

本明細書に記載されるTCRの表面発現をCT45-IP-HLA-A2*02デキストラマー染色により測定し、図3に示した。表面発現は、TCR mRNAエレクトロポレーション後のCD3+ T細胞におけるゲーティング後に0.53%(TCR-11)~55.5%(TCR-5)の陽性事象で変動した。特に、表面発現は、8.9%(TCR-1); 39.1%(TCR-2); 27.2%(TCR-3); 39.1%(TCR-4); 61.1%(TCR-5); 2.9%(TCR-6); 53.3%(TCR-7); 60.7%(TCR-8); 44.0%(TCR-9); 52.8%(TCR-10); 6.6%(TCR-11); 20.1%(TCR-12); 53.1%(TCR-13); 11.6%(TCR-14); 22.6%(TCR-15)であった。

40

[実施例5]

【0344】

腫瘍細胞株に対する有効性

2つの腫瘍細胞株、細胞当たり約30コピーのCT45-IPを有するA375および細胞当たり約150コピーのCT45-IPを有するNCIH1703を、TCR-9、TCR-7またはMock-TCRを発現するCD8+ T細胞と共培養した(図4)。

50

2つの細胞株を殺滅するためのそれらのTCRの有効性を生細胞モニタリング実験において評価した。< 2の正規化された赤色物体カウントにより測定された場合に、Mock-TCRは腫瘍細胞増殖の有意な減少をもたらさないが、TCR-9およびTCR-7は、6:1(TCR-9)または1.8:1(TCR-7)のE:T比においてCT45-IPペプチドをロードされた腫瘍細胞株(NCIH1703 & A375)、6:1(TCR-9)または1.8:1(TCR-7)のE:T比において追加のペプチドローディングなしの腫瘍細胞株(NCIH1703 & A375)、ならびに2:1(TCR-9)または0.6:1(TCR-7)および0.6:1(TCR-9)または0.2:1(TCR-7)のE:T比において腫瘍細胞株(NICIH1703)を効率的に殺滅する。

[実施例6]

【0345】

安全性ウィンドウ

それぞれペプチドCT45-IPおよびSP-05-0004の滴定系列をロードされたT2細胞を使用して共培養アッセイを行った。EC50 SP-05-0004をEC50 CT45-IPで割ることで安全性ウィンドウを決定した(データ示さず)。

[実施例7]

【0346】

CT45-IP提示

CT45-IP抗原ペプチドの検出頻度を初代および培養された腫瘍サンプルにおいて分析した。結果の要約を表5に示す。表において、>0%の発現を+として示し、10%の発現を++として示し、30%の発現を+++として示す。提示が検出された腫瘍実体は、胆管がん(CCC)、肝臓がん(HCC)、皮膚がん(細胞株同定に起因して、MEL)、リンパ節がん(NHL)、非小細胞肺癌(NSCLC)、卵巣がん(OC)、食道がん(OSCAR)および子宮がん(UEC)である。

【0347】

【表5】

表5 - 標的提示

実体	標的検出頻度 (%)
CCC	+
HCC	+
MEL	+++
NHL	+
NSCLC	+
OC	++
OSCAR	++
UEC	+

[実施例8]

【0348】

腫瘍細胞に対するCT45-IP特異的TCRおよびCD8を併用形質導入されたCD4+ T細胞の有効性

CT45-IPを提示する腫瘍細胞を、本明細書に記載されるCT45-IP特異的TCRおよびCD8を併用形質導入されたCD4+ T細胞またはCD3+ T細胞と共培養した。T細胞の殺滅有効性を生細胞モニタリング実験において評価した。CT45-IP特異的TCRおよびCD8の併用形質導入で、< 2の正規化された赤色物体カウントにより測定された場合の腫瘍細胞株の効率的な殺滅が観察された(データ示さず)。

10

20

30

40

50

【 0 3 4 9 】

項目

1. 主要組織適合複合体 (MHC) タンパク質との複合体で存在しているCT45抗原ペプチドに特異的に結合する抗原結合タンパク質であって、前記CT45抗原ペプチドは、配列番号138のアミノ酸配列 (K I F E M L E G V) を含むか、またはからなり、かつ前記抗原結合タンパク質は、相補性決定領域 (CDR) CDR a 1、CDR a 2およびCDR a 3を含む可変ドメインV_Aを含む第1のポリペプチドと、CDR b 1、CDR b 2およびCDR b 3を含む可変ドメインV_Bを含む第2のポリペプチドとを含み、

1) CDR a 1は、配列番号14のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号16のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号19のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号21のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

2) CDR a 1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号133のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号136のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

3) CDR a 1は、配列番号24のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号63のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号68のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

4) CDR a 1は、配列番号90のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号92のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号66のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号96のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

5) CDR a 1は、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号4のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号8のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号10のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

6) CDR a 1は、配列番号53のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号55のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号58のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号60のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

7) CDR a 1は、配列番号71のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号72のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号77のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

8) CDR a 1は、配列番号99のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号101のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号75のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号104のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

9) CDR a 1は、配列番号80のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号82のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号85のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号87のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

10) CDR a 1は、配列番号107のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号109のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は、配列番号112のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつCDR b 3は、配列番号114のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

11) CDR a 1は、配列番号125のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR a 3は、配列番号127のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、CDR b 1は

10

20

30

40

50

、配列番号 112 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 130 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

12) CDR a 1 は、配列番号 117 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 119 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 58 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 122 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

13) CDR a 1 は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 35 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 38 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 40 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

14) CDR a 1 は、配列番号 24 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 26 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 29 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 31 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

15) CDR a 1 は、配列番号 43 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR a 3 は、配列番号 45 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、CDR b 1 は、配列番号 48 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 3 は、配列番号 50 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

前記抗原結合タンパク質は、1、2 または 3 個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 CDR a 1、CDR a 3、CDR b 1 および CDR b 3 配列を含み、CDR a 1、CDR a 3、CDR b 1 および / または CDR b 3 のそれぞれは、1、2 または 3 個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、
抗原結合タンパク質。

【0350】

2 .

