

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号

特開2023-169138

(P2023-169138A)

(43)公開日 令和5年11月29日(2023.11.29)

(51)国際特許分類		F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/62 Z 4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/28 (2006.01)	C 0 7 K	16/28 Z N A 4 C 0 8 5
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46 4 C 0 8 7
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	19/00 4 H 0 4 5
C 0 7 K	14/705(2006.01)	C 0 7 K	14/705
審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全230頁) 最終頁に続く			

  

(21)出願番号	特願2023-110377(P2023-110377)	(71)出願人	514266932 カイト ファーマ インコーポレイテッド Kite Pharma, Inc アメリカ合衆国 9 4 4 0 4 カリフォル ニア州 フォスター シティー レイクサ イド ドライブ 3 3 3 シーノオー ギリ アドサイエンシズ インコーポレイテッド
(22)出願日	令和5年7月5日(2023.7.5)	(74)代理人	110000796 弁理士法人三枝国際特許事務所
(62)分割の表示	特願2021-533159(P2021-533159 )の分割	(72)発明者	ベルク ジョナサン アメリカ合衆国 0 3 7 5 3 ニューハン プシャー グランサム ビー.オー. ボ ックス 7 4 0
原出願日	令和1年12月11日(2019.12.11)	(72)発明者	ベレス アリアンヌ アメリカ合衆国 9 1 3 6 4 カリフォル 最終頁に続く
(31)優先権主張番号	62/778,893		
(32)優先日	平成30年12月12日(2018.12.12)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		

(54)【発明の名称】 キメラ抗原受容体及びT細胞受容体並びに使用方法

(57)【要約】 (修正有)

【課題】癌の治療に有用である、抗原結合モチーフの1つ以上を含むキメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)を提供する。

【解決手段】本開示の態様は、1つ以上の抗原結合モチーフを含むキメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)をコードするポリヌクレオチドに関する。CD20に結合する結合モチーフと、任意にCD19に結合する結合モチーフとを含む抗体及び抗原結合系、並びにそれらを生産する方法及び使用する方法が提供される。本開示の抗体及び抗原結合系は、抗CD20結合モチーフと抗CD19結合モチーフとを含むCARを含む。本開示の抗CD20/抗CD19抗原結合系である又はそれらを含む抗体及びCAR等の組成物が提供され、該組成物を含む細胞療法薬は、例えば癌の治療に有用である。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

抗CD20結合モチーフを含む抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントであって、前記抗CD20結合モチーフは、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、及び配列番号199からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)のうちのいずれか1つの3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)の配列と、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択される軽鎖可変領域(LCVR)の3つの軽鎖CDR(LCDR)の配列とを含む、抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

10

## 【請求項 2】

前記抗CD20結合モチーフは、3つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、及びHCDR3)を含む第1のドメインと、3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、及びLCDR3)を含む第2のドメインとを含み、ここで、

(i)前記HCDR1は、配列番号3～配列番号5、配列番号25～配列番号27、配列番号47～配列番号49、配列番号69～配列番号71、配列番号91～配列番号93、配列番号113～配列番号115、配列番号135～配列番号137、配列番号157～配列番号159、配列番号179～配列番号181、及び配列番号201～配列番号203のいずれか1つによる配列を有し、

20

(ii)前記HCDR2は、配列番号6～配列番号8、配列番号28～配列番号30、配列番号50～配列番号52、配列番号72～配列番号74、配列番号94～配列番号96、配列番号116～配列番号118、配列番号138～配列番号140、配列番号160～配列番号162、配列番号182～配列番号184、及び配列番号204～配列番号206のいずれか1つによる配列を有し、

(iii)前記HCDR3は、配列番号9～配列番号11、配列番号31～配列番号33、配列番号53～配列番号55、配列番号75～配列番号77、配列番号97～配列番号99、配列番号119～配列番号121、配列番号141～配列番号143、配列番号163～配列番号165、配列番号185～配列番号187、及び配列番号207～配列番号209のいずれか1つによる配列を有し、

30

(iv)前記LCDR1は、配列番号14～配列番号16、配列番号36～配列番号38、配列番号58～配列番号60、配列番号80～配列番号82、配列番号102～配列番号104、配列番号124～配列番号126、配列番号146～配列番号148、配列番号168～配列番号170、配列番号190～配列番号192、及び配列番号212～配列番号214のいずれか1つによる配列を有し、

(v)前記LCDR2は、配列番号17～配列番号19、配列番号39～配列番号41、配列番号61～配列番号63、配列番号83～配列番号85、配列番号105～配列番号107、配列番号127～配列番号129、配列番号149～配列番号151、配列番号171～配列番号173、配列番号193～配列番号195、及び配列番号215～配列番号217のいずれか1つによる配列を有し、かつ、

40

(vi)前記LCDR3は、配列番号20～配列番号22、配列番号42～配列番号44、配列番号64～配列番号66、配列番号86～配列番号88、配列番号108～配列番号110、配列番号130～配列番号132、配列番号152～配列番号154、配列番号174～配列番号176、配列番号196～配列番号198、及び配列番号218～配列番号220のいずれか1つによる配列を有する、

請求項1に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

## 【請求項 3】

前記HCDRは、

(i)配列番号3～配列番号5のいずれかによるHCDR1、配列番号6～配列番号8のいずれかによるHCDR2、配列番号9～配列番号11のいずれか1つによるHCDR3

50

、  
 ( i i ) 配列番号 2 5 ~ 配列番号 2 7 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 2 8 ~ 配列番号 3 0 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 3 1 ~ 配列番号 3 3 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

( i i i ) 配列番号 4 7 ~ 配列番号 4 9 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 5 0 ~ 配列番号 5 2 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 5 3 ~ 配列番号 5 5 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

( i v ) 配列番号 6 9 ~ 配列番号 7 1 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 7 2 ~ 配列番号 7 4 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 7 5 ~ 配列番号 7 7 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

10

( v ) 配列番号 9 1 ~ 配列番号 9 3 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 9 4 ~ 配列番号 9 6 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 9 7 ~ 配列番号 9 9 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

( v i ) 配列番号 1 1 3 ~ 配列番号 1 1 5 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 1 6 ~ 配列番号 1 1 8 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 1 9 ~ 配列番号 1 2 1 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

( v i i ) 配列番号 1 3 5 ~ 配列番号 1 3 7 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 3 8 ~ 配列番号 1 4 0 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 4 1 ~ 配列番号 1 4 3 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

( v i i i ) 配列番号 1 5 7 ~ 配列番号 1 5 9 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 6 0 ~ 配列番号 1 6 2 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 6 3 ~ 配列番号 1 6 5 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

20

( i x ) 配列番号 1 7 9 ~ 配列番号 1 8 1 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 8 2 ~ 配列番号 1 8 4 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 8 5 ~ 配列番号 1 8 7 のいずれか 1 つによる H C D R 3、又は、

( x ) 配列番号 2 0 1 ~ 配列番号 2 0 3 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 2 0 4 ~ 配列番号 2 0 6 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 2 0 7 ~ 配列番号 2 0 9 のいずれか 1 つによる H C D R 3、

を含み、

前記 L C D R は、

30

( i ) 配列番号 1 4 ~ 配列番号 1 6 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 7 ~ 配列番号 1 9 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 2 0 ~ 配列番号 2 2 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i i ) 配列番号 3 6 ~ 配列番号 3 8 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 3 9 ~ 配列番号 4 1 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 4 2 ~ 配列番号 4 4 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i i i ) 配列番号 5 8 ~ 配列番号 6 0 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 6 1 ~ 配列番号 6 3 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 6 4 ~ 配列番号 6 6 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i v ) 配列番号 8 0 ~ 配列番号 8 2 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 8 3 ~ 配列番号 8 5 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 8 6 ~ 配列番号 8 8 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

40

( v ) 配列番号 1 0 2 ~ 配列番号 1 0 4 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 0 5 ~ 配列番号 1 0 7 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 0 8 ~ 配列番号 1 1 0 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( v i ) 配列番号 1 2 4 ~ 配列番号 1 2 6 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 2 7 ~ 配列番号 1 2 9 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 3 0 ~ 配列番号 1 3 2 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( v i i ) 配列番号 1 4 6 ~ 配列番号 1 4 8 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 4 9 ~ 配列番号 1 5 1 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 5 2 ~ 配列番号 1 5 4 のい

50

ずれか 1 つによる L C D R 3、

( v i i i ) 配列番号 1 6 8 ~ 配列番号 1 7 0 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 7 1 ~ 配列番号 1 7 3 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 7 4 ~ 配列番号 1 7 6 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i x ) 配列番号 1 9 0 ~ 配列番号 1 9 2 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 9 3 ~ 配列番号 1 9 5 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 9 6 ~ 配列番号 1 9 8 のいずれか 1 つによる L C D R 3、又は、

( x ) 配列番号 2 1 2 ~ 配列番号 2 1 4 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 2 1 5 ~ 配列番号 2 1 7 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 2 1 8 ~ 配列番号 2 2 0 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

を含む、

請求項 1 又は 2 に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 4】

前記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、3 つの重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) を含む第 1 のドメインと、3 つの軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) を含む第 2 のドメインとを含み、ここで、

前記 H C D R 及び前記 L C D R は、

( i ) 配列番号 3 ~ 配列番号 5 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 6 ~ 配列番号 8 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 9 ~ 配列番号 1 1 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 1 4 ~ 配列番号 1 6 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 7 ~ 配列番号 1 9 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 2 0 ~ 配列番号 2 2 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i i ) 配列番号 2 5 ~ 配列番号 2 7 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 2 8 ~ 配列番号 3 0 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 3 1 ~ 配列番号 3 3 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 3 6 ~ 配列番号 3 8 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 3 9 ~ 配列番号 4 1 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 4 2 ~ 配列番号 4 4 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i i i ) 配列番号 4 7 ~ 配列番号 4 9 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 5 0 ~ 配列番号 5 2 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 5 3 ~ 配列番号 5 5 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 5 8 ~ 配列番号 6 0 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 6 1 ~ 配列番号 6 3 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 6 4 ~ 配列番号 6 6 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i v ) 配列番号 6 9 ~ 配列番号 7 1 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 7 2 ~ 配列番号 7 4 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 7 5 ~ 配列番号 7 7 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 8 0 ~ 配列番号 8 2 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 8 3 ~ 配列番号 8 5 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 8 6 ~ 配列番号 8 8 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( v ) 配列番号 9 1 ~ 配列番号 9 3 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 9 4 ~ 配列番号 9 6 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 9 7 ~ 配列番号 9 9 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 1 0 2 ~ 配列番号 1 0 4 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 0 5 ~ 配列番号 1 0 7 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 0 8 ~ 配列番号 1 1 0 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( v i ) 配列番号 1 1 3 ~ 配列番号 1 1 5 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 1 6 ~ 配列番号 1 1 8 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 1 9 ~ 配列番号 1 2 1 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 1 2 4 ~ 配列番号 1 2 6 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 2 7 ~ 配列番号 1 2 9 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 3 0 ~ 配列番号 1 3 2 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( v i i ) 配列番号 1 3 5 ~ 配列番号 1 3 7 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 3 8 ~ 配列番号 1 4 0 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 4 1 ~ 配列番号 1 4 3 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 1 4 6 ~ 配列番号 1 4 8 のいずれかによる L C D

10

20

30

40

50



R 1、配列番号 1 4 9 ~ 配列番号 1 5 1 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 5 2 ~ 配列番号 1 5 4 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( v i i i ) 配列番号 1 5 7 ~ 配列番号 1 5 9 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 6 0 ~ 配列番号 1 6 2 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 6 3 ~ 配列番号 1 6 5 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 1 6 8 ~ 配列番号 1 7 0 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 7 1 ~ 配列番号 1 7 3 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 7 4 ~ 配列番号 1 7 6 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

( i x ) 配列番号 1 7 9 ~ 配列番号 1 8 1 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 1 8 2 ~ 配列番号 1 8 4 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 1 8 5 ~ 配列番号 1 8 7 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 1 9 0 ~ 配列番号 1 9 2 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 1 9 3 ~ 配列番号 1 9 5 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 1 9 6 ~ 配列番号 1 9 8 のいずれか 1 つによる L C D R 3、又は、

( x ) 配列番号 2 0 1 ~ 配列番号 2 0 3 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 2 0 4 ~ 配列番号 2 0 6 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 2 0 7 ~ 配列番号 2 0 9 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 2 1 2 ~ 配列番号 2 1 4 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 2 1 5 ~ 配列番号 2 1 7 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 2 1 8 ~ 配列番号 2 2 0 のいずれか 1 つによる L C D R 3、

を含む、

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

#### 【請求項 5】

前記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、前記 3 つの H C D R を含む第 1 の重鎖可変ドメインと、前記 3 つの L C D R を含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、

( i ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 1、配列番号 2 3、配列番号 4 5、配列番号 6 7、配列番号 8 9、配列番号 1 1 1、配列番号 1 3 3、配列番号 1 5 5、配列番号 1 7 7、又は配列番号 1 9 9 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ、

( i i ) 前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 2、配列番号 3 4、配列番号 5 6、配列番号 7 8、配列番号 1 0 0、配列番号 1 2 2、配列番号 1 4 4、配列番号 1 6 6、配列番号 1 8 8、又は配列番号 2 1 0 と少なくとも 8 0 % 同一である、

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

#### 【請求項 6】

前記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、前記 3 つの H C D R を含む第 1 の重鎖可変ドメインと、前記 3 つの L C D R を含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、

( i ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 1 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 2 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

( i i ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 2 3 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 3 4 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

( i i i ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 4 5 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 5 6 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

( i v ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 6 7 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 7 8 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

( v ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 8 9 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 0 0 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

( v i ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 1 1 1 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 2 2 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

( v i i ) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 1 3 3 と少なくとも 8 0 % 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 1 4 4 と少なくとも 8 0 % 同一であり、

10

20

30

40

50

(v i i i) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 155 と少なくとも 80% 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 166 と少なくとも 80% 同一であり、  
 (i x) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 177 と少なくとも 80% 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 188 と少なくとも 80% 同一であり、又は、  
 (x) 前記重鎖可変ドメインは、配列番号 199 と少なくとも 80% 同一であり、かつ前記軽鎖可変ドメインは、配列番号 210 と少なくとも 80% 同一である、  
 請求項 5 に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 7】

前記 3 つの H C D R 及び前記 3 つの L C D R は、単一のポリペプチドに含まれる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

10

【請求項 8】

前記 3 つの H C D R は、第 1 のポリペプチドに含まれ、前記 3 つの L C D R は、第 2 のポリペプチドに含まれる、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 9】

前記第 1 のポリペプチドは、抗体重鎖であり、前記第 2 のポリペプチドは、抗体軽鎖である、請求項 8 に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 10】

前記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、

(i) 5 T 4、フェトプロテイン、B 細胞成熟抗原 ( B C M A )、B 細胞受容体、C A - 1 2 5、癌胎児性抗原、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 3、C D 3 0、C D 3 3、C D 4 0、C D 5 6、C D 7 9、C D 7 8、C D 1 2 3、C D 1 3 8、c - M e t、C S P G 4、I g M、C 型レクチン様分子 1 ( C L L - 1 )、E G F R v I I I、上皮性腫瘍抗原、E R B B 2、F L T 3、葉酸結合タンパク質、G D 2、G D 3、H E R 1 - H E R 2 の組合せ、H E R 2 - H E R 3 の組合せ、H E R 2 / N e u、H E R V - K、H I V - 1 エンベローブ糖タンパク質 g p 4 1、H I V - 1 エンベローブ糖タンパク質 g p 1 2 0、I L - 1 1 R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、M U C - 1、突然変異 p 5 3、突然変異 r a s、前立腺特異抗原、R O R 1、V E G F R 2、E p h A 3 ( E P H 受容体 A 3 )、B A F F R ( B 細胞活性化因子受容体)、及びそれらの組合せからなる群から選択される抗原に特異的に結合する結合モチーフ、及び/又は、