1) CDR a 2 は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 20 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

2) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

3) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 67 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

4) CDR a 2 は、配列番号 91 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 95 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

5) CDR a 2 は、配列番号 3 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

6) CDR a 2 は、配列番号 54 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

7) CDR a 2 は、配列番号 15 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

8) CDR a 2 は、配列番号 100 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 76 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

9) CDR a 2 は、配列番号 81 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 86 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

10) CDR a 2 は、配列番号 108 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

11) CDR a 2 は、配列番号 126 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 113 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、または

12) CDR a 2 は、配列番号 118 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ CDR b 2 は、配列番号 59 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、

13) CDR a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくははからなり、かつ

C D R b 2 は、配列番号 39 のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

14) C D R a 2 は、配列番号 25 のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ

C D R b 2 は、配列番号 30 のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、または

15) C D R a 2 は、配列番号 44 のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、かつ

C D R b 2 は、配列番号 49 のアミノ酸配列を含むか、もしくはからなり、

前記抗原結合タンパク質は、1、2、3または4個よりも多くのアミノ酸突然変異を有しない前記 C D R a 2 および C D R b 2 配列を含み、C D R a 2 および/または C D R b 2 のそれぞれは、1、2、3または4個のアミノ酸突然変異を含んでもよい、

項目 1 に記載の抗原結合タンパク質。

【0351】

3. 前記抗原結合タンパク質は、前記 C T 45 抗原ペプチドと M H C タンパク質との複合体に特異的に結合する、項目 1 または 2 に記載の抗原結合タンパク質。

【0352】

4. 前記 M H C タンパク質は、H L A タンパク質、より具体的には H L A - A、よりいっそう具体的には H L A - A * 02 である、項目 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0353】

5. 前記抗原結合タンパク質を発現する T 細胞による C T 45 - I P : M H C 複合体提示細胞の殺滅の誘導についての C T 45 - I P の E C₅₀ は、約 60 nM 未満、約 50 nM 未満、約 30 nM 未満、約 25 nM 未満、約 20 nM 未満、約 15 nM 未満、約 10 nM 未満、約 5 nM 未満、約 2.5 nM 未満、約 1.5 nM 未満または約 1 nM 未満である、項目 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0354】

6. 前記抗原結合タンパク質は、配列番号 138 の 3、4、5、6 および 7 位からなる群から選択される 2、3 または 4 箇所のアミノ酸位置を含むか、またはからなる機能エピソードに特異的に結合する、項目 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0355】

7. 前記抗原結合タンパク質は、配列番号 146 (S P - 05 - 0001)、配列番号 147 (S P - 05 - 0002)、配列番号 148 (S P - 05 - 0003)、配列番号 149 (S P - 05 - 0004)、配列番号 150 (S P - 05 - 0005)、配列番号 151 (S P - 05 - 0006)、配列番号 152 (S P - 05 - 0007)、配列番号 153 (S P - 05 - 0008)、配列番号 154 (S P - 05 - 0009) および配列番号 155 (S P - 05 - 0010) からなる群、好ましくは配列番号 146 (S P - 05 - 0001)、配列番号 147 (S P - 05 - 0002)、配列番号 148 (S P - 05 - 0003)、配列番号 150 (S P - 05 - 0005)、配列番号 151 (S P - 05 - 0006)、配列番号 152 (S P - 05 - 0007)、配列番号 153 (S P - 05 - 0008)、配列番号 154 (S P - 05 - 0009) および配列番号 155 (S P - 05 - 0010) からなる群、より好ましくは配列番号 147 (S P - 05 - 0002)、配列番号 151 (S P - 05 - 0006)、配列番号 152 (S P - 05 - 0007) および配列番号 155 (S P - 05 - 0010) からなる群から選択される少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5 個、または全ての類似ペプチドに有意に結合しない、項目 1 ~ 6 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0356】

8. 前記第 1 のポリペプチドおよび前記第 2 のポリペプチドは 2 つのポリペプチド鎖上に含まれており、好ましくは、V_A は、第 1 のポリペプチド鎖に含まれており、かつ V_B は、第 2 のポリペプチド鎖に含まれている、項目 1 ~ 7 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0357】

9. 前記抗原結合タンパク質は、一本鎖抗原結合タンパク質、好ましくは一本鎖 T C R、または一本鎖二重特異性抗原結合タンパク質、好ましくは一本鎖二重特異性 T C R であ

10

20

30

40

50

【0367】

19. V_A および V_B は、TCR 可変ドメイン、好ましくは TCR アルファ、ベータ、ガンマまたはデルタ可変ドメインであり、より好ましくは、 V_A は、TCR アルファまたはガンマ、好ましくはアルファ、可変ドメインであり、かつ V_B は、TCR ベータまたはデルタ、好ましくはベータ、可変ドメインである、項目 1 ~ 18 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0368】

20. 前記抗原結合タンパク質は、定常ドメインをさらに含み、前記定常ドメインは、配列番号 5、750、751、156、11、32、および 157 からなる群から選択される、好ましくは配列番号 5、750、751、11 および 32 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 5、750、751、156、11、32 もしくは 157 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなる、項目 1 ~ 19 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

10

【0369】

21. 前記第 1 のポリペプチドは TCR アルファ鎖であり、かつ前記第 2 のポリペプチドは TCR ベータ鎖であるか、または前記第 1 のポリペプチドは TCR ガンマ鎖であり、かつ前記第 2 のポリペプチドは TCR デルタ鎖であり、好ましくは、前記第 1 のポリペプチドは TCR アルファ鎖であり、かつ前記第 2 のポリペプチドは TCR ベータ鎖である、項目 1 ~ 20 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

20

【0370】

22. 前記第 1 のポリペプチドは、配列番号 17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46 および 158 ~ 172 からなる群から選択される、好ましくは配列番号 17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 17、134、64、93、6、56、73、102、83、110、128、120、36、27、46 もしくは 158 ~ 172 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなり、かつ前記第 2 のポリペプチドは、配列番号 22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33、51 および 173 ~ 187 からなる群から選択される、好ましくは配列番号 22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33、51 からなる群から選択されるアミノ酸配列、または配列番号 22、137、69、97、12、61、78、105、88、115、131、123、41、33、51 もしくは 173 ~ 187 に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% もしくは 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含むか、またはからなる、項目 1 ~ 21 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

30

【0371】

23. 前記抗原結合タンパク質は、

i. 配列番号 138 のアミノ酸 1、3 および 4 位、好ましくは、配列番号 138 のアミノ酸 1、3、4 および 5 位、もしくは 1、3、4 および 6 位もしくは 1、3、4、5 および 6 位もしくは 1、3、4、5、6 および 7 位；

40

ii. 配列番号 138 のアミノ酸 4、6 および 7 位、好ましくは、配列番号 138 のアミノ酸 1、4、6 および 7 位、もしくは 3、4、6 および 7 位もしくは 1、3、4、6 および 7 位；または

iii. 配列番号 138 のアミノ酸 5 および 7 位、好ましくは、配列番号 138 のアミノ酸 5、6 および 7 位、もしくは 3、4、5、6 および 7 位を含むか、またはからなる機能エピトープに特異的に結合する、項目 1 ~ 22 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質。

【0372】

50

24. 前記抗原結合タンパク質は、

i. 配列番号146 (SP-05-0001)、配列番号147 (SP-05-0002)、配列番号148 (SP-05-0003)、配列番号149 (SP-05-0004)、配列番号150 (SP-05-0005)、配列番号151 (SP-05-0006)、配列番号152 (SP-05-0007)、配列番号153 (SP-05-0008)、配列番号154 (SP-05-0009) および配列番号155 (SP-05-0010) ; または

ii. 配列番号146 (SP-05-0001)、配列番号147 (SP-05-0002)、配列番号148 (SP-05-0003)、配列番号150 (SP-05-0005)、配列番号151 (SP-05-0006)、配列番号152 (SP-05-0007)、配列番号153 (SP-05-0008)、配列番号154 (SP-05-0009) および配列番号155 (SP-05-0010)

からなる群の類似ペプチドに有意に結合しない、項目1~23のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0373】

25. 前記抗原結合タンパク質は、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、または少なくとも40%の平均発現を有する、項目1~24のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0374】

26. V_A は、TRAV14、特にTRAV14/DV4によりコードされるVセグメント、ならびに配列番号24のCDRa1および配列番号25のCDRa2を含む、項目1~25のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0375】

27. V_B は、

i. TRBV13によりコードされるVセグメント、ならびに配列番号75のCDRb1および配列番号76のCDRb2 ;

ii. TRBV4-1によりコードされるV領域、ならびに配列番号58のCDRb1および配列番号59のCDRb2、または

iii. TRBV6-1によりコードされるV領域、ならびに配列番号112のCDRb1および配列番号113のCDRb2

を含む、項目1~26のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0376】

28. 前記抗原結合タンパク質は、

- CD4+ T細胞、特にCD4+ CD8- T細胞、および/または

- CD8+ T細胞、特にCD8+ CD4- T細胞

を活性化可能であり、

かつ前記抗原結合タンパク質は、好ましくはTCR、より好ましくは / TCRまたは / TCRである、

項目1~27のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質。

【0377】

29. 項目1~28のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質をコードする1つまたは複数の配列を含む1つまたは複数の核酸。

【0378】

30. 項目29に記載の核酸を含むベクターまたはベクターの集合物。

【0379】

31. 項目1~28のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質、または項目29に記載の核酸、または項目30に記載のベクターもしくはベクターの集合物を含む宿主細胞。

【0380】

32. 前記宿主細胞は、

- リンパ球、好ましくはT細胞、T細胞前駆細胞もしくはNK細胞、より好ましくは

10

20

30

40

50

C D 4 もしくは C D 8 陽性 T 細胞 ; または

- 組換え発現用の細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞もしくは酵母細胞

である、項目 3 1 に記載の宿主細胞。

【 0 3 8 1 】

3 3 . 項目 1 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質、項目 2 9 に記載の核酸、項目 3 0 に記載のベクターもしくはベクターの集合物、または項目 3 1 もしくは 3 2 に記載の宿主細胞と、適宜、医薬的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【 0 3 8 2 】