20

(i i) B 細胞に特徴的な抗原に特異的に結合する結合モチーフ (ここで、任意に、前記 B 細胞に特徴的な抗原は C D 1 9 又は C D 2 0 ではない)、  
 を更に含む、

30

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 11】

前記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、抗 C D 1 9 結合モチーフを更に含む、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項 12】

前記抗 C D 1 9 結合モチーフは、3 つの H C D R を含む第 1 のドメインと、3 つの L C D R を含む第 2 のドメインとを含み、ここで、

40

前記抗 C D 1 9 結合モチーフの前記 3 つの H C D R は、H C D R 1、H C D R 2、及び H C D R 3 を含み、

前記抗 C D 1 9 結合モチーフの前記 3 つの L C D R は、L C D R 1、L C D R 2、及び L C D R 3 を含み、

前記抗 C D 1 9 結合モチーフの前記 H C D R 及び前記 L C D R は、配列番号 223 ~ 配列番号 225 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 226 ~ 配列番号 228 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 229 ~ 配列番号 231 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 234 ~ 配列番号 236 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 237 ~ 配列番号

50

239のいずれかによるLCDR2、配列番号240～配列番号242のいずれか1つによるLCDR3を含む、

請求項11に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項13】

前記抗CD19結合モチーフは、前記抗CD19結合モチーフの前記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、前記抗CD19結合モチーフの前記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、前記抗CD19結合モチーフの前記重鎖可変ドメインは、配列番号221と少なくとも80%同一であり、かつ前記抗CD19結合モチーフの前記軽鎖可変ドメインは、配列番号232と少なくとも80%同一である、請求項12に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

10

【請求項14】

前記抗CD19結合モチーフの前記3つのHCDR及び前記抗CD19結合モチーフの前記3つのLCDRは、単一のポリペプチドに含まれる、請求項12又は13に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項15】

前記抗CD20結合モチーフの前記3つのHCDR、前記抗CD20結合モチーフの前記3つのLCDR、前記抗CD19結合モチーフの前記3つのHCDR、及び前記抗CD19結合モチーフの前記3つのLCDRは、共に単一のポリペプチドに含まれる、請求項12～14のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項16】

前記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、キメラ抗原受容体であか、又はキメラ抗原受容体に含まれる、請求項1～15のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

20

【請求項17】

前記キメラ抗原受容体は、4-1BB/CD137、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD19、CD22、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154若しくはT細胞受容体の鎖の膜貫通ドメイン又はそれらの任意の組合せである膜貫通ドメインを含む、請求項16に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

30

【請求項18】

(i)前記抗CD20結合モチーフの前記3つのHCDR及び前記抗CD20結合モチーフの前記3つのLCDRは、第1のポリペプチド内に存在し、(ii)前記抗CD19結合モチーフの前記3つのHCDR及び前記抗CD19結合モチーフの前記3つのLCDRは、共に第2の異なるポリペプチドに含まれる、請求項11～14のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項19】

前記第1のポリペプチドは、第1のキメラ抗原受容体であるか、又は第1のキメラ抗原受容体に含まれる、請求項18に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

40

【請求項20】

前記第2のポリペプチドは、第2のキメラ抗原受容体であるか、又は第2のキメラ抗原受容体に含まれる、請求項18又は19に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメント。

【請求項21】

請求項1～20のいずれか一項に記載の少なくとも1つのポリペプチドをコードする核酸。

【請求項22】

請求項21に記載の核酸を含むベクター。

【請求項23】

50

請求項 2 1 に記載の核酸又は請求項 2 2 に記載のベクターで細胞をトランスフェクション又は形質導入することを含む、操作された細胞を作製する方法。

【請求項 2 4】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントをコード又は発現する細胞であって、任意に前記細胞は免疫細胞であり、任意に前記細胞は T 細胞である、細胞。

【請求項 2 5】

治療を必要とする被験体における癌を治療する方法であって、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントをコードする又はこれらを含む 1 つ以上の細胞を含む細胞療法組成物を前記被験体に投与することを含む、方法

10

【請求項 2 6】

被験体における免疫応答を誘発する又は被験体を癌に対して免疫化する方法であって、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントをコードする又はこれらを含む 1 つ以上の細胞を含む細胞療法組成物を前記被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 2 7】

前記細胞は、CAR - T 細胞である、請求項 2 5 又は 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記癌は、急性リンパ芽球性白血病 (ALL) (非 T 細胞 ALL を含む)、急性骨髄白血病、B 細胞前リンパ球性白血病、B 細胞急性リンパ性白血病 (「BALL」)、芽球形質細胞様樹状細胞新生物、パーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病 (CLL)、慢性骨髄腫性白血病 (CML)、慢性骨髄白血病、慢性白血病若しくは急性白血病、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、濾胞性リンパ腫 (FL)、有毛細胞性白血病、ホジキン病、悪性リンパ増殖性状態、MALT リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、意義不明の単クローン性 グロブリン血症 (MGUS)、多発性骨髄腫、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、形質細胞増殖性障害 (無症候性骨髄腫 (くすぶり型多発性骨髄腫又は無痛性骨髄腫) を含む)、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞新生物、形質細胞腫 (形質細胞異常増殖症、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫及び多発性形質細胞腫を含む)、POEMS 症候群 (Crow - Fukase 症候群、高月病及び PEP 症候群としても知られる)、縦隔原発大細胞型 B 細胞リンパ腫 (PMBC)、小細胞若しくは大細胞濾胞性リンパ腫、脾辺縁帯リンパ腫 (SMZL)、全身性アミロイド軽鎖アミロイドーシス、T 細胞急性リンパ性白血病 (「TALL」)、T 細胞リンパ腫、形質転換後濾胞性リンパ腫若しくはワルデンストレームマクログロブリン血症、マントル細胞リンパ腫 (MCL)、形質転換後濾胞性リンパ腫 (TFL)、原発性縦隔 B 細胞リンパ腫 (PMBCL)、多発性骨髄腫、有毛細胞性リンパ腫 / 白血病、又はそれらの組合せである、請求項 2 5 ~ 2 7 のいずれか一項に記載の方法。

20

30

【請求項 2 9】

前記細胞療法は、同種異系細胞療法又は自家細胞療法である、請求項 2 5 ~ 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

[ 関連出願の相互参照 ]

本出願は、2018 年 12 月 12 日付で出願された米国仮出願第 62 / 778 , 893 号の優先権の利益を主張し、その出願全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

【背景技術】

【0002】

ヒト癌は、本質的に正常細胞で構成され、この正常細胞が遺伝的又はエピジェネティッ

50

クな変換を受けて異常な癌細胞となる。そうすることで、癌細胞は、正常細胞によって発現されるものとは明確に異なるタンパク質及び他の抗原を発現し始める。これらの異常な腫瘍抗原は、身体の内免疫系によって、癌細胞を特異的に標的とし死滅させるのに使用され得る。しかしながら、癌細胞は、Tリンパ球及びBリンパ球等の免疫細胞が癌細胞を標的とすることに成功しないように様々な機構を利用する。

#### 【0003】

現行の療法のT細胞療法は、患者において癌細胞を標的とし、死滅させるために富化又は改変されたヒトT細胞に頼っている。T細胞が特定の癌細胞を標的とし死滅させる能力を増加するため、特定の標的癌細胞へとT細胞を方向づけるコンストラクトを発現するようT細胞を操作する方法が開発された。特定の腫瘍抗原と相互作用することができる結合ドメインを含む、キメラ抗原受容体(CAR)及び操作されたT細胞受容体(TCR)は、T細胞が特定の腫瘍抗原を発現する癌細胞を標的とし、死滅させることを可能とする。癌細胞を標的とし、死滅させるためのCAR及びTCRが必要とされている。

10

#### 【発明の概要】

#### 【0004】

少なくとも第1の態様では、本開示は、抗CD20結合モチーフを含む抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントであって、上記抗CD20結合モチーフは、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、及び配列番号199からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)のうちのいずれか1つの3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)の配列と、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択される軽鎖可変領域(LCVR)のうちのいずれか1つの3つの軽鎖CDR(LCDR)の配列とを含む、抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントを含む。幾つかの実施の形態では、上記抗CD20結合モチーフは、3つの重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、及びHCDR3)を含む第1のドメインと、3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、及びLCDR3)を含む第2のドメインとを含み、ここで、(i)上記HCDR1は、配列番号3～配列番号5、配列番号25～配列番号27、配列番号47～配列番号49、配列番号69～配列番号71、配列番号91～配列番号93、配列番号113～配列番号115、配列番号135～配列番号137、配列番号157～配列番号159、配列番号179～配列番号181、及び配列番号201～配列番号203のいずれか1つによる配列を有し、(ii)上記HCDR2は、配列番号6～配列番号8、配列番号28～配列番号30、配列番号50～配列番号52、配列番号72～配列番号74、配列番号94～配列番号96、配列番号116～配列番号118、配列番号138～配列番号140、配列番号160～配列番号162、配列番号182～配列番号184、及び配列番号204～配列番号206のいずれか1つによる配列を有し、(iii)上記HCDR3は、配列番号9～配列番号11、配列番号31～配列番号33、配列番号53～配列番号55、配列番号75～配列番号77、配列番号97～配列番号99、配列番号119～配列番号121、配列番号141～配列番号143、配列番号163～配列番号165、配列番号185～配列番号187、及び配列番号207～配列番号209のいずれか1つによる配列を有し、(iv)上記LCDR1は、配列番号14～配列番号16、配列番号36～配列番号38、配列番号58～配列番号60、配列番号80～配列番号82、配列番号102～配列番号104、配列番号124～配列番号126、配列番号146～配列番号148、配列番号168～配列番号170、配列番号190～配列番号192、及び配列番号212～配列番号214のいずれか1つによる配列を有し、(v)上記LCDR2は、配列番号17～配列番号19、配列番号39～配列番号41、配列番号61～配列番号63、配列番号83～配列番号85、配列番号105～配列番号107、配列番号127～配列番号129、配列番号149～配列番号151、配列番号171～配列番号173、配列番号193～配列番号195、及び配列番号215～配列番号217のいずれか1つによる配列を有し、かつ、(vi)上

20

30

40

50

記LCDR3は、配列番号20～配列番号22、配列番号42～配列番号44、配列番号64～配列番号66、配列番号86～配列番号88、配列番号108～配列番号110、配列番号130～配列番号132、配列番号152～配列番号154、配列番号174～配列番号176、配列番号196～配列番号198、及び配列番号218～配列番号220のいずれか1つによる配列を有する。幾つかの実施の形態では、上記HCDRは、(i)配列番号3～配列番号5のいずれかによるHCDR1、配列番号6～配列番号8のいずれかによるHCDR2、配列番号9～配列番号11のいずれか1つによるHCDR3、(ii)配列番号25～配列番号27のいずれかによるHCDR1、配列番号28～配列番号30のいずれかによるHCDR2、配列番号31～配列番号33のいずれか1つによるHCDR3、(iii)配列番号47～配列番号49のいずれかによるHCDR1、配列番号50～配列番号52のいずれかによるHCDR2、配列番号53～配列番号55のいずれか1つによるHCDR3、(iv)配列番号69～配列番号71のいずれかによるHCDR1、配列番号72～配列番号74のいずれかによるHCDR2、配列番号75～配列番号77のいずれか1つによるHCDR3、(v)配列番号91～配列番号93のいずれかによるHCDR1、配列番号94～配列番号96のいずれかによるHCDR2、配列番号97～配列番号99のいずれか1つによるHCDR3、(vi)配列番号113～配列番号115のいずれかによるHCDR1、配列番号116～配列番号118のいずれかによるHCDR2、配列番号119～配列番号121のいずれか1つによるHCDR3、(vii)配列番号135～配列番号137のいずれかによるHCDR1、配列番号138～配列番号140のいずれかによるHCDR2、配列番号141～配列番号143のいずれか1つによるHCDR3、(viii)配列番号157～配列番号159のいずれかによるHCDR1、配列番号160～配列番号162のいずれかによるHCDR2、配列番号163～配列番号165のいずれか1つによるHCDR3、(ix)配列番号179～配列番号181のいずれかによるHCDR1、配列番号182～配列番号184のいずれかによるHCDR2、配列番号185～配列番号187のいずれか1つによるHCDR3、又は(x)配列番号201～配列番号203のいずれかによるHCDR1、配列番号204～配列番号206のいずれかによるHCDR2、配列番号207～配列番号209のいずれか1つによるHCDR3を含み、かつ、上記LCDRは、(i)配列番号14～配列番号16のいずれかによるLCDR1、配列番号17～配列番号19のいずれかによるLCDR2、配列番号20～配列番号22のいずれか1つによるLCDR3、(ii)配列番号36～配列番号38のいずれかによるLCDR1、配列番号39～配列番号41のいずれかによるLCDR2、配列番号42～配列番号44のいずれか1つによるLCDR3、(iii)配列番号58～配列番号60のいずれかによるLCDR1、配列番号61～配列番号63のいずれかによるLCDR2、配列番号64～配列番号66のいずれか1つによるLCDR3、(iv)配列番号80～配列番号82のいずれかによるLCDR1、配列番号83～配列番号85のいずれかによるLCDR2、配列番号86～配列番号88のいずれか1つによるLCDR3、(v)配列番号102～配列番号104のいずれかによるLCDR1、配列番号105～配列番号107のいずれかによるLCDR2、配列番号108～配列番号110のいずれか1つによるLCDR3、(vi)配列番号124～配列番号126のいずれかによるLCDR1、配列番号127～配列番号129のいずれかによるLCDR2、配列番号130～配列番号132のいずれか1つによるLCDR3、(vii)配列番号146～配列番号148のいずれかによるLCDR1、配列番号149～配列番号151のいずれかによるLCDR2、配列番号152～配列番号154のいずれか1つによるLCDR3、(viii)配列番号168～配列番号170のいずれかによるLCDR1、配列番号171～配列番号173のいずれかによるLCDR2、配列番号174～配列番号176のいずれか1つによるLCDR3、(ix)配列番号190～配列番号192のいずれかによるLCDR1、配列番号193～配列番号195のいずれかによるLCDR2、配列番号196～配列番号198のいずれか1つによるLCDR3、又は(x)配列番号212～配列番号214のいずれかによるLCDR1、配列番号215～配列番号217のいずれかによるLCDR2、配列番号218～配列番号