3 4 . 医薬での使用のための、項目 1 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質、項目 2 9 に記載の核酸、項目 3 0 に記載のベクターもしくはベクターの集合物、項目 3 1 もしくは 3 2 に記載の宿主細胞、または項目 3 3 に記載の医薬組成物。

【 0 3 8 3 】

3 5 . 増殖性疾患、特にがんの処置および / または診断方法での使用のための、項目 1 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質、項目 2 9 に記載の核酸、項目 3 0 に記載のベクターもしくはベクターの集合物、項目 3 1 もしくは 3 2 に記載の宿主細胞、または項目 3 3 に記載の医薬組成物。

【 0 3 8 4 】

3 6 . 増殖性疾患、特にがんの処置方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量の、項目 1 ~ 2 8 のいずれか 1 つに記載の抗原結合タンパク質、項目 2 9 に記載の核酸、項目 3 0 に記載のベクターもしくはベクターの集合物、項目 3 1 もしくは 3 2 に記載の宿主細胞、または項目 3 3 に記載の医薬組成物を投与することを含む方法。

【 0 3 8 5 】

3 7 . 前記がんは、C T 4 5 発現がん、より具体的には、肺がん、N S C L C、胆嚢がん、胆管がん、リンパ節がん、卵巣がん、食道がん、肝臓がん、子宮がんおよび黒色腫からなるがんの群から選択される、項目 3 5 に記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目 3 6 に記載の処置方法。

【 0 3 8 6 】

3 8 . 前記処置方法は、免疫療法、特に養子自家または異種 T 細胞療法を含む、項目 3 5 もしくは 3 7 に記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目 3 6 もしくは 3 7 に記載の処置方法。

【 0 3 8 7 】

3 9 . 前記抗原結合タンパク質は、T C R である、項目 3 5 、 3 7 もしくは 3 8 のいずれか 1 つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目 3 6 ~ 3 8 のいずれか 1 つに記載の処置方法。

【 0 3 8 8 】

4 0 . 前記抗原結合タンパク質は、宿主細胞の表面上に発現される、項目 3 5 もしくは 3 7 ~ 3 9 のいずれか 1 つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目 3 6 ~ 3 9 のいずれか 1 つに記載の処置方法。

【 0 3 8 9 】

4 1 . 前記処置方法は、前記抗原結合タンパク質を発現する宿主細胞の投与を含み、前記宿主細胞は、T 細胞、T 細胞前駆細胞または N K 細胞、好ましくは T 細胞である、項目 3 5 もしくは 3 7 ~ 4 0 のいずれか 1 つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目 3 6 ~ 4 0 のいずれか 1 つに記載の処置方法。

【 0 3 9 0 】

10

20

30

40

50

42. 前記宿主細胞、好ましくは前記T細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、より好ましくは前記T細胞は、自家である、項目40に記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目40に記載の処置方法。

【0391】

43. 前記宿主細胞、好ましくは前記T細胞、T細胞前駆細胞またはNK細胞、より好ましくは前記T細胞は、同種である、項目40に記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目40に記載の処置方法。

【0392】

44. 前記抗原結合タンパク質は、治療活性剤にコンジュゲートされている、項目35もしくは37～43のいずれか1つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目36～43のいずれか1つに記載の処置方法。

【0393】

45. 前記治療活性剤は、放射性核種、化学療法剤および毒素からなる群から選択される、項目44のいずれか1つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目44のいずれか1つに記載の処置方法。

【0394】

46. 前記処置方法は、処置を必要とする前記対象に少なくとも1つの化学療法剤を投与することをさらに含む、項目35もしくは37～45のいずれか1つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目36～45のいずれか1つに記載の処置方法。

【0395】

47. 前記処置方法は、処置を必要とする前記対象に放射線療法を投与することをさらに含む、項目35もしくは37～46のいずれか1つに記載の使用のための抗原結合タンパク質、核酸、ベクターもしくはベクターの集合物、宿主細胞もしくは医薬組成物または項目36～46のいずれか1つに記載の処置方法。

【0396】

48. それを必要とする対象においてがんを処置する方法であって、
 a) 前記対象から細胞を単離すること；
 b) 項目1～28のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質をコードするベクターまたはベクターの集合物を用いて前記細胞を形質転換して、形質転換された細胞を製造すること；
 c) 前記形質転換された細胞を拡大増殖させて、複数の形質転換された細胞を製造すること；および
 d) 前記複数の形質転換された細胞を前記対象に投与すること
 を含む方法。

【0397】

49. それを必要とする対象においてがんを処置する方法であって、
 a) 健常ドナーから細胞を単離すること；
 b) 項目1～28のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質をコードするベクターまたはベクターの集合物を用いて前記細胞を形質転換して、形質転換された細胞を製造すること；
 c) 前記形質転換された細胞を拡大増殖させて、複数の形質転換された細胞を製造すること；および
 d) 前記複数の形質転換された細胞を前記対象に投与すること
 を含む方法。

【0398】

10

20

30

40

50

50. 前記形質転換された細胞は、リンパ球、好ましくはNK細胞またはT細胞またはT細胞前駆細胞、より好ましくはT細胞である、項目48または49に記載の方法。

【0399】

51. 増殖性疾患の処置用の医薬の生産のための、項目1~28のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質の使用。

【0400】

52. 生物学的サンプル中のがん、特にCT45を発現するがんを検出するインビトロの方法であって、

a) 前記生物学的サンプルを項目1~28のいずれか1つに記載の抗原結合タンパク質と接触させること、および

b) 前記生物学的サンプルへの前記抗原結合タンパク質の結合を検出することを含む方法。

【0401】

53. 項目1~28のいずれか1つに係る抗原結合タンパク質を製造する方法であって、

a) 宿主細胞を準備すること、

b) 項目1~28のいずれかに記載の抗原結合タンパク質をコードする1つまたは複数の核酸を含む遺伝子コンストラクトを準備すること、

c) 遺伝子コンストラクトを宿主細胞に導入すること、および

d) 宿主細胞により遺伝子コンストラクトを発現させること

を含む方法。

【0402】

54. 前記宿主細胞からの前記抗原結合タンパク質の単離および精製、ならびに適宜、T細胞中での前記抗原結合タンパク質の再構築をさらに含む項目53に記載の方法。

【0403】

55. 前記抗原結合タンパク質の細胞表面提示をさらに含む、項目53または54に記載の方法。

【0404】

56. 前記遺伝子コンストラクトは、前記抗原結合タンパク質をコードする前記核酸に作動可能に連結されているプロモーター配列を含む発現コンストラクトである、項目53~55のいずれか1つに記載の方法。

【0405】

57. 前記遺伝子コンストラクトは、レトロウイルストランスフェクションにより前記宿主細胞に導入される、項目53~56のいずれか1つに記載の方法。

10

20

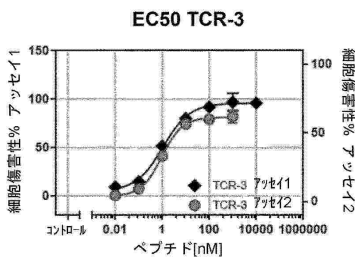
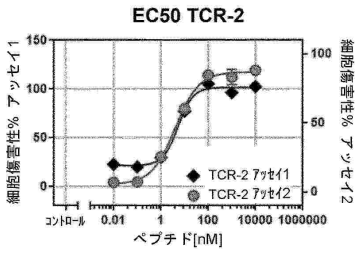
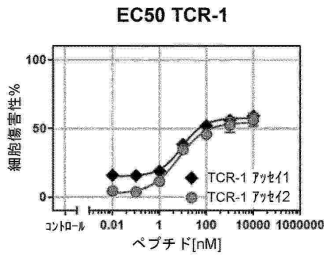
30

40

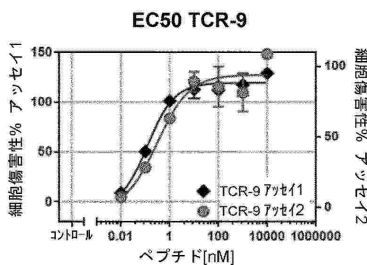
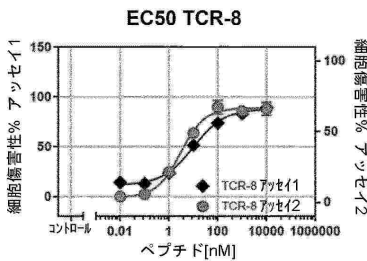
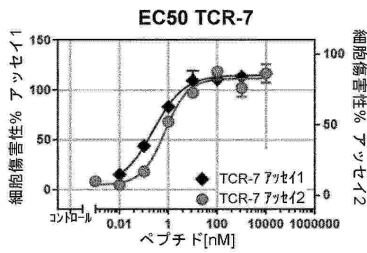
50

【 図 面 】

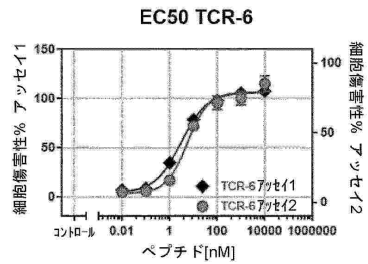
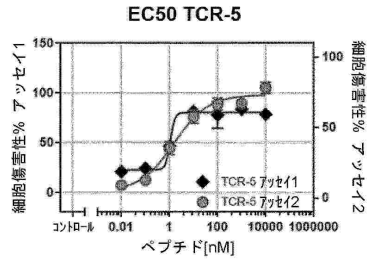
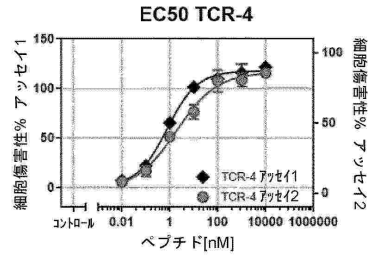
【 図 1 - 1 】



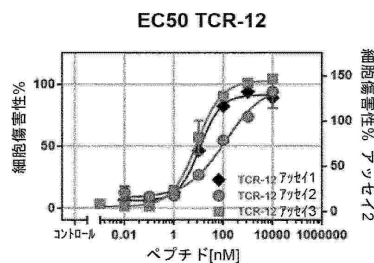
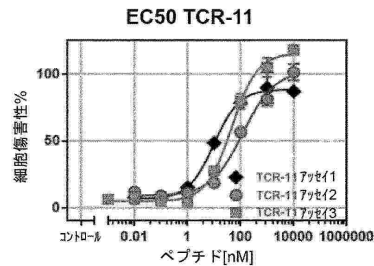
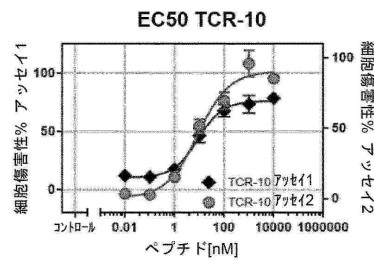
【 図 1 - 3 】