220のいずれか1つによるLCDR3を含む。

【0005】

様々な実施の形態では、本開示の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)を含む第1のドメインと、3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)を含む第2のドメインとを含み、ここで、上記HCDR及び上記LCDRは、(i)配列番号3～配列番号5のいずれかによるHCDR1、配列番号6～配列番号8のいずれかによるHCDR2、配列番号9～配列番号11のいずれか1つによるHCDR3、配列番号14～配列番号16のいずれかによるLCDR1、配列番号17～配列番号19のいずれかによるLCDR2、配列番号20～配列番号22のいずれか1つによるLCDR3、(ii)配列番号25～配列番号27のいずれかによるHCDR1、配列番号28～配列番号30のいずれかによるHCDR2、配列番号31～配列番号33のいずれか1つによるHCDR3、配列番号36～配列番号38のいずれかによるLCDR1、配列番号39～配列番号41のいずれかによるLCDR2、配列番号42～配列番号44のいずれか1つによるLCDR3、(iii)配列番号47～配列番号49のいずれかによるHCDR1、配列番号50～配列番号52のいずれかによるHCDR2、配列番号53～配列番号55のいずれか1つによるHCDR3、配列番号58～配列番号60のいずれかによるLCDR1、配列番号61～配列番号63のいずれかによるLCDR2、配列番号64～配列番号66のいずれか1つによるLCDR3、(iv)配列番号69～配列番号71のいずれかによるHCDR1、配列番号72～配列番号74のいずれかによるHCDR2、配列番号75～配列番号77のいずれか1つによるHCDR3、配列番号80～配列番号82のいずれかによるLCDR1、配列番号83～配列番号85のいずれかによるLCDR2、配列番号86～配列番号88のいずれか1つによるLCDR3、(v)配列番号91～配列番号93のいずれかによるHCDR1、配列番号94～配列番号96のいずれかによるHCDR2、配列番号97～配列番号99のいずれか1つによるHCDR3、配列番号102～配列番号104のいずれかによるLCDR1、配列番号105～配列番号107のいずれかによるLCDR2、配列番号108～配列番号110のいずれか1つによるLCDR3、(vi)配列番号113～配列番号115のいずれかによるHCDR1、配列番号116～配列番号118のいずれかによるHCDR2、配列番号119～配列番号121のいずれか1つによるHCDR3、配列番号124～配列番号126のいずれかによるLCDR1、配列番号127～配列番号129のいずれかによるLCDR2、配列番号130～配列番号132のいずれか1つによるLCDR3、(vii)配列番号135～配列番号137のいずれかによるHCDR1、配列番号138～配列番号140のいずれかによるHCDR2、配列番号141～配列番号143のいずれか1つによるHCDR3、配列番号146～配列番号148のいずれかによるLCDR1、配列番号149～配列番号151のいずれかによるLCDR2、配列番号152～配列番号154のいずれか1つによるLCDR3、(viii)配列番号157～配列番号159のいずれかによるHCDR1、配列番号160～配列番号162のいずれかによるHCDR2、配列番号163～配列番号165のいずれか1つによるHCDR3、配列番号168～配列番号170のいずれかによるLCDR1、配列番号171～配列番号173のいずれかによるLCDR2、配列番号174～配列番号176のいずれか1つによるLCDR3、(ix)配列番号179～配列番号181のいずれかによるHCDR1、配列番号182～配列番号184のいずれかによるHCDR2、配列番号185～配列番号187のいずれか1つによるHCDR3、配列番号190～配列番号192のいずれかによるLCDR1、配列番号193～配列番号195のいずれかによるLCDR2、配列番号196～配列番号198のいずれか1つによるLCDR3、又は(x)配列番号201～配列番号203のいずれかによるHCDR1、配列番号204～配列番号206のいずれかによるHCDR2、配列番号207～配列番号209のいずれか1つによるHCDR3、配列番号212～配列番号214のいずれかによるLCDR1、配列番号215～配列番号217のいずれかによるLCDR2、配列番号218～配列番号220のいずれか1つによるLCDR3を含む。幾つかの実施の形態では、上記抗原結合系、抗体、又はその抗原

結合フラグメントは、上記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、上記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、(i)上記重鎖可変ドメインは、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、又は配列番号199と少なくとも80%同一であり、かつ、(ii)上記軽鎖可変ドメインは、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、又は配列番号210と少なくとも80%同一である。幾つかの実施の形態では、上記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、上記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、上記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、(i)上記重鎖可変ドメインは、配列番号1と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号12と少なくとも80%同一であり、(ii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号23と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号34と少なくとも80%同一であり、(iii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号45と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号56と少なくとも80%同一であり、(iv)上記重鎖可変ドメインは、配列番号67と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号78と少なくとも80%同一であり、(v)上記重鎖可変ドメインは、配列番号89と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号100と少なくとも80%同一であり、(vi)上記重鎖可変ドメインは、配列番号111と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号122と少なくとも80%同一であり、(vii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号133と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号144と少なくとも80%同一であり、(viii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号155と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号166と少なくとも80%同一であり、(ix)上記重鎖可変ドメインは、配列番号177と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号188と少なくとも80%同一であり、又は(x)上記重鎖可変ドメインは、配列番号199と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号210と少なくとも80%同一である。

10

20

#### 【0006】

3つのHCDR及び3つのLCDRを含む本開示の幾つかの実施の形態では、3つのHCDR及び3つのLCDRは単一のポリペプチドによって構成される。3つのHCDR及び3つのLCDRを含む本開示の幾つかの実施の形態では、3つのHCDRは第1のポリペプチドに含まれ、3つのLCDRは第2のポリペプチドに含まれる。幾つかの実施の形態では、上記第1のポリペプチドは、抗体重鎖であり、かつ上記第2のポリペプチドは、抗体軽鎖である。

30

#### 【0007】

幾つかの実施の形態では、上記抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、(i)5T4、フェトプロテイン、B細胞成熟抗原(BCMA)、B細胞受容体、CA-125、癌胎児性抗原、CD19、CD20、CD22、CD23、CD30、CD33、CD40、CD56、CD79、CD78、CD123、CD138、c-Met、CSPG4、IgM、C型レクチン様分子1(CLL-1)、EGFRvIII、上皮性腫瘍抗原、ERBB2、FLT3、葉酸結合タンパク質、GD2、GD3、HER1-HER2の組合せ、HER2-HER3の組合せ、HER2/Neu、HERV-K、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp120、IL-11R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、MUC-1、突然変異p53、突然変異ras、前立腺特異抗原、ROR1、VEGFR2、EphA3(EPH受容体A3)、BAFFR(B細胞活性化因子受容体)、及びそれらの組合せからなる群から選択される抗原に結合する結合モチーフ、及び/又は(ii)B細胞に特徴的な抗原に結合する結合モチーフを更に含み、任意に上記B細胞に特徴的な抗原はCD19又はCD20ではない。幾つかの実施の形態では、上記抗原結合系、抗体、又はその抗

40

50



原結合フラグメントは、抗CD19結合モチーフを更に含む。幾つかの実施の形態では、上記抗CD19結合モチーフは、3つのHCDRを含む第1のドメインと、3つのLCDRを含む第2のドメインとを含み、ここで、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDRは、HCDR1、HCDR2、及びHCDR3を含み、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3を含み、かつ、上記抗CD19結合モチーフの上記HCDR及び上記LCDRは、配列番号223～配列番号225のいずれかによるHCDR1、配列番号226～配列番号228のいずれかによるHCDR2、配列番号229～配列番号231のいずれか1つによるHCDR3、配列番号234～配列番号236のいずれかによるLCDR1、配列番号237～配列番号239のいずれかによるLCDR2、配列番号240～配列番号242のいずれか1つによるLCDR3を含む。幾つかの実施の形態では、上記抗CD19結合モチーフは、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、上記抗CD19結合モチーフの上記重鎖可変ドメインは、配列番号221と少なくとも80%同一であり、かつ上記抗CD19結合モチーフの上記軽鎖可変ドメインは、配列番号232と少なくとも80%同一である。幾つかの実施の形態では、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDR及び上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、単一のポリペプチドに含まれる。幾つかの実施の形態では、上記抗CD20結合モチーフの上記3つのHCDR、上記抗CD20結合モチーフの上記3つのLCDR、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDR、及び上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、一緒になって単一のポリペプチドに含まれる。

10

20

#### 【0008】

様々な実施の形態では、抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、キメラ抗原受容体であるか、又はキメラ抗原受容体に含まれる。幾つかの実施の形態では、抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントは、キメラ抗原受容体であるか、又はキメラ抗原受容体に含まれる単一のポリペプチドであり、そのキメラ抗原受容体は、二重特異性キメラ抗原受容体である。幾つかの実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、4-1BB/CD137、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD19、CD22、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154若しくはT細胞受容体の鎖の膜貫通ドメインである膜貫通ドメイン、又はそれらの任意の組合せを含む。幾つかの実施の形態では、(i)上記抗CD20結合モチーフの上記3つのHCDR及び上記抗CD20結合モチーフの上記3つのLCDRは、第1のポリペプチド内に存在し、かつ(ii)上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDR及び上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、一緒になって第2の異なるポリペプチドに含まれる。幾つかの実施の形態では、上記第1のポリペプチドは、第1のキメラ抗原受容体である、又は第1のキメラ抗原受容体に含まれる。幾つかの実施の形態では、上記第2のポリペプチドは、第2のキメラ抗原受容体である、又は第2のキメラ抗原受容体に含まれる。

30

40

#### 【0009】

様々な実施の形態では、本開示は、本開示の少なくとも1つのポリペプチドをコードする核酸及び/又はそのような核酸を含むベクターを含む。さらに、本開示は、操作された細胞を作製する方法であって、本開示の少なくとも1つのポリペプチドをコードする核酸で細胞をトランスフェクション又は形質導入することを含む、方法を含む。さらに、本明細書では、本明細書に示される抗原結合系、抗体、又は抗原結合フラグメントをコード又は発現する細胞であって、任意に該細胞は免疫細胞であり、任意に該細胞はT細胞である、細胞が提供される。

#### 【0010】

本開示は、治療を必要とする被験体における癌を治療する方法であって、本開示の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントをコードする又はこれらを含む1つ以上の

50

細胞を含む細胞療法組成物を上記被験体に投与することを含む、方法を更に含む。また、本明細書では、被験体における免疫応答を誘発する又は被験体を癌に対して免疫化する方法であって、本開示の抗原結合系、抗体、又はその抗原結合フラグメントをコードする又はこれらを含む1つ以上の細胞を含む細胞療法組成物を上記被験体に投与することを含む、方法が提供される。幾つかの実施の形態では、上記細胞は、CAR-T細胞である。様々な実施の形態では、前記癌は、急性リンパ芽球性白血病(ALL)(非T細胞ALLを含む)、急性骨髄白血病、B細胞前リンパ球性白血病、B細胞急性リンパ性白血病(「BALL」)、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、パーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、慢性骨髄白血病、慢性若しくは急性の白血病、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(DLBCL)、濾胞性リンパ腫(FL)、有毛細胞性白血病、ホジキン病、悪性リンパ増殖性状態、MALTリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、意義不明の単クローン性グロブリン血症(MGUS)、多発性骨髄腫、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫(NHL)、形質細胞増殖性障害(無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫又は無痛性骨髄腫)を含む)、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞新生物、形質細胞腫(形質細胞異常増殖症; 孤立性骨髄腫; 孤立性形質細胞腫; 髄外性形質細胞腫; 及び多発性形質細胞腫を含む)、POEMS症候群(Crow-Fukase症候群、高月病、及びPEP症候群としても知られる)、縦隔原発大細胞型B細胞リンパ腫(PMBCL)、小細胞若しくは大細胞濾胞性リンパ腫、脾辺縁帯リンパ腫(SMZL)、全身性アミロイド軽鎖アミロイドーシス、T細胞急性リンパ性白血病(「TALL」)、T細胞リンパ腫、形質転換後濾胞性リンパ腫、若しくはワルデンストレームマクログロブリン血症、又はそれらの組合せである。幾つかの実施の形態では、細胞療法は、同種異系細胞療法又は自家細胞療法である。

10

20

#### 【0011】

本開示の少なくとも1つの態様は、抗CD20結合モチーフを含むキメラ抗原受容体であって、上記抗CD20結合モチーフは、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、及び配列番号199からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)の配列のうちいずれか1つに含まれる3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)と、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択される軽鎖可変領域(LCVR)の配列のうちいずれか1つに含まれる3つの軽鎖CDR(LCDR)とを含む、キメラ抗原受容体を含む。幾つかの実施の形態では、3つの重鎖相補性決定領域(HCDR)を含む第1のドメイン及び3つの軽鎖相補性決定領域(LCDR)を含む第2のドメインにおいて、(i)上記HCDR1は、配列番号3~配列番号5、配列番号25~配列番号27、配列番号47~配列番号49、配列番号69~配列番号71、配列番号91~配列番号93、配列番号113~配列番号115、配列番号135~配列番号137、配列番号157~配列番号159、配列番号179~配列番号181、及び配列番号201~配列番号203のいずれか1つによる配列を有し、(ii)上記HCDR2は、配列番号6~配列番号8、配列番号28~配列番号30、配列番号50~配列番号52、配列番号72~配列番号74、配列番号94~配列番号96、配列番号116~配列番号118、配列番号138~配列番号140、配列番号160~配列番号162、配列番号182~配列番号184、及び配列番号204~配列番号206のいずれか1つによる配列を有し、(iii)上記HCDR3は、配列番号9~配列番号11、配列番号31~配列番号33、配列番号53~配列番号55、配列番号75~配列番号77、配列番号97~配列番号99、配列番号119~配列番号121、配列番号141~配列番号143、配列番号163~配列番号165、配列番号185~配列番号187、及び配列番号207~配列番号209のいずれか1つによる配列を有し、(iv)上記LCDR1は、配列番号14~配列番号16、配列番号36~配列番号38、配列番号58~配列番号60、配列番号80~配列番号82、配列番号102~配列番号104、配列番号124~配列番号126、配列番号146~配列番号148、配列番号168