【 図 1 - 2 】



【 図 1 - 4 】



10

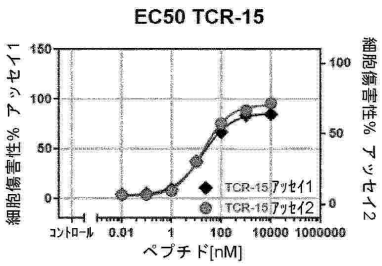
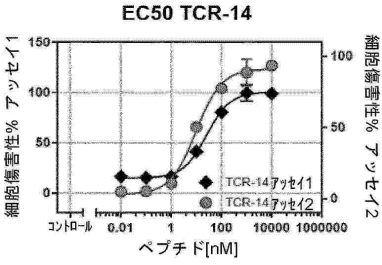
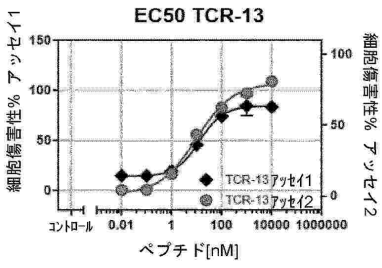
20

30

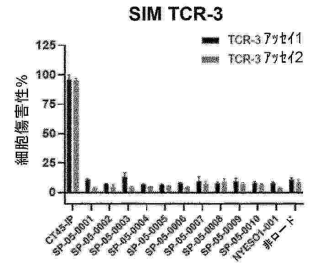
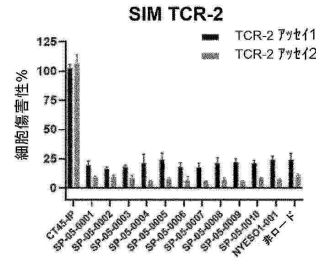
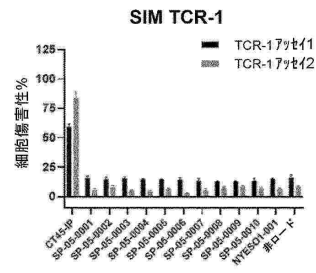
40

50

【 図 1 - 5 】



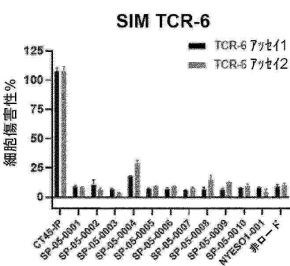
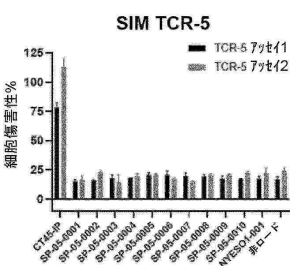
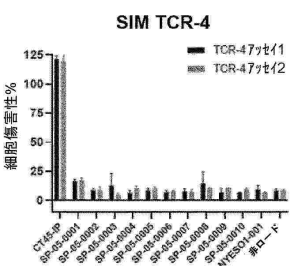
【 図 2 - 1 】



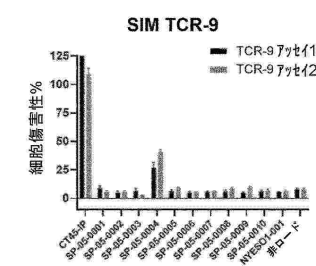
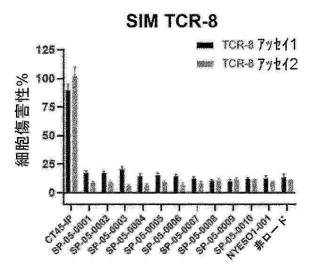
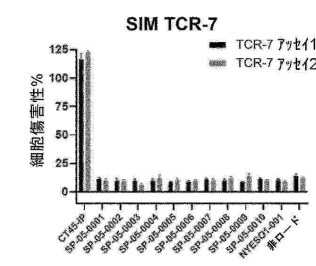
10