30

40

50

~ 配列番号 170、配列番号 190 ~ 配列番号 192、及び配列番号 212 ~ 配列番号 214 のいずれか 1 つによる配列を有し、(v) 上記 LCD R 2 は、配列番号 17 ~ 配列番号 19、配列番号 39 ~ 配列番号 41、配列番号 61 ~ 配列番号 63、配列番号 83 ~ 配列番号 85、配列番号 105 ~ 配列番号 107、配列番号 127 ~ 配列番号 129、配列番号 149 ~ 配列番号 151、配列番号 171 ~ 配列番号 173、配列番号 193 ~ 配列番号 195、及び配列番号 215 ~ 配列番号 217 のいずれか 1 つによる配列を有し、かつ、(vi) 上記 LCD R 3 は、配列番号 20 ~ 配列番号 22、配列番号 42 ~ 配列番号 44、配列番号 64 ~ 配列番号 66、配列番号 86 ~ 配列番号 88、配列番号 108 ~ 配列番号 110、配列番号 130 ~ 配列番号 132、配列番号 152 ~ 配列番号 154、配列番号 174 ~ 配列番号 176、配列番号 196 ~ 配列番号 198、及び配列番号 218 ~ 配列番号 220 のいずれか 1 つによる配列を有する。幾つかの実施の形態では、上記 HCD R は、(i) 配列番号 3 ~ 配列番号 5 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 6 ~ 配列番号 8 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 9 ~ 配列番号 11 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(ii) 配列番号 25 ~ 配列番号 27 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 28 ~ 配列番号 30 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 31 ~ 配列番号 33 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(iii) 配列番号 47 ~ 配列番号 49 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 50 ~ 配列番号 52 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 53 ~ 配列番号 55 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(iv) 配列番号 69 ~ 配列番号 71 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 72 ~ 配列番号 74 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 75 ~ 配列番号 77 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(v) 配列番号 91 ~ 配列番号 93 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 94 ~ 配列番号 96 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 97 ~ 配列番号 99 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(vi) 配列番号 113 ~ 配列番号 115 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 116 ~ 配列番号 118 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 119 ~ 配列番号 121 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(vii) 配列番号 135 ~ 配列番号 137 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 138 ~ 配列番号 140 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 141 ~ 配列番号 143 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(viii) 配列番号 157 ~ 配列番号 159 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 160 ~ 配列番号 162 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 163 ~ 配列番号 165 のいずれか 1 つによる HCD R 3、(ix) 配列番号 179 ~ 配列番号 181 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 182 ~ 配列番号 184 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 185 ~ 配列番号 187 のいずれか 1 つによる HCD R 3、又は (x) 配列番号 201 ~ 配列番号 203 のいずれかによる HCD R 1、配列番号 204 ~ 配列番号 206 のいずれかによる HCD R 2、配列番号 207 ~ 配列番号 209 のいずれか 1 つによる HCD R 3 を含み、かつ、上記 LCD R は、(i) 配列番号 14 ~ 配列番号 16 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 17 ~ 配列番号 19 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 20 ~ 配列番号 22 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(ii) 配列番号 36 ~ 配列番号 38 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 39 ~ 配列番号 41 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 42 ~ 配列番号 44 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(iii) 配列番号 58 ~ 配列番号 60 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 61 ~ 配列番号 63 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 64 ~ 配列番号 66 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(iv) 配列番号 80 ~ 配列番号 82 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 83 ~ 配列番号 85 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 86 ~ 配列番号 88 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(v) 配列番号 102 ~ 配列番号 104 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 105 ~ 配列番号 107 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 108 ~ 配列番号 110 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(vi) 配列番号 124 ~ 配列番号 126 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 127 ~ 配列番号 129 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 130 ~ 配列番号 132 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(vii) 配列番号 146 ~ 配列番号 148 のいずれかによる LCD R 1、配列番号 149 ~ 配列番号 151 のいずれかによる LCD R 2、配列番号 152 ~ 配列番号 154 のいずれか 1 つによる LCD R 3、(viii) 配列番号 168 ~ 配列

番号 170 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 171 ~ 配列番号 173 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 174 ~ 配列番号 176 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( i x ) 配列番号 190 ~ 配列番号 192 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 193 ~ 配列番号 195 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 196 ~ 配列番号 198 のいずれか 1 つによる L C D R 3、又は ( x ) 配列番号 212 ~ 配列番号 214 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 215 ~ 配列番号 217 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 218 ~ 配列番号 220 のいずれか 1 つによる L C D R 3 を含む。

【 0 0 1 2 】

幾つかの実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、3つの重鎖相補性決定領域 ( H C D R ) を含む第 1 のドメインと、3つの軽鎖相補性決定領域 ( L C D R ) を含む第 2 のドメインとを含み、ここで、3つの H C D R は、H C D R 1、H C D R 2 及び H C D R 3 を含み、3つの L C D R は、L C D R 1、L C D R 2 及び L C D R 3 を含み、上記 H C D R 及び上記 L C D R は、( i ) 配列番号 3 ~ 配列番号 5 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 6 ~ 配列番号 8 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 9 ~ 配列番号 11 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 14 ~ 配列番号 16 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 17 ~ 配列番号 19 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 20 ~ 配列番号 22 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( i i ) 配列番号 25 ~ 配列番号 27 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 28 ~ 配列番号 30 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 31 ~ 配列番号 33 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 36 ~ 配列番号 38 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 39 ~ 配列番号 41 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 42 ~ 配列番号 44 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( i i i ) 配列番号 47 ~ 配列番号 49 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 50 ~ 配列番号 52 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 53 ~ 配列番号 55 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 58 ~ 配列番号 60 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 61 ~ 配列番号 63 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 64 ~ 配列番号 66 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( i v ) 配列番号 69 ~ 配列番号 71 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 72 ~ 配列番号 74 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 75 ~ 配列番号 77 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 80 ~ 配列番号 82 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 83 ~ 配列番号 85 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 86 ~ 配列番号 88 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( v ) 配列番号 91 ~ 配列番号 93 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 94 ~ 配列番号 96 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 97 ~ 配列番号 99 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 102 ~ 配列番号 104 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 105 ~ 配列番号 107 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 108 ~ 配列番号 110 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( v i ) 配列番号 113 ~ 配列番号 115 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 116 ~ 配列番号 118 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 119 ~ 配列番号 121 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 124 ~ 配列番号 126 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 127 ~ 配列番号 129 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 130 ~ 配列番号 132 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( v i i ) 配列番号 135 ~ 配列番号 137 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 138 ~ 配列番号 140 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 141 ~ 配列番号 143 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 146 ~ 配列番号 148 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 149 ~ 配列番号 151 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 152 ~ 配列番号 154 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( v i i i ) 配列番号 157 ~ 配列番号 159 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 160 ~ 配列番号 162 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 163 ~ 配列番号 165 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 168 ~ 配列番号 170 のいずれかによる L C D R 1、配列番号 171 ~ 配列番号 173 のいずれかによる L C D R 2、配列番号 174 ~ 配列番号 176 のいずれか 1 つによる L C D R 3、( i x ) 配列番号 179 ~ 配列番号 181 のいずれかによる H C D R 1、配列番号 182 ~ 配列番号 184 のいずれかによる H C D R 2、配列番号 185 ~ 配列番号 187 のいずれか 1 つによる H C D R 3、配列番号 190 ~ 配列番号 192 のい

10

20

30

40

50

れかによるLCDR1、配列番号193～配列番号195のいずれかによるLCDR2、配列番号196～配列番号198のいずれか1つによるLCDR3、又は(x)配列番号201～配列番号203のいずれかによるHCDR1、配列番号204～配列番号206のいずれかによるHCDR2、配列番号207～配列番号209のいずれか1つによるHCDR3、配列番号212～配列番号214のいずれかによるLCDR1、配列番号215～配列番号217のいずれかによるLCDR2、配列番号218～配列番号220のいずれか1つによるLCDR3を含む。様々な実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、上記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、上記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、(i)上記重鎖可変ドメインは、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、又は配列番号199と少なくとも80%同一であり、かつ、(ii)上記軽鎖可変ドメインは、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、又は配列番号210と少なくとも80%同一である。幾つかの実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、上記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、上記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、(i)上記重鎖可変ドメインは、配列番号1と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号12と少なくとも80%同一であり、(ii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号23と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号34と少なくとも80%同一であり、(iii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号45と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号56と少なくとも80%同一であり、(iv)上記重鎖可変ドメインは、配列番号67と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号78と少なくとも80%同一であり、(v)上記重鎖可変ドメインは、配列番号89と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号100と少なくとも80%同一であり、(vi)上記重鎖可変ドメインは、配列番号111と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号122と少なくとも80%同一であり、(vii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号133と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号144と少なくとも80%同一であり、(viii)上記重鎖可変ドメインは、配列番号155と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号166と少なくとも80%同一であり、(ix)上記重鎖可変ドメインは、配列番号177と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号188と少なくとも80%同一であり、又は(x)上記重鎖可変ドメインは、配列番号199と少なくとも80%同一であり、かつ上記軽鎖可変ドメインは、配列番号210と少なくとも80%同一である。

#### 【0013】

3つのHCDR及び3つのLCDRを含む幾つかの実施の形態では、3つのHCDR及び3つのLCDRは単一のポリペプチドに含まれる。3つのHCDR及び3つのLCDRを含む幾つかの実施の形態では、3つのHCDRは第1のポリペプチドに含まれ、3つのLCDRは第2のポリペプチドに含まれる。幾つかの実施の形態では、上記第1のポリペプチドは、抗体重鎖であり、かつ上記第2のポリペプチドは、抗体軽鎖である。幾つかの実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、(i)5T4、フェトプロテイン、B細胞成熟抗原(BCMA)、B細胞受容体、CA-125、癌胎児性抗原、CD19、CD20、CD22、CD23、CD30、CD33、CD40、CD56、CD79、CD78、CD123、CD138、c-Met、CSPG4、IgM、C型レクチン様分子1(CLL-1)、EGFRvIII、上皮性腫瘍抗原、ERBB2、FLT3、葉酸結合タンパク質、GD2、GD3、HER1-HER2の組合せ、HER2-HER3の組合せ、HER2/Neu、HERV-K、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp120、IL-11R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、MUC-1、突然変異p53、突然変異ras、前立腺特異

抗原、ROR1、VEGFR2、EphA3 (EPH受容体A3)、BAFFR (B細胞活性化因子受容体)、及びそれらの組合せからなる群から選択される抗原に特異的に結合する結合モチーフ、及び/又は(ii) B細胞に特徴的な抗原に特異的に結合する結合モチーフを更に含み、任意に上記B細胞に特徴的な抗原はCD19又はCD20ではない。幾つかの実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、抗CD19結合モチーフを更に含む。

#### 【0014】

幾つかの実施の形態では、請求項40のキメラ抗原受容体において、上記抗CD19結合モチーフは、3つのHCDRを含む第1のドメインと、3つのLCDRを含む第2のドメインとを含み、ここで、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDRは、HCDR1、HCDR2、及びHCDR3を含み、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3を含み、かつ、上記抗CD19結合モチーフの上記HCDR及び上記LCDRは、配列番号223～配列番号225のいずれかによるHCDR1、配列番号226～配列番号228のいずれかによるHCDR2、配列番号229～配列番号231のいずれか1つによるHCDR3、配列番号234～配列番号236のいずれかによるLCDR1、配列番号237～配列番号239のいずれかによるLCDR2、配列番号240～配列番号242のいずれか1つによるLCDR3を含む。幾つかの実施の形態では、上記抗CD19結合モチーフは、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDRを含む第1の重鎖可変ドメインと、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRを含む軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、上記抗CD19結合モチーフの上記重鎖可変ドメインは、配列番号221と少なくとも80%同一であり、かつ上記抗CD19結合モチーフの上記軽鎖可変ドメインは、配列番号232と少なくとも80%同一である。幾つかの実施の形態では、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDR及び上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、単一のポリペプチドに含まれる。

#### 【0015】

幾つかの実施の形態では、上記抗CD20結合モチーフの上記3つのHCDR、上記抗CD20結合モチーフの上記3つのLCDR、上記抗CD19結合モチーフの上記3つのHCDR、及び上記抗CD19結合モチーフの上記3つのLCDRは、一緒になって単一のポリペプチドに含まれる。幾つかの実施の形態では、上記キメラ抗原受容体は、4-1BB/CD137、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD19、CD22、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154若しくはT細胞受容体の鎖の膜貫通ドメインである膜貫通ドメイン、又はそれらの任意の組合せを含む。

#### 【0016】

様々な実施の形態では、本開示は、本開示の第1のキメラ抗原受容体と、5T4、フェトプロテイン、B細胞成熟抗原(BCMA)、B細胞受容体、CA-125、癌胎児性抗原、CD19、CD20、CD22、CD23、CD30、CD33、CD40、CD56、CD79、CD78、CD123、CD138、c-Met、CSPG4、IgM、C型レクチン様分子1(CLL-1)、EGFRvIII、上皮性腫瘍抗原、ERBB2、FLT3、葉酸結合タンパク質、GD2、GD3、HER1-HER2の組合せ、HER2-HER3の組合せ、HER2/Neu、HERV-K、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp120、IL-11R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、MUC-1、突然変異p53、突然変異ras、前立腺特異抗原、ROR1、VEGFR2、EphA3 (EPH受容体A3)、BAFFR (B細胞活性化因子受容体)、及びそれらの組合せからなる群から選択される抗原に特異的に結合する結合モチーフ、及び/又はB細胞に特徴的な抗原に特異的に結合する結合モチーフを含み、任意にB細胞に特徴的な抗原はCD19又はCD20ではない、第2のキメラ抗原受容体とを含むバイシストロン性キメラ抗原受容体を含む。幾つ

かの実施の形態では、第2のキメラ抗原受容体は抗CD19結合モチーフを含む。

【0017】

さらに、本開示は、本開示の少なくとも1つのポリペプチドをコードする核酸及び/又はそのような核酸を含むベクターを提供する。本開示はまた、操作された細胞を作製する方法であって、本開示の核酸で細胞をトランスフェクション又は形質導入することを含む、方法を含む。様々な実施の形態では、本開示は、本明細書に示されるキメラ抗原受容体をコード又は発現する細胞であって、任意に該細胞が免疫細胞であり、任意に該細胞がT細胞である、細胞を含む。

【0018】

本開示は、治療を必要とする被験体における癌を治療する方法であって、本開示のキメラ抗原受容体をコードする又は含む1つ以上の細胞を含む細胞療法組成物を上記被験体に投与することを含む、方法を更に提供する。本開示は、被験体における免疫応答を誘発する又は被験体を癌に対して免疫化する方法であって、本開示のキメラ抗原受容体をコードする又は含む1つ以上の細胞を含む細胞療法組成物を上記被験体に投与することを含む、方法を更に提供する。幾つかの実施の形態では、上記細胞は、CAR-T細胞である。様々な実施の形態では、前記癌は、急性リンパ芽球性白血病(ALL)(非T細胞ALLを含む)、急性骨髄白血病、B細胞前リンパ球性白血病、B細胞急性リンパ性白血病(「B ALL」)、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、パーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病(CLL)、慢性骨髄性白血病(CML)、慢性骨髄白血病、慢性若しくは急性の白血病、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(DLBCL)、濾胞性リンパ腫(FL)、有毛細胞性白血病、ホジキン病、悪性リンパ増殖性状態、MALTリンパ腫、マンテル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、意義不明の単クローン性グロブリン血症(MGUS)、多発性骨髄腫、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫(NHL)、形質細胞増殖性障害(無症候性骨髄腫(くすぶり型多発性骨髄腫又は無痛性骨髄腫)を含む)、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞新生物、形質細胞腫(形質細胞異常増殖症; 孤立性骨髄腫; 孤立性形質細胞腫; 髄外性形質細胞腫; 及び多発性形質細胞腫を含む)、POEMS症候群(Crow-Fukase症候群、高月病、及びPEP症候群としても知られる)、縦隔原発大細胞型B細胞リンパ腫(PMBCL)、小細胞若しくは大細胞濾胞性リンパ腫、脾辺縁帯リンパ腫(SMZL)、全身性アミロイド軽鎖アミロイドーシス、T細胞急性リンパ性白血病(「TALL」)、T細胞リンパ腫、形質転換後濾胞性リンパ腫、若しくはワルデンストレームマクログロブリン血症、又はそれらの組合せである。幾つかの実施の形態では、上記細胞療法は、同種異系細胞療法又は自家細胞療法である。

【0019】

少なくとも1つの態様では、本開示は、抗CD20結合モチーフと、CD19結合モチーフとを含むキメラ抗原受容体であって、抗CD20結合モチーフが、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、配列番号199、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、キメラ抗原受容体を含む。幾つかの実施の形態では、CD19結合モチーフは、配列番号221及び配列番号232からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施の形態では、抗CD20結合モチーフは、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、配列番号199、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、ここで、CD19結合モチーフは、配列番号221及び配列番号232からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。幾つかの実施の形態では、抗CD20結合モチーフ及びCD19結合モチーフは1つのポリペプチドに含まれる。幾つかの実施の形態では、抗CD20結合モチーフ及びCD19結合モチーフは異なるポリペプチドに含まれる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 2 0 】

少なくとも1つの態様では、本開示は、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、配列番号199、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含む。少なくとも1つの態様では、本開示は、配列番号1、配列番号23、配列番号45、配列番号67、配列番号89、配列番号111、配列番号133、配列番号155、配列番号177、配列番号199、配列番号12、配列番号34、配列番号56、配列番号78、配列番号100、配列番号122、配列番号144、配列番号166、配列番号188、及び配列番号210からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する抗CD20結合モチーフを含むキメラ抗原受容体を含む医薬組成物を含む。幾つかの実施の形態では、該組成物はCD19結合モチーフを更に含む。

10

## 【 発明を実施するための形態 】

## 【 0 0 2 1 】

本開示は、新規の抗原結合分子を含む新規のポリペプチド、及び該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本開示の幾つかの態様は、本明細書に開示される重鎖及び軽鎖（又はそれらのCDR）のうちの少なくとも1つを含むキメラ抗原受容体（CAR）をコードするポリヌクレオチドに関する。また、本開示は、かかるポリヌクレオチドを含むベクター（例えばウイルスベクター）、及びかかるベクターを含む組成物を提供する。本開示は、かかるCAR又はTCRをコードするポリヌクレオチド、及びかかるポリヌクレオチドを含む組成物を更に提供する。さらに、本開示は、かかるポリヌクレオチドを含む及び/又はかかるウイルスベクターによって形質導入された操作された細胞（例えばT細胞）、並びにかかる操作された細胞を含む組成物を提供する。本開示は、複数の操作されたT細胞を含む組成物（例えば、医薬組成物）を提供する。本開示は、かかる操作されたT細胞及び組成物を製造する方法、並びにかかる操作されたT細胞及び組成物の（例えば黒色腫の治療における）使用を提供する。また、本開示は、本開示のポリヌクレオチド、ベクター、又はポリペプチドを含む細胞を有効量、被験体に投与することを含む、腫瘍に対する免疫を誘導する方法を提供する。本開示の他の態様は、上記CARを含む細胞、及び癌を患っている患者の治療のためのT細胞療法における該細胞の使用に関する。

20

30

## 【 0 0 2 2 】

本明細書に記載される任意の態様又は実施形態は、本明細書に開示される任意の他の態様又は実施形態と組み合わせられ得る。本開示はその詳細な説明と併せて記載されているが、上述の記載は解説を意図するものであって、添付の特許請求の範囲によって定義される本開示の範囲を限定するものではない。他の態様、利点、及び変更形態は、添付の特許請求の範囲に含まれる。本明細書で言及される特許及び科学文献は、当業者に利用可能な知識を確立する。本明細書で引用される米国特許、及び公開又は未公開の米国特許出願はいずれも、引用することにより本明細書の一部をなす。本明細書で引用される公開された外国の特許及び特許出願はいずれも引用することにより本明細書の一部をなす。本明細書で引用される他の公開された参考文献、辞書、文書、原稿及び科学文献はいずれも、引用することにより本明細書の一部をなす。本開示の他の特徴及び利点は、実施例を含む以下の詳細な説明、及び特許請求の範囲から明らかとなる。

40

## 【 0 0 2 3 】

## 定義

本開示がより容易に理解されるように、まず或る特定の用語を以下に定義する。以下の用語及び他の用語に対する更なる定義は、本明細書を通して記載される。

## 【 0 0 2 4 】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用される、数量を特定していないもの（the singular forms "a," "an" and "the"）は、文脈より別段の明確な指示がない限り複数の指示対象を含む。

50



## 【 0 0 2 5 】

具体的に述べられない又は文脈より明らかでない限り、本明細書で使用される「又は」の用語は「又は」と「及び」の両方を含み、それらを包含すると理解される。

## 【 0 0 2 6 】

本明細書において使用される場合、「及び/又は」の用語は、2つの指定される特徴又は成分の各々ともう一方とを含む、又はもう一方を含まない具体的な開示として理解される。したがって、本明細書において「A及び/又はB」等の句で使用される「及び/又は」の用語は、A及びB；A又はB；A（単独）；並びにB（単独）を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び/又はC」等の句において使用される「及び/又は」の用語は、A、B及びC；A、B又はC；A又はC；A又はB；B又はC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；並びにC（単独）の態様の各々を包含することが意図される。

10

## 【 0 0 2 7 】

本明細書で使用される「例えば」及び「すなわち」の用語は、限定を意図せずに例として使用されるにすぎず、本明細書において明らかに列挙されるそれらの項目のみを指すものと解釈されるべきではない。

## 【 0 0 2 8 】

「以上」、「少なくとも」、「それよりも多く」等の用語、例えば「少なくとも1つ」は、限定されるものではないが、少なくとも1、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、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149又は150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000、又は示される値よりも多い値を含むと理解される。また、任意のより大きな数、又はその間の分数も含まれる。

20

30

## 【 0 0 2 9 】

逆に、「以下」の用語は示される値よりも小さい各値を含む。例えば、「100ヌクレオチド以下」は、100個、99個、98個、97個、96個、95個、94個、93個、92個、91個、90個、89個、88個、87個、86個、85個、84個、83個、82個、81個、80個、79個、78個、77個、76個、75個、74個、73個、72個、71個、70個、69個、68個、67個、66個、65個、64個、63個、62個、61個、60個、59個、58個、57個、56個、55個、54個、53個、52個、51個、50個、49個、48個、47個、46個、45個、44個、43個、42個、41個、40個、39個、38個、37個、36個、35個、34個、33個、32個、31個、30個、29個、28個、27個、26個、25個、24個、23個、22個、21個、20個、19個、18個、17個、16個、15個、14個、13個、12個、11個、10個、9個、8個、7個、6個、5個、4個、3個、2個、1個及び0個のヌクレオチドを含む。また、任意のより小さな数、又はその間の分数も含まれる。

40

## 【 0 0 3 0 】

「複数」、「少なくとも2つ」、「2以上」、「少なくとも第2の」等の用語は、限定

50

されるものではないが、少なくとも 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、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149 又は 150、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、2000、3000、4000、5000 以上を含むと理解される。また、任意のより大きな数、又はその間の分数も含まれる。

10

#### 【0031】

本明細書を通して、「含んでいる、含む (comprising)」の文言、又は「含む (comprises)」若しくは「含んでいる (comprising)」等の変化形は、示される要素、整数若し

20

くは工程、又は要素、整数若しくは工程の群を含むことを含意するが、任意の他の要素、整数若しくは工程、又は要素、整数若しくは工程の群を排除しないと理解される。本明細書において「含んでいる、含む」の言葉と共に態様が記載される場合はいつでも、「からなる」及び/又は「から本質的になる」の用語で記載される他の類似の態様も提供されると理解される。

#### 【0032】

具体的に述べられておらず又は文脈より明らかでない限り、本明細書で使用される「約」の用語は、当業者によって決定される特定の値又は組成に対する許容可能な誤差範囲に含まれる値又は組成を指し、その値又は組成がどのように測定され又は決定されるのか、すなわち測定システムの制限に部分的に依存する。例えば、「約」又は「を本質的に含む、を本質的に含んでいる (comprising essentially of)」は、当該技術分野における

30

1 回の実施当たりの 1 以上の標準偏差の範囲内を意味し得る。「約」又は「を本質的に含む、を本質的に含んでいる」は、最大 10% (すなわち  $\pm 10%$ ) の範囲を意味し得る。したがって、「約」は、示される値よりも 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%、0.01%、又は 0.001% 大きい又は小さい範囲に含まれると理解され得る。例えば、約 5 mg は、4.5 mg ~ 5.5 mg の間の任意の量を含み得る。さらに、特に生物学的なシステム又はプロセスに関して、上記用語は、或る値の最大 10 倍又は最大 5 倍を意味する場合がある。特定の値又は組成が本開示で提供される場合、別段の指示がない限り、「約」又は「を本質的に含む、を本質的に含んでいる」の意味は、その特定の値又は組成に対する許容可能な誤差の範囲に含まれるとされる。

40

#### 【0033】

本明細書に記載されるように、任意の濃度範囲、パーセンテージの範囲、比率範囲、又は整数の範囲は、別段の指示がない限り、述べられる範囲に含まれる任意の整数、また適切な場合には、その分数 (或る整数の 10 分の 1、及び 100 分の 1 等) の値を含むものと理解される。

#### 【0034】

本明細書で使用される単位、接頭辞及び記号は、それらの国際単位系 (SI: Systeme International de Unites) の容認される形態を用いて提示される。数値範囲は、そ

50

の範

囲を規定する数値を含む。

【 0 0 3 5 】

別段の規定がない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、この開示が関係する技術分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。例えば、Juo, "The Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology", 2<sup>nd</sup> ed., (2001), CRC Press, "The Dictionary of Cell & Molecular Biology", 5<sup>th</sup> ed., (2013),

Academic Press、及び"The Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology", Cammack et al. eds., 2<sup>nd</sup> ed, (2006), Oxford University Pressは、この開示で使用される多くの用語の一般的な辞書を当業者に提供する。 10

【 0 0 3 6 】

「投与すること、投与する (Administering)」は、当業者に知られている様々な方法

及び送達システムのいずれかを使用する、被験体に対する薬剤の物理的な導入を指す。本明細書に開示される製剤のための例示的な投与経路には、例えば注射又は点滴による、静脈内投与経路、筋肉内投与経路、皮下投与経路、腹腔内投与経路、脊髄投与経路、又は他の非経口 (parenteral: 腸管外) 投与経路が含まれる。「非経口投与」の句は、経腸及び局所の投与以外の、通常は注射による投与様式を意味し、限定されるものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、リンパ管内、病巣内、関節腔内、眼窩内、心臓内、皮 20  
内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、関節腔下、クモ膜下、脊髄内、硬膜外、及び胸骨内の注射及び点滴、また同様に *in vivo* 電気穿孔を含む。幾つかの実施形態では、上記製剤は、非経口的ではない経路、例えば経口で投与される。他の非経口的ではない経路として、局所、表皮、又は粘膜の投与経路、例えば、鼻腔内、経膈的、直腸、舌下又は局所的なものが挙げられる。また、投与は、例えば1回、複数回、及び/又は1以上の延長された期間に亘って行われ得る。

【 0 0 3 7 】

「抗体」(Ab)の用語は、限定されず、抗原に特異的に結合する糖タンパク質免疫グロブリンを含む。一般に、抗体は、ジスルフィド結合によって相互に連結された少なくとも2本の重(H)鎖及び2本の軽(L)鎖、又はそれらの抗原結合分子を含み得る。各H 30  
鎖は、重鎖可変領域(本明細書ではVHと略記する)及び重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つの定常ドメイン、すなわちCH1、CH2及びCH3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書ではVLと略記する)及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つの定常ドメイン、すなわちCLを含む。VH領域及びVL領域は、フレームワーク領域(FR)と称されるより保存される領域が介在する、相補性決定領域(CDR)と称される超可変性の領域に更に細分され得る。VH及びVLはそれぞれ、アミノ末端からカルボキシ末端にFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4の順で並ぶ、3つのCDR及び4つのFRを含む。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。Abの定常領域は、免疫系の様々な細胞(例えばエフェクター細胞)及び古典的補体系の第1成分(C1q)を含む、宿主の組織又は因子に対する免 40  
疫グロブリンの結合を媒介し得る。概して、ヒト抗体は、2つの同一の重(H)鎖ポリペプチド(それぞれ約50kD)及び2つの同一の軽(L)鎖ポリペプチド(それぞれ約25kD)から構成され、これらが互いに結び付いて、一般に「Y字型」構造と呼ばれるものになる、およそ150kDの四量体作用物質である。重鎖と軽鎖とは単一のジスルフィド結合によって互いに連結又は接続されており、2つの他のジスルフィド結合は重鎖ヒンジ領域を互いに接続し、こうして二量体が互いに接続され、四量体が形成される。天然に産生される抗体はまた、例えばCH2ドメイン上でグリコシル化されている。

【 0 0 3 8 】

「ヒト抗体」という用語は、ヒト免疫グロブリン配列又はそれと区別することができない配列から作製、集成、又は誘導された可変ドメイン配列及び定常ドメイン配列を有する 50

抗体を含むことが意図される。幾つかの実施形態では、抗体（又は抗体構成要素）は、それらのアミノ酸配列が、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされていない残基又は要素（例えば、*in vitro*でのランダム突然変異誘発若しくは部位特異的突然変異誘発によって導入された変異、又は*in vivo*での体細胞突然変異によって導入された変異）を含むとしても、「ヒト」であるとみなされ得る。「ヒト化」という用語は、非ヒト種（例えば、マウス）の可変ドメインから誘導され、ヒト生殖系列にコードされた配列により類似するように改変された配列を有する可変ドメインを有する抗体を含むことが意図される。幾つかの実施形態では、「ヒト化」抗体は、ヒトフレームワークドメインのアミノ酸配列を実質的に有する1つ以上のフレームワークドメインと、非ヒト抗体のアミノ酸配列と同じアミノ酸配列を実質的に有する1つ以上の相補性決定領域とを含む。幾つかの実施形態では、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部、一般にヒト免疫グロブリン定常ドメインの少なくとも一部を含む。幾つかの実施形態では、ヒト化抗体は、ヒト重鎖定常ドメインのC<sub>H</sub>1領域、ヒンジ領域、C<sub>H</sub>2領域、C<sub>H</sub>3領域、及び任意にC<sub>H</sub>4領域を含み得る。

10

#### 【0039】

抗体として、例えば、モノクローナル抗体、組換えにより生成された抗体、単一特異的抗体、多重特異的抗体（二重特異的抗体を含む）、ヒト抗体、操作された抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、免疫グロブリン、合成抗体、2本の重鎖分子及び2本の軽鎖分子を含む四量体抗体、抗体軽鎖単量体、抗体重鎖単量体、抗体軽鎖二量体、抗体重鎖二量体、抗体軽鎖-抗体重鎖対、イントラボディ（intrabodies）、抗体融合体（本明細書では「抗体コンジュゲート」と称されることがある）、ヘテロコンジュゲート抗体、単ドメイン抗体、一価抗体、単鎖抗体又は単鎖Fv（scFv）、ラクダ化抗体、アフィボディ（affibodies）、Fabフラグメント、F(ab')<sub>2</sub>フラグメント、ジスルフィド連結Fv（sdFv）、抗イデオタイプ（抗Id）抗体（例えば抗-抗-Id抗体を含む）、ミニボディ（minibodies）、ドメイン抗体、合成抗体（本明細書では「抗体模倣物」と称されることがある）、及び上記のいずれかの抗原結合フラグメントが挙げられ得る。或る特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体は、ポリクローナル抗体集団を指す。抗体はまた、例えば、Fab'フラグメント、Fd'フラグメント、Fdフラグメント、単離されたCDR、単鎖Fv、ポリペプチド-Fc融合物、単ドメイン抗体（例えば、IgNAR等のサメ単ドメイン抗体又はそのフラグメント）、ラクダ化抗体、単鎖ダイアボディ又はタンデムダイアボディ（TandAb（商標））、Anticalin（商標）、Nanobody（商標）、ミニボディ、BiTE（商標）、アンキリンリピートタンパク質又はDARPin（商標）、Avimer（商標）、DART、TCR様抗体、Adnectin（商標）、Affilin（商標）、Trans-body（商標）、Affibody（商標）、TrimerX（商標）、MicroProtein、Fynommer（商標）、Centyrin（商標）、及びKALBITOR（商標）を含み得る。