20

【 図 2 - 2 】



【 図 2 - 3 】

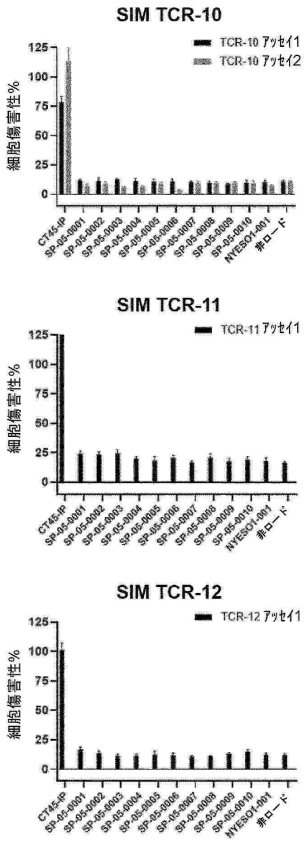


30

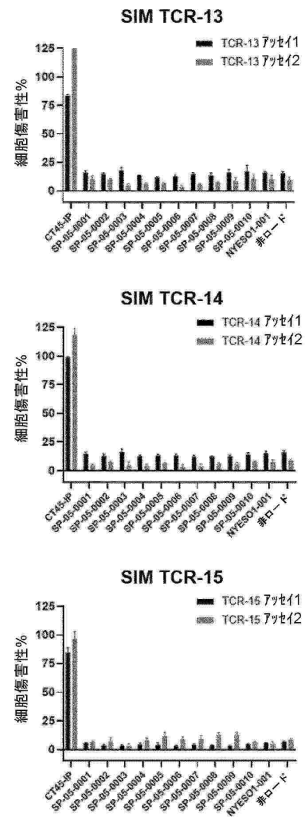
40

50

【 図 2 - 4 】



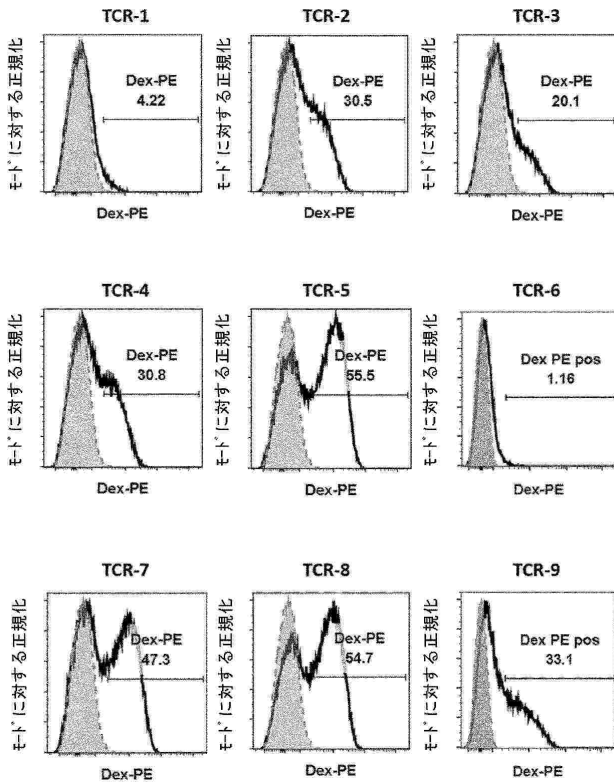
【 図 2 - 5 】



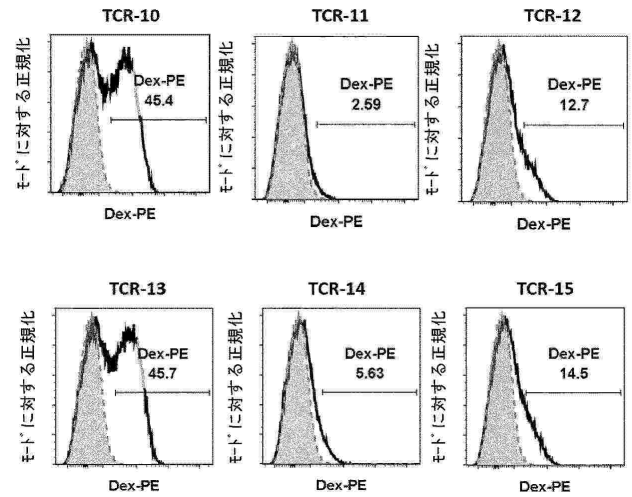
10

20

【 図 3 - 1 】



【 図 3 - 2 】

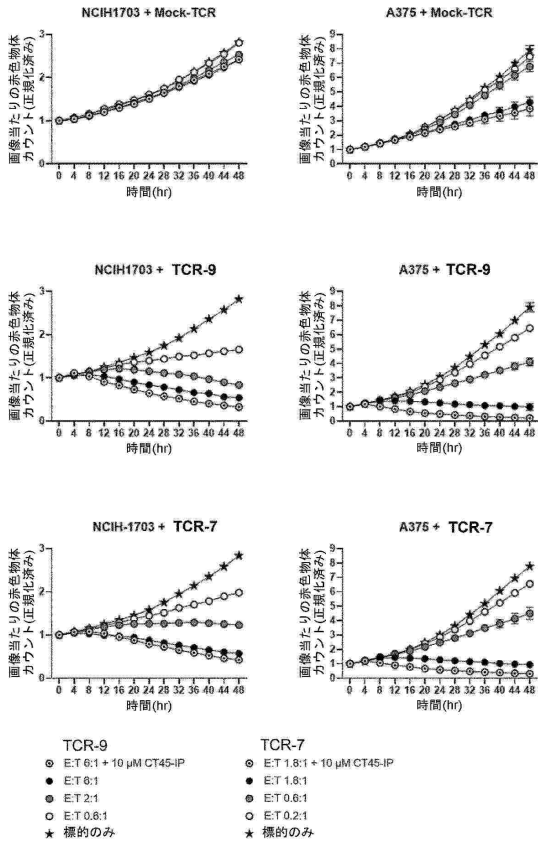


30

40

50

【 図 4 】



10

20

【 配列表 】

202452946700001.xml

30

40

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/071104

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV.	C07K14/47 A61P35/00 C07K16/30 A61K39/00 C07K14/725	
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61P A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2017/195153 A1 (UNIV CHICAGO [US] ET AL.) 16 November 2017 (2017-11-16) 100% identity to SEQ ID 138 -----	1-15
Y	WO 2006/029176 A2 (LUDWIG INST CANCER RES [US]; CORNELL RES FOUNDATION INC [US] ET AL.) 16 March 2006 (2006-03-16) the whole document -----	1-15
Y	WO 2014/091034 A1 (UNIVERSITÄTSMEDIZIN DER JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITÄT MAINZ [DE] ET A) 19 June 2014 (2014-06-19) 100% id with seq 44/49, 25/39 -----	1-15
Y	WO 2020/210202 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]) 15 October 2020 (2020-10-15) 100% id with seq 44/49, 25/39 -----	1-15
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 November 2022		Date of mailing of the international search report 21/11/2022
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Hix, Rebecca

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/071104

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>MS7-5 IDENTIFICATION OF THE MICROTUBULE ASSOCIATED PROTEIN EML4 AS A CANCER/TESTIS ANTIGEN (CT45) INTERACTING PROTEIN: "Koop, A et al.", EUROPEAN JOURNAL OF CELL BIOLOGY, WISSENSCHAFTLICHE VERLAGSGESELLSCHAFT, STUTTGART, DE, vol. 89, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 1-75, XP026906744, ISSN: 0171-9335 [retrieved on 2010-02-16] MS7-5; page 39</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15
Y	<p>COSCIA FABIAN ET AL: "Multi-level Proteomics Identifies CT45 as a Chemosensitivity Mediator and Immunotherapy Target in Ovarian Cancer", CELL, ELSEVIER, AMSTERDAM NL, vol. 175, no. 1, 20 September 2018 (2018-09-20), page 159, XP085481155, ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/J.CELL.2018.08.065 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15
Y	<p>YANG PING ET AL: "Oncogenic cancer/testis antigens are a hallmark of cancer and a sensible target for cancer immunotherapy", BBA - REVIEWS ON CANCER, ELSEVIER SCIENCE BV, AMSTERDAM, NL, vol. 1876, no. 1, 29 April 2021 (2021-04-29), XP086720966, ISSN: 0304-419X, DOI: 10.1016/J.BBCAN.2021.188558 [retrieved on 2021-04-29] paragraph 2.2.4; page 3 - page 4</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15
Y	<p>ANJA KOOP ET AL: "Down-regulation of the cancer/testis antigen 45 (CT45) is associated with altered tumor cell morphology, adhesion and migration", CELL COMMUNICATION AND SIGNALING, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 11, no. 1, 10 June 2013 (2013-06-10), page 41, XP021153392, ISSN: 1478-811X, DOI: 10.1186/1478-811X-11-41 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-15

10

20

30

40

1

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/071104

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017195153 A1	16-11-2017	US 2019144516 A1	16-05-2019
		US 2022153797 A1	19-05-2022
		WO 2017195153 A1	16-11-2017

WO 2006029176 A2	16-03-2006	AU 2005282489 A1	16-03-2006
		CA 2579558 A1	16-03-2006
		EP 1804830 A2	11-07-2007
		JP 2008512120 A	24-04-2008
		US 2011177079 A1	21-07-2011
		WO 2006029176 A2	16-03-2006

WO 2014091034 A1	19-06-2014	AU 2013357239 A1	18-06-2015
		AU 2019236675 A1	17-10-2019
		CA 2894966 A1	19-06-2014
		CA 3108192 A1	19-06-2014
		DK 2932264 T3	06-05-2019
		EP 2932264 A1	21-10-2015
		ES 2721159 T3	29-07-2019
		HU E042967 T2	29-07-2019
		JP 6475166 B2	27-02-2019
		JP 2016501268 A	18-01-2016
		PL 2932264 T3	30-09-2019
		PT 2932264 T	21-05-2019
		SI 2932264 T1	31-05-2019
		TR 201905447 T4	21-05-2019
		US 2015313978 A1	05-11-2015
US 2018099033 A1	12-04-2018		
WO 2014091034 A1	19-06-2014		

WO 2020210202 A1	15-10-2020	US 2022175899 A1	09-06-2022
		WO 2020210202 A1	15-10-2020

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P 21/02	C
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 K 35/12	
G 0 1 N 33/574 (2006.01)	G 0 1 N 33/574	A

(32)優先日 令和4年4月27日(2022.4.27)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,D E,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,T M,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . T R I T O N

2 . T W E E N

ル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5、イマティクス・パイオテクノロジーズ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング内

(72)発明者 ブルク , ファビアン

ドイツ 7 2 0 7 6 テュービンゲン、パウル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5、イマティクス・パイオテクノロジーズ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング内

(72)発明者 モリッツ , アンドレアス

ドイツ 7 2 0 7 6 テュービンゲン、パウル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5、イマティクス・パイオテクノロジーズ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング内

(72)発明者 ブルク , ゼバスティアン

ドイツ 7 2 0 7 6 テュービンゲン、パウル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5、イマティクス・パイオテクノロジーズ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング内

(72)発明者 ヴァーグナー , クラウディア

ドイツ 7 2 0 7 6 テュービンゲン、パウル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5

(72)発明者 マウラー , ドミニク

ドイツ 7 2 0 7 6 テュービンゲン、パウル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5

(72)発明者 ウンフェルドルベン , フェリックス

ドイツ 7 2 0 7 6 テュービンゲン、パウル - エールリヒ - シュトラッセ 1 5、イマティクス・パイオテクノロジーズ・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング内

F ターム (参考) 4B064 AG20 CA10 CA19 DA01 DA13

4B065 AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA24 CA44 CA46

4C084 AA13 NA14 ZB261

4C085 AA14 AA16 CC23 DD62 EE01

4C087 AA01 AA03 BB63 CA04 CA12 NA14 ZB26

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA40 DA50 EA20 EA50 FA74