20

30

#### 【0040】

免疫グロブリンは、限定されるものではないが、IgA、分泌型IgA、IgG、IgE及びIgMを含む、一般的に知られているアイソタイプのいずれかに由来し得る。IgGサブクラスもまた、当業者に良く知られており、限定されるものではないが、ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む。「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされるAbクラス又はサブクラス（例えば、IgM又はIgG1）を指す。「抗体」の用語は、例として、天然起源と非天然起源の両方のAb、モノクローナル及びポリクローナルのAb；キメラAb及びヒト化Ab；ヒトAb又は非ヒトAb；全合成Ab；並びに単鎖Abを含む。非ヒトAbは、ヒトにおけるその免疫原性を減少させるため、組換え法によってヒト化され得る。明確に述べられない場合、また別段の指示がない限り、「抗体」の用語は、前述の免疫グロブリンのいずれかの抗原結合フラグメント又は抗原結合部分も含み、一価及び二価のフラグメント又は部分、並びに単鎖Abを含む。

40

#### 【0041】

50

「抗原結合分子」、「抗原結合部分」又は「抗体フラグメント」は、抗体の抗原結合部（例えばCDR）を含む任意の分子を指し、この分子は該抗体に由来する。抗原結合分子は、抗原相補性決定領域（CDR）を含み得る。抗体フラグメントの例として、限定されるものではないが、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、及びFvフラグメント、dAb、直鎖抗体、scFv抗体、並びに抗原結合分子から形成される多重特異性抗体が挙げられる。ペプチボディ（Peptibodies）（すなわち、ペプチド結合ドメインを含むFc融合分子）は、好適な抗原結合分子の別の例である。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は腫瘍細胞上の抗原に結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、過剰増殖性疾患（hyperproliferative disease）に關与する細胞上の抗原、又はウイルス若しくは細菌の抗原に結合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子はBCMA、CLL-1又はFLT3に結合する。或る特定の実施形態では、抗原結合分子はCD19、CD20、又はそれらの両方に結合する。更なる実施形態では、抗原結合分子は、その1以上の相補性決定領域（CDR）を含む、抗原に特異的に結合する抗体フラグメントである。更なる実施形態では、抗原結合分子は単鎖可変フラグメント（scFv）である。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、アビマー（avimers）を含む、又はそれからなる。

10

#### 【0042】

幾つかの場合には、CDRは、参照抗体（例えば、本開示の抗体）中に見られるCDR、及び/又は本開示で提供されるCDRの配列と実質的に同一である。幾つかの実施形態では、CDRは、参照CDRと比較して配列が同一であるか、又は1個、2個、3個、4個、若しくは5個（例えば、1個～5個）の間のアミノ酸置換を含むかのいずれかの点で、参照CDR（例えば、本開示で提供されるCDR）と実質的に同一である。幾つかの実施形態では、CDRは、参照CDRと少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%（例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%）の配列同一性を示すという点で、参照CDRと実質的に同一である。幾つかの実施形態では、CDRは、参照CDRと少なくとも96%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を示すという点で、参照CDRと実質的に同一である。幾つかの実施形態では、CDRは、CDR内の1つのアミノ酸が参照CDRと比較して欠失、付加、又は置換されているという点で、参照CDRと実質的に同一であるが、CDRは、参照CDRのアミノ酸配列とその他の点では同一であるアミノ酸配列を有する。幾つかの実施形態では、CDRは、CDR内の2個、3個、4個、又は5個（例えば、2個～5個）のアミノ酸が参照CDRと比較して欠失、付加、又は置換されているという点で、参照CDRと実質的に同一であるが、CDRは、参照CDRとその他の点では同一であるアミノ酸配列を有する。様々な実施形態では、抗原結合フラグメントは参照抗体と同じ抗原に結合する。

20

30

#### 【0043】

抗原結合フラグメントは、任意の手段によって生産され得る。例えば、幾つかの実施形態では、抗原結合フラグメントは、インタクトな抗体の断片化によって酵素的又は化学的に生産され得る。幾つかの実施形態では、抗原結合フラグメントは、組換え的に（すなわち、操作された核酸配列の発現によって）生産され得る。幾つかの実施形態では、抗原結合フラグメントは、全体的に又は部分的に合成により生産され得る。幾つかの実施形態では、抗原結合フラグメントは、少なくとも約50アミノ酸、60アミノ酸、70アミノ酸、80アミノ酸、90アミノ酸、100アミノ酸、110アミノ酸、120アミノ酸、130アミノ酸、140アミノ酸、150アミノ酸、160アミノ酸、170アミノ酸、180アミノ酸、190アミノ酸又はそれより長い長さ、幾つかの実施形態では、少なくとも約200アミノ酸（例えば、50アミノ酸～100アミノ酸、50アミノ酸～150アミノ酸、50アミノ酸～200アミノ酸、又は100アミノ酸～200アミノ酸）の長さを有し得る。

40

#### 【0044】

「可変領域」又は「可変ドメイン」の用語は、交換可能に使用され、当該技術分野にお

50

いて一般的である。可変領域は、典型的には抗体の一部、一般的には、軽鎖又は重鎖の一部、典型的には成熟重鎖中のアミノ末端の約 110 個 ~ 120 個のアミノ酸、及び成熟軽鎖中の約 90 個 ~ 115 個のアミノ酸を指し、それらは、抗体間で配列が広範囲に異なり、その特定の抗原に対する特定の抗体の結合及び特異性において使用される。配列における可変性は、相補性決定領域 (CDR) と称される領域に濃縮されるのに対し、可変ドメイン中のより高度に保存された領域はフレームワーク領域 (FR) と称される。いかなる特定の機構又は理論にも縛られることを望むものではないが、軽鎖及び重鎖の CDR は、抗体の抗原との相互作用及び特異性を主として担うものと考えられる。或る特定の実施形態では、可変領域はヒト可変領域である。或る特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類又はネズミ科の CDR、及びヒトのフレームワーク領域 (FR) を含む。特定の実施形態では、可変領域は霊長類 (例えば非ヒト霊長類) の可変領域である。或る特定の実施形態では、可変領域は、齧歯類又はネズミ科の CDR、及び霊長類 (例えば非ヒト霊長類) のフレームワーク領域 (FR) を含む。

10

【0045】

「VL」及び「VLドメイン」の用語は、抗体の軽鎖可変領域又はその抗原結合分子を指すため区別なく使用される。

【0046】

「VH」及び「VHドメイン」の用語は、抗体の重鎖可変領域又はその抗原結合分子を指すため区別なく使用される。

【0047】

CDRの多くの定義、すなわち、Kabatナンバリング、Chothiaナンバリング、AbMナンバリング、又は接触 (contact) ナンバリングが一般に使用されている。AbM定義は、Oxford Molecular社のAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用される2つの折衷案である。接触定義は、利用可能な複雑な結晶構造の分析に基づく。

20

【0048】

表1：CDRナンバリング

ループ	K a b a t	A b M	C h o t h i a	接触
L 1	L 2 4 -- L 3 4	L 2 4 -- L 3 4	L 2 4 -- L 3 4	L 3 0 -- L 3 6
L 2	L 5 0 -- L 5 6	L 5 0 -- L 5 6	L 5 0 -- L 5 6	L 4 6 -- L 5 5
L 3	L 8 9 -- L 9 7	L 8 9 -- L 9 7	L 8 9 -- L 9 7	L 8 9 -- L 9 6
H 1	H 3 1 -- H 3 5 B (K a b a tナンバリング)	H 2 6 -- H 3 5 B	H 2 6 -- H 3 2 .. 3 4	H 3 0 -- H 3 5 B
H 1	H 3 1 -- H 3 5 (C h o t h i aナンバリング)	H 2 6 -- H 3 5	H 2 6 -- H 3 2	H 3 0 -- H 3 5
H 2	H 5 0 -- H 6 5	H 5 0 -- H 5 8	H 5 2 -- H 5 6	H 4 7 -- H 5 8
H 3	H 9 5 -- H 1 0 2	H 9 5 -- H 1 0 2	H 9 5 -- H 1 0 2	H 9 3 -- H 1 0 1

30

40

【0049】

「Kabatナンバリング」の用語及び類似の用語は、当該技術分野において認められ、抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域、又はその抗原結合分子中のアミノ酸残基をナンバリングするシステムを指す。或る特定の態様では、Kabatナンバリングシステムに従って、抗体のCDRを特定することができる (例えば、Kabat EA & Wu TT (1971) Ann NY Acad Sci 190: 382-391、及びKabat EA et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照されたい)。Kabatナンバリング

50

システムを使用

すると、抗体重鎖分子内のCDRは、典型的には、35 (Kabatナンバリングスキームでは35A及び35Bと呼ばれる) に続いて任意に1つ又は2つの追加のアミノ酸を含み得るアミノ酸31位~35位(CDR1)、アミノ酸50位~65位(CDR2)、及びアミノ酸95位~102位(CDR3)に存在する。Kabatナンバリングシステムを使用すると、抗体軽鎖分子内のCDRは、典型的には、アミノ酸24位~34位(CDR1)、アミノ酸50位~56位(CDR2)、及びアミノ酸89位~97位(CDR3)に存在する。具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体のCDRは、Kabatナンバリングスキームに従って決定された。

【0050】

或る特定の態様では、抗体のCDRは、免疫グロブリンの構造ループの位置を指す、Chothiaナンバリングスキームに従って特定され得る(例えば、Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917、Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273:

927-948、Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817、Tramontano A et al.,

(1990) J Mol Biol 215(1): 175-82、及び米国特許第7,709,226号を参照され

たい)。典型的には、Kabatナンバリング規定を使用する場合、ChothiaのCDR-H1ループは重鎖のアミノ酸26~32、33又は34に存在し、ChothiaのCDR-H2ループは重鎖のアミノ酸52~56に存在し、ChothiaのCDR-H3ループは重鎖のアミノ酸95~102に存在するのに対し、ChothiaのCDR-L1ループは軽鎖のアミノ酸24~34に存在し、ChothiaのCDR-L2ループは軽鎖のアミノ酸50~56に存在し、ChothiaのCDR-L3ループは軽鎖のアミノ酸89~97に存在する。ChothiaのCDR-H1ループの末端は、Kabatナンバリング規定を使用して番号を付与した場合には、ループの長さに応じてH32~H34の間で変動する(これは、KabatナンバリングスキームがH35A及びH35Bに挿入を置くため、すなわち35Aも35Bも存在しない場合には32でループが終了し、35Aのみが存在する場合には33でループが終了し、35Aと35Bの両方が存在する場合には34でループが終了するからである)。具体的な実施形態では、本明細書に記載される抗体のCDRはChothiaナンバリングスキームに従って特定された。

【0051】

「定常領域」及び「定常ドメイン」の用語は区別なく用いられ、当該技術分野で共通の意味を有する。定常領域は抗体部分、例えば、抗原に対する抗体の結合に直接関係しないが、Fc受容体との相互作用等の様々なエフェクター機能を呈し得る、軽鎖及び/又は重鎖のカルボキシル末端部分である。免疫グロブリン分子の定常領域は、一般に、免疫グロブリン可変ドメインと比較して、より保存されたアミノ酸配列を有する。

【0052】

「重鎖」の用語は、抗体に関して使用される場合、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の異なる種類、IgGのサブクラス、例えばIgG<sub>1</sub>、IgG<sub>2</sub>、IgG<sub>3</sub>、及びIgG<sub>4</sub>を含む、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMのクラスの抗体をそれぞれ生じさせる、例えば、アルファ( )、デルタ( )、イプシロン( )、ガンマ( )、及びミュー(μ)を指す場合がある。

【0053】

「軽鎖」の用語は、抗体に関して使用される場合、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、任意の異なる種類、例えばカッパー( )又はラムダ( )を指す場合がある。軽鎖アミノ酸配列は当該技術分野においてよく知られている。具体的な実施形態では、軽鎖はヒト軽鎖である。

【0054】

「結合親和性」は、一般的には、分子(例えば抗体)の単一の結合部位と、その結合パ

10

20

30

40

50

ートナー（例えば抗原）との間の非共有結合的な相互作用の合計の強さを指す。別段の指示がない限り、本明細書で使用される「結合親和性」は、結合ペアのメンバー（例えば抗体及び抗原）間の1：1の相互作用を反映する、固有の結合親和性を指す。分子XのそのパートナーYに対する親和性は、一般的には、解離定数（ $K_D$ ）によって表され得る。親和性は、限定されるものではないが、平衡解離定数（ $K_D$ ）及び平衡会合定数（ $K_A$ ）を含む、当該技術分野で知られている多くの方法で測定され得る及び／又は表され得る。 $K_D$ は $k_{off} / k_{on}$ の商から計算されるが、 $K_A$ は $k_{on} / k_{off}$ の商から計算される。 $k_{on}$ は、例えば抗原に対する抗体の会合速度定数を指し、 $k_{off}$ は、例えば抗原に対する抗体の解離を指す。 $k_{on}$ 及び $k_{off}$ は、B I A C O R E（商標）又はK i n E x A等の当業者に知られている技術によって決定され得る。

10

## 【0055】

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されるものである。側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当該技術分野において定義されている。これらのファミリーは、塩基性側鎖（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ分岐側鎖（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）を有するアミノ酸を含む。或る特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合分子のCDR（複数の場合もある）内又はフレームワーク領域（複数の場合もある）内の1以上のアミノ酸残基を、類似する側鎖を有するアミノ酸残基で置換することができる。概して、2つの配列は、これらが保存的アミノ酸置換を対応する位置に含む場合に、一般に「実質的に類似している」とみなされる。例えば、或る特定のアミノ酸は、一般に「疎水性」アミノ酸若しくは「親水性」アミノ酸として、及び／又は「極性」側鎖若しくは「非極性」側鎖を有するものとして分類される。或るアミノ酸を同じタイプ別のアミノ酸に置換することが保存的置換とみなされ得る。例示的なアミノ酸のカテゴリー分類を以下の表2及び表3にまとめる。

20

## 【0056】

30

40

50



表 2

アミノ酸	3文字	1文字	特性	特性	ハイドロパシーインデックス
アラニン	A l a	A	非極性	中性	1. 8
アルギニン	A r g	R	極性	正	- 4. 5
アスパラギン	A s n	N	極性	中性	- 3. 5
アスパラギン酸	A s p	D	極性	負	- 3. 5
システイン	C y s	C	非極性	中性	2. 5
グルタミン酸	G l u	E	極性	負	- 3. 5
グルタミン	G l n	Q	極性	中性	- 3. 5
グリシン	G l y	G	非極性	中性	- 0. 4
ヒスチジン	H i s	H	極性	正	- 3. 2
イソロイシン	I l e	I	非極性	中性	4. 5
ロイシン	L e u	L	非極性	中性	3. 8
リジン	L y s	K	極性	正	- 3. 9
メチオニン	M e t	M	非極性	中性	1. 9
フェニルアラニン	P h e	F	非極性	中性	2. 8
プロリン	P r o	P	非極性	中性	- 1. 6
セリン	S e r	S	極性	中性	- 0. 8
トレオニン	T h r	T	極性	中性	- 0. 7
トリプトファン	T r p	W	非極性	中性	- 0. 9
チロシン	T y r	Y	極性	中性	- 1. 3
バリン	V a l	V	非極性	中性	4. 2

10

20

## 【 0 0 5 7 】

表 3

あいまいなアミノ酸	3文字	1文字
アスパラギン又はアスパラギン酸	A s x	B
グルタミン又はグルタミン酸	G l x	Z
ロイシン又はイソロイシン	X l e	J
不特定アミノ酸又は未知のアミノ酸	X a a	X

30

## 【 0 0 5 8 】

「異種性 ( の ) ( heterologous ) 」の用語は、天然起源の配列以外の任意の供給源によることを意味する。例えば、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有する共刺激タンパク質、例えば対応するヒト共刺激タンパク質の一部として含まれる異種性配列は、野生型ヒト共刺激タンパク質として天然に生じない、すなわちそれと整列 ( align ) されないアミノ酸

配列である。例えば、異種性ヌクレオチド配列は、野生型ヒト共刺激タンパク質コーディング配列以外のヌクレオチド配列を指す。

40

## 【 0 0 5 9 】

「エピトープ」は、当該技術分野における用語であり、抗体が特異的に結合することができる抗原の局在化領域を指す。エピトープは、例えばポリペプチドの隣接するアミノ酸 ( 直鎖の又は隣接するエピトープ ) であってもよく、又はエピトープは、例えば、ポリペプチド ( 複数の場合もある ) の 2 以上の隣接しない領域に共に由来するもの ( 配座、非直鎖、不連続、又は隣接しないエピトープ ) であってもよい。或る特定の実施形態では、抗体が結合するエピトープは、例えば、NMR 分光法、X 線回折結晶学研究、E L I S A アッセイ、質量分析と結合された水素 / 重水素交換 ( 例えば液体クロマトグラフィーエレクトロスプレー質量分析 )、アレイに基づくオリゴペプチド走査アッセイ、及び / 又は突然

50

変異誘発マッピング（例えば部位特異的変異誘発マッピング）によって特定され得る。X線結晶学研究のため、結晶化は、当該技術分野の既知の方法（例えば、Giege R et al., (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350、McPherson A (1990)

*Eur J Biochem* 189: 1-23、Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274、McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303) のいずれかを使用して遂行され得る。抗体：抗原の結晶は、良く知られているX線回折技術を使用して研究され得て、X - P L O R (Yale University, 1992、Molecular Simulations, Inc.によって配布；例えば、*Meth Enzymol* (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW et al., を参照されたい；米国特許出願公開

第2004/0014194号)、及びB U S T E R (Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60、Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW、Roversi P et al., (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323) 等のコンピュータソフトウェアを使用してリファインされ得る。突然変異誘発マッピング研究は、当業者に知られている任意の方法を使用して遂行され得る。例えば、アラニンスキャニング突然変異誘発技術を含む、突然変異誘発技術の説明について、Champe M et al., (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394、及びCunningham BC & Wells JA (1989) *Science* 244: 1081-1085を参照されたい。

10

20

30

40

50

#### 【0060】

抗原と、第1の結合分子、抗体又はその抗原結合分子との相互作用が、参照結合分子、参照抗体又はその抗原結合分子の抗原と相互作用する能力を遮断する、制限する、阻害する、或いは減少させる場合、抗原結合分子、抗体又はその抗原結合分子は、参照抗体又はその抗原結合分子と「交差競合する」。交差競合は、完全なものであってもよく、例えば、抗原に対する結合分子の結合が、参照結合分子の抗原に結合する能力を完全に遮断するか、又は交差競合は、部分的であってもよく、例えば、抗原に対する結合分子の結合が、参照結合分子の抗原に結合する能力を減少させる。或る特定の実施形態では、参照抗原結合分子と交差競合する抗原結合分子は、参照抗原結合分子と同じ、又はそれと重複するエピトープを結合する。他の実施形態では、参照抗原結合分子と交差競合する抗原結合分子は、参照抗原結合分子とは異なるエピトープを結合する。多くの種類の競合結合アッセイ、例えば、固相直接又は間接ラジオイムノアッセイ (R I A) ; 固相直接又は間接酵素免疫定量法 (E I A) ; サンドイッチ競合アッセイ (Stahli et al., 1983, *Methods in Enzymology* 9:242-253) ; 固相直接ビオチン - アビジン E I A (Kirkland et al., 1986, *J. Immunol.* 137:3614-3619) ; 固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ (Harlow and Lane, 1988, *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press) ; I 1 2 5 標識を使用する固相直接標識 R I A (Morel et al., 1988, *Molec. Immunol.* 25:7-15) ; 固相直接ビオチン - アビジン E I A (Cheung, et al., 1990, *Virology* 176:546-552) ; 及び直接標識 R I A (Moldenhauer et al., 1990, *Scand. J. Immunol.* 32:77-82) を使用して、或る一つの抗原結合分子が他方と競合するかどうかを判断することができる。

#### 【0061】

「結合」という用語は、一般に2つ以上の実体間の非共有結合的な結び付きを指す。直接的な結合には、実体又は部分間の物理的接触が含まれる。「間接的な」結合には、1つ以上の介在する実体との物理的接触による物理的相互作用が含まれる。2つ以上の実体間の結合は、例えば、相互作用する実体若しくは部分が単離されて研究される様々な状況のいずれかで、又はより複雑な系の状況で（例えば、担体の実体と共有結合的に又は別の方法で結び付けられる間に及び/又は細胞等の生物学的系において）評価され得る。

#### 【0062】

「免疫特異的に結合する」、「免疫特異的に認識する」、「特異的に結合する」、及び「特異的に認識する」の用語は、抗体に関して類似の用語であって、抗原（例えばエピト

ープ又は免疫複合体)に結合する分子を指し、かかる結合は当業者によって理解される通りである。例えば、抗原に特異的に結合する分子は、一般的には、例えばイムノアッセイ、B I A C O R E (商標)、K i n E x A 3 0 0 0 測定器(アイダホ州ボイシのSapid yne Instruments)又は当該技術分野で知られている他のアッセイによって特定されるように、より低い親和性で他のペプチド又はポリペプチドに結合し得る。具体的な実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、分子が別の抗原に結合する場合の $K_A$ と比べて少なくとも $2 \log$ 、 $2.5 \log$ 、 $3 \log$ 、 $4 \log$ 以上の $K_A$ で抗原に結合する。結合は、結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系と標的ではない実体(すなわち、非標的)との結び付きと比較した、結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系と結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系の標的との優先的な結び付きを含み得る。幾つかの実施形態では、結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系と標的との間の結合が結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系と非標的との結合と比較して2倍超、5倍超、10倍超、20倍超、30倍超、40倍超、50倍超、60倍超、70倍超、80倍超、90倍超、又は100倍超である場合に、結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系は、標的に選択的に結合する。幾つかの実施形態では、結合親和性が約 $10^{-5}$  M未満、約 $10^{-6}$  M未満、約 $10^{-7}$  M未満、約 $10^{-8}$  M未満、又は約 $10^{-9}$  M未満である場合に、結合モチーフ、抗体、又は抗原結合系は、標的に選択的に結合する。

10

#### 【0063】

別の実施形態では、抗原に特異的に結合する分子は、約 $1 \times 10^{-7}$  Mの解離定数( $K_d$ )で結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、 $K_d$ が約 $1 \times 10^{-9}$  M ~ 約 $5 \times 10^{-9}$  Mである場合、「高い親和性」で抗原を特異的に結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、 $K_d$ が約 $1 \times 10^{-10}$  M ~ 約 $5 \times 10^{-10}$  Mである場合、「非常に高い親和性」で抗原を特異的に結合する。一実施形態では、抗原結合分子は $10^{-9}$  Mの $K_d$ を有する。一実施形態では、解離速度(off-rate)は約 $1 \times 10^{-5}$ 未満である。他の実施形態では、抗原結合分子は、約 $1 \times 10^{-7}$  M ~ 約 $1 \times 10^{-13}$  Mの $K_d$ でヒトBCMAを結合する。更に別の実施形態では、抗原結合分子は、約 $1 \times 10^{-10}$  M ~ 約 $5 \times 10^{-10}$  Mの $K_d$ でヒトBCMAを結合する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子は、ヒトCD19、CD20、又はその両方に、約 $1 \times 10^{-7}$  M ~ 約 $1 \times 10^{-13}$  Mの $K_d$ で結合する。更に別の実施形態では、抗原結合分子は、ヒトCD19、CD20、又はその両方に、約 $1 \times 10^{-10}$  M ~ 約 $5 \times 10^{-10}$  Mの $K_d$ で結合する。

20

30

#### 【0064】

具体的な実施形態では、別の種の標的抗原、例えば非ヒトBCMA又は非ヒトCLL-1に対するよりも高い親和性にて標的ヒト抗原、例えばヒトBCMA又はヒトCLL-1に結合する抗体又はその抗原結合分子が本明細書に示される。幾つかの実施形態では、ヒトCD19、ヒトCD20、又はその両方に、一方の標的抗原又は両方の標的抗原の別の種、例えば非ヒトCD19、非ヒトCD20、又はその両方に対するよりも高い親和性で結合する抗体又はその抗原結合分子が本明細書に示される。或る特定の実施形態では、例えばラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴又は動力学的排除アッセイ(kinetic exclusion assay)によって測定される、別の種の標的抗原に対するよりも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%高い親和性にて標的ヒト抗原、例えばヒトBCMA又はヒトCLL-1に結合する抗体又はその抗原結合分子が本明細書に示される。或る特定の実施形態では、ヒトCD19、ヒトCD20、又はその両方に、例えばラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴、又は動力学的排除アッセイによって測定される、一方の標的抗原又は両方の標的抗原の別の種に対するよりも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%高い親和性で結合する抗体又はその抗原結合分子が本明細書に示される。具体的な実施形態では、標的ヒト抗原に結合する、本明細書に記載される抗体又はその抗原結合分子は、例えばラジオイムノアッセ

40

50

イ、表面プラズモン共鳴又は動力学的排除アッセイによって測定される、ヒト抗原に対する抗体又はその抗原結合分子の結合の10%、15%、又は20%未満で別の種の標的抗原に結合する。

【0065】

「キメラ抗原受容体」、すなわち「CAR」は、結合モチーフと、抗原結合時に免疫細胞（例えば、ナイーブT細胞、セントラルメモリーT細胞、エフェクターメモリーT細胞等のT細胞、又はそれらの組合せ）を活性化する方法とを含むように操作された分子を指す。CARは、人工T細胞受容体、キメラT細胞受容体、又はキメラ免疫受容体としても知られている。幾つかの実施形態では、CARは、結合モチーフ、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、1つ以上の共刺激ドメイン、及び細胞内シグナル伝達ドメインを含む。キメラ抗原受容体を発現するように遺伝子操作されたT細胞は、CAR T細胞と呼称され得る。「細胞外ドメイン」（すなわち「ECD」）は、ポリペプチドが細胞膜に存在する場合に、細胞膜の外側、すなわち細胞外空間に存在すると理解されるポリペプチドの一部を指す。

10

【0066】

「抗原」は、免疫応答を誘発する、又は抗体若しくは抗原結合分子によって結合されることが可能な任意の分子を指す。免疫応答は、抗体産生若しくは特定の免疫適格細胞（immunologically-competent cells）の活性化のいずれか、又はそれらの両方を含み得る。

当業者は、実質的に全てのタンパク質又はペプチドを含む任意の高分子が抗原としての役割を果たし得ることを容易に理解する。抗原は内因性に発現され得て、すなわちゲノムDNAによって発現され得るか、又は組換えによって発現され得る。抗原は、癌細胞等の或る特定の組織に特異的となり得るか、又は広く発現され得る。さらに、より大きな分子の断片が抗原として作用し得る。一実施形態では、抗原は腫瘍抗原である。特定の一実施形態では、抗原はCD19又はCD20の全て又は断片である。「標的」は、結合モチーフ、抗原結合系、又は結合作用物質、例えば抗体によって結合されるあらゆる分子である。幾つかの実施形態では、標的は本開示の抗原又はエピトープである。

20

【0067】

「中和する、中和すること」の用語は、リガンドに結合し、そのリガンドの生物学的効果を妨げる又は減少させる抗原結合分子、scFv、抗体、又はそのフラグメントを指す。幾つかの実施形態では、抗原結合分子、scFv、抗体、又はそのフラグメントは、リガンド上の結合部位を直接遮断する、或いは間接的な手段（リガンドの構造の又はエネルギーの変更等）によってリガンドの結合能を変更する。幾つかの実施形態では、抗原結合分子、scFv、抗体、又はそのフラグメントは、結合されるタンパク質が生体機能を実施するのを妨げる。

30

【0068】

「自己」の用語は、後に再導入されることになっているのと同じ個体に由来する任意の材料を指す。例えば、本明細書に記載される操作された自己細胞療法（eACT（商標））は、患者からのリンパ球の収集を含み、該リンパ球は、その後、例えばCARコンストラクトを発現するように操作した後、同じ患者に戻される（administered back）。

40

【0069】

「同種異系」の用語は、一個体に由来する任意の材料を指し、該材料はその後、同種の別の個体に導入される（例えば同種異系T細胞移植）。

【0070】

「形質導入」及び「形質導入された」の用語は、外来DNAがウイルスベクターによって細胞へと導入されるプロセスを指す（Jones et al., "Genetics: principles and analysis," Boston: Jones & Bartlett Publ. (1998)を参照されたい）。幾つかの実施形態では、ベクターは、レトロウイルスベクター、DNAベクター、RNAベクター、アデノウイルスベクター、パキユロウイルスベクター、エプスタイン-バールウイルスベクター、パポウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイル

50

スペクター、アデノウイルス随伴ベクター、レンチウイルスベクター、又はそれらの任意の組合せである。

【0071】

「形質転換」は、外因性DNAが宿主細胞に導入されるあらゆるプロセスを指す。形質転換は、天然条件又は人工的条件下で様々な方法を使用して行われ得る。形質転換は、原核性宿主細胞又は真核性宿主細胞に外来核酸配列を挿入するあらゆる既知の方法を使用して達成され得る。幾つかの実施形態では、幾つかの形質転換の方法論は、形質転換される宿主細胞及び/又は挿入される核酸に基づいて選択される。形質転換の方法は、限定されるものではないが、ウイルス感染、エレクトロポレーション、及びリポフェクションを含み得る。幾つかの実施形態では、「形質転換された」細胞は、挿入されたDNAが自律的に複製するプラスミドとして又は宿主染色体の一部としてのいずれかで複製することができるという点で安定して形質転換されている。幾つかの実施形態では、形質転換された細胞は、導入された核酸を発現し得る。

10

【0072】

「ベクター」という用語は、示される核酸配列を含む又は包含するように改変されたレシピエント核酸分子を指す。ベクターの1つの種類は「プラスミド」であり、これは追加のDNAがライゲーションされ得る環状二本鎖DNA分子を指す。別の種類のベクターはウイルスベクターであり、ここで、追加のDNAセグメントがウイルスゲノムにライゲーションされ得る。或る特定のベクターは、これらが導入される宿主細胞中で自律複製することができる（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクター及び哺乳類エピソーマルベクター）。他のベクター（例えば、哺乳類非エピソーマルベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み込まれ得ることにより、宿主ゲノムとともに複製される。さらに、或る特定のベクターは、これらが作動可能に連結される挿入された遺伝子の発現を指示する配列を含む。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と呼称され得る。例えば、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2d ed.,

20

*Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)*) (これは、あらゆる目的について、引用することにより本明細書の一部をなす)に見られるような標準的な技術がベクターの操作に使用され得る。

【0073】

「癌」は、身体における異常な細胞の制御されていない成長を特徴とする、幅広い各種疾患のグループを指す。制御されていない細胞の分裂及び成長は、隣接する組織に侵入して、またリンパ系又は血流によって身体の離れた部分へと転移し得る、悪性腫瘍の形成をもたらす。「癌」又は「癌組織」は、腫瘍を含む場合がある。本開示の方法によって治療され得る癌の例として、限定されるものではないが、リンパ腫、白血病、骨髄腫、及び他の白血球の悪性腫瘍 (leukocytemalignancies) を含む免疫系の癌が挙げられる。幾つかの実施形態では、本開示の方法は、例えば、骨癌、膵臓癌、皮膚癌、頭頸部癌、皮膚又は眼内の悪性黒色腫、子宮癌、卵巣癌、直腸癌、肛門部の癌、胃癌、精巣癌、子宮癌、卵管癌、子宮内膜癌、子宮頸癌、膣癌、外陰癌、多発性骨髄腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、縦隔原発大細胞型B細胞リンパ腫 (PMBC: primary mediastinal large B cell lymphoma)、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL: diffuse large

30

40

B cell lymphoma)、濾胞性リンパ腫 (FL)、形質転換後濾胞性リンパ腫 (transformed follicular lymphoma)、脾辺縁帯リンパ腫 (SMZL: splenic marginal zone lymphoma)、食道癌、小腸癌、内分泌系の癌、甲状腺癌、副甲状腺の癌、副腎の癌、軟組織の

肉腫、尿道癌、陰茎癌、慢性又は急性の白血病、急性骨髄白血病、慢性骨髄白血病 (chronic myeloid leukemia)、急性リンパ芽球性白血病 (ALL) (非T細胞ALLを含む)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、幼少期の固形腫瘍、リンパ球性リンパ腫、膀胱癌、腎臓又は尿管の癌、腎盂癌、中枢神経系 (CNS) の新生物、原発性CNSリンパ

50

腫、腫瘍血管新生、脊髄軸腫瘍 (spinal axis tumor)、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、カボジ肉

腫、類表皮癌、扁平上皮癌、T細胞リンパ腫、石綿によって誘導されるものを含む、環境によって誘導される癌、他のB細胞悪性腫瘍、及び上記癌の組合せに由来する腫瘍のサイズを減少するため使用され得る。特定の一実施形態では、癌は多発性骨髄腫である。特定の癌は、化学療法又は放射線療法に反応性となり得るが、そうでなければその癌は難治性となり得る。難治性癌は、外科的処置に適用できない癌を指し、その癌は最初に化学療法若しくは放射線療法に無反応であるか、又はその癌は経時的に無反応となるかのいずれかである。さらに、癌には、特定不能のびまん性大細胞型B細胞リンパ腫 (DLBCL)、2ライン以上の全身療法後の縦隔原発大細胞型B細胞リンパ腫、高悪性度B細胞リンパ腫、及び濾胞性リンパ腫に起因するDLBCLを含む、2ライン以上の全身療法後の再燃性若しくは難治性大細胞型B細胞リンパ腫が含まれる。

10

#### 【0074】

本明細書に使用される「抗腫瘍効果」は、腫瘍体積の減少、腫瘍細胞数の減少、腫瘍細胞増殖の減少、転移の数の減少、全体生存期間又は無増悪生存期間の増加、平均余命の増加、又は腫瘍と関係する様々な生理学的症状の改善として提示され得る、生物学的効果を指す。また、抗腫瘍効果は、腫瘍の発生の予防、例えばワクチンを指す場合がある。

#### 【0075】

本明細書で使用される「サイトカイン」は、特異抗原との接触に反応して1つの細胞によって放出される非抗体タンパク質を指し、ここで、サイトカインは第2の細胞と相互作用して、第2の細胞における反応を媒介する。サイトカインは、細胞によって内因性に発現され得るか、又は被験体に投与され得る。サイトカインは、マクロファージ、B細胞、T細胞、及び肥満細胞を含む免疫細胞によって放出されて、免疫応答を伝播し得る。サイトカインは、レシピエント細胞において様々な反応を誘導し得る。サイトカインは、ホメオスタシスサイトカイン (homeostatic cytokines)、ケモカイン、炎症誘発性サイトカ

20

イン、エフェクター及び急性期タンパク質を含み得る。例えば、インターロイキン (IL) 7及びIL-15を含むホメオスタシスサイトカインは、免疫細胞の生存及び増殖を促進し、炎症誘発性サイトカインは炎症反応を促進し得る。ホメオスタシスサイトカインの例として、限定されるものではないが、IL-2、IL-4、IL-5、IL-7、IL-10、IL-12p40、IL-12p70、IL-15及びインターフェロン (IFN) が挙げられる。炎症誘発性サイトカインの例として、限定されるものではないが、IL-1a、IL-1b、IL-6、IL-13、IL-17a、腫瘍壊死因子 (TNF) -、TNF -、線維芽細胞成長因子 (FGF) 2、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)、可溶性細胞間接着分子1 (sICAM-1)、可溶性血管接着分子1 (sVCAM-1)、血管内皮増殖因子 (VEGF)、VEGF-C、VEGF-D及び胎盤増殖因子 (PLGF) が挙げられる。エフェクターの例として、限定されるものではないが、グランザイムA、グランザイムB、可溶性 Fasリガンド (sFasL) 及びパーフォリンが挙げられる。急性期タンパク質の例として、限定されるものではないが、C反応性タンパク質 (CRP) 及び血清アミロイドA (SAA) が挙げられる。

30

40

#### 【0076】

「ケモカイン」は細胞走化性又は指向性運動を媒介するサイトカインの一種である。ケモカインの例として、限定されるものではないが、IL-8、IL-16、エオタキシン、エオタキシン-3、マクロファージ由来ケモカイン (MDC又はCCL22)、単球走化性タンパク質1 (MCP-1又はCCL2)、MCP-4、マクロファージ炎症性タンパク質1 (MIP-1、MIP-1a)、MIP-1 (MIP-1b)、ガンマ誘導性タンパク質10 (IP-10)、並びに胸腺及び活性化制御ケモカイン (TARC又はCCL17) が挙げられる。

#### 【0077】

「治療的有効量」、「有効用量」、「有効量」又は「治療的に有効な投薬量」の治療剤

50

、例えば操作されたCAR T細胞は、単独で又は別の治療剤と組み合わせて使用された場合に、疾患の発症から被験体を保護する、又は疾患症状の重症度の減少、疾患症状のない期間の頻度及び持続期間の増加、若しくは疾患の罹患に起因する機能障害若しくは身体障害の予防によって明示される疾患の退縮を促進する、任意の量である。治療剤の疾患の退縮を促進する能力は、熟練した医師に知られている様々な方法を使用して、例えば、臨床試験中のヒト被験体において、ヒトにおける効能を予測する動物モデル系において、又は*in vitro*アッセイにおいて薬剤の活性をアッセイすることによって評価され得る。

#### 【0078】

「リンパ球」の用語は、ナチュラルキラー（NK：natural killer）細胞、T細胞、又はB細胞を含む。NK細胞は、生得免疫系の主な成分を占める細胞傷害性（細胞毒性）リンパ球の一種である。NK細胞は腫瘍及びウイルスによって感染された細胞を拒絶する。NK細胞は、アポトーシス又はプログラム細胞死のプロセスによって作用する。NK細胞は、細胞を死滅させるために活性化を必要としないことから、「ナチュラルキラー」と名付けられた。T細胞は、細胞媒介免疫（抗体が関与しない）において主な役割を果たす。そのT細胞受容体（TCR）は、他の種類のリンパ球からそれら自体を分化させる。免疫系の特殊化された器官である胸腺は、主としてT細胞の成熟を担う。6種類のT細胞、すなわち、ヘルパーT細胞（例えばCD4+細胞）、細胞傷害性T細胞（TC、細胞傷害性Tリンパ球、CTL、T-キラー細胞、細胞溶解性T細胞、CD8+T細胞又はキラーT細胞としても知られる）、メモリーT細胞（（i）ナイーブ細胞のようなステムメモリーTSCM細胞は、CD45RO<sup>-</sup>、CCR7<sup>+</sup>、CD45RA<sup>+</sup>、CD62L<sup>+</sup>（L-セレクチン）、CD27<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup>及びIL-7R<sup>+</sup>であるが、それらは、大量のCD95、IL-2R、CXCR3及びLFA-1を発現し、メモリー細胞に特有の多数の機能的な属性を示す；（ii）セントラルメモリーTCM細胞は、L-セレクチン及びCCR7を発現し、IFN $\gamma$ 又はIL-4ではなくIL-2を分泌する；並びに（iii）エフェクターメモリーTEM細胞はLセレクチンもCCR7も発現しないものの、IFN $\gamma$ 及びIL-4のようなエフェクターサイトカインを産生する）、調節性T細胞（Tregs、サブレッサーT細胞又はCD4+CD25+調節性T細胞）、ナチュラルキラーT細胞（NKT）及びT細胞が存在する。一方、B細胞は、液性免疫（抗体が関与する）で最も重要な役割を果たす。B細胞は抗体及び抗原を作製し、抗原提示細胞（APC）の役割を行い、抗原の相互作用による活性化の後、メモリーB細胞となる。哺乳動物では、未成熟B細胞は、その名前が由来する骨髄で形成される。

#### 【0079】

「リンカー」（L）又は「リンカードメイン」又は「リンカー領域」は、本発明のCARのドメイン/領域のいずれかを一緒に連結する、約1アミノ酸～100アミノ酸の長さのオリゴペプチド領域又はポリペプチド領域を指す。リンカーは、グリシン及びセリン等の柔軟な残基から構成され得るため、隣接するタンパク質ドメインは相互に関連して自由に動くことができる。2つの隣接するドメインが互いに立体的に干渉しないようにすることが望ましい場合には、より長いリンカーが使用され得る。リンカーは切断可能又は切断不可能であり得る。切断可能なリンカーの例としては、2Aリンカー（例えば、T2A）  
、2A様リンカー、又はそれらの機能的同等物、及びそれらの組合せが挙げられる。幾つかの実施形態では、リンカーには、ピコルナウイルス2A様リンカー、プタテッシュウウイルス（P2A）、ウイルス（T2A）のCHYSEL配列、又はそれらの組合せ、変異体、及び機能的同等物が含まれる。他の実施形態では、リンカー配列は、Asp-V<sub>1</sub> / Ile-Glu-X-Asn-Pro-Gly<sup>(2A)</sup>-Pro<sup>(2B)</sup>モチーフ（配列番号314）を含み得て、その結果、2Aのグリシンと2Bのプロリンとの間に切断がもたらされる。他のリンカーは当業者に明らかであり、本発明の代替の実施形態に関連して使用され得る。例としては、幾つかの例で、リンカーを使用してバイシストロン性CARの2つのCAR等の異なる抗原結合系を接続又は連結することができる。リンカーは、異なる要素を互いに接続する多重要素媒介物（multi-element agent）の一部であり得る

10

20

30

40

50

。例えば、ポリペプチドは、2つ以上の機能的ドメイン又は構造的ドメインを含み、これらを互いに連結するそのようなドメイン間のアミノ酸のストレッチを含み得る。幾つかの実施形態では、リンカーエレメントを含むポリペプチドは、一般形 S 1 - L - S 2 の全体構造を有し、ここで、S 1 及び S 2 は、同一又は相違し得て、リンカーによって互いに結び付けられる2つのドメインを表す。リンカーは、本開示の C A R のドメイン/領域のいずれかを共に接続又は連結することができる。幾つかの実施形態では、ポリペプチドリンカーは、少なくとも2アミノ酸、3アミノ酸、4アミノ酸、5アミノ酸、6アミノ酸、7アミノ酸、8アミノ酸、9アミノ酸、10アミノ酸、11アミノ酸、12アミノ酸、13アミノ酸、14アミノ酸、15アミノ酸、16アミノ酸、17アミノ酸、18アミノ酸、19アミノ酸、20アミノ酸、21アミノ酸、22アミノ酸、23アミノ酸、24アミノ酸、25アミノ酸、26アミノ酸、27アミノ酸、28アミノ酸、29アミノ酸、30アミノ酸、35アミノ酸、40アミノ酸、45アミノ酸、50アミノ酸、55アミノ酸、60アミノ酸、65アミノ酸、70アミノ酸、75アミノ酸、80アミノ酸、85アミノ酸、90アミノ酸、95アミノ酸、100アミノ酸以上の長さ(例えば、1アミノ酸~10アミノ酸、1アミノ酸~20アミノ酸、1アミノ酸~30アミノ酸、1アミノ酸~40アミノ酸、1アミノ酸~50アミノ酸、1アミノ酸~60アミノ酸、1アミノ酸~70アミノ酸、1アミノ酸~80アミノ酸、1アミノ酸~90アミノ酸、1アミノ酸~100アミノ酸、10アミノ酸~20アミノ酸、10アミノ酸~30アミノ酸、10アミノ酸~40アミノ酸、10アミノ酸~50アミノ酸、10アミノ酸~60アミノ酸、10アミノ酸~70アミノ酸、10アミノ酸~80アミノ酸、10アミノ酸~90アミノ酸、又は10アミノ酸~100アミノ酸の長さ)である。幾つかの実施形態では、リンカーは、これが剛直な三次元構造物を採用せず、代わりにポリペプチドに柔軟性を与える傾向にあることを特徴とする。

#### 【0080】

「単鎖可変フラグメント」、「単鎖抗体可変フラグメント」又は「s c F v」抗体は、リンカーペプチドによって接続された重鎖及び軽鎖のみの可変領域を含む抗体の形態を指す。

#### 【0081】

「遺伝子操作された」又は「操作された」の用語は、限定されるものではないが、コーディング領域若しくは非コーディング領域、又はそれらの一部分の欠失、又はコーディング領域若しくはその一部分の挿入を含む、細胞のゲノムを改変する方法を指す。幾つかの実施形態では、改変される細胞はリンパ球、例えば、患者又はドナーのいずれかから得ることができるT細胞である。T細胞は、例えば、細胞のゲノムに組み込まれる、キメラ抗原受容体(C A R)又はT細胞受容体(T C R)等の外来コンストラクトを発現するように改変され得る。操作は、一般に人の手により扱うことを含む。例えば、ポリヌクレオチドは、天然ではその順序で一緒に連結又は接続されない2つ以上の配列が、操作されたポリヌクレオチド中で互いに直接的に連結又は接続されるように人の手によって扱われる場合に「操作された」とみなされる。分子生物学の技術により細胞を扱うという文脈では、細胞又は生物は、その遺伝情報が変更されるように扱われた場合(例えば、以前に存在しなかった新しい遺伝物質が、例えば、形質転換、体細胞ハイブリダイゼーション、トランスフェクション、形質導入、若しくは他の機序によって導入された場合、又は以前に存在した遺伝物質が、例えば、置換突然変異若しくは欠失突然変異によって、若しくは他のプロトコルによって変更若しくは除去される場合)に「操作された」とみなされる。幾つかの実施形態では、結合作用物質は、改変されたリンパ球、例えば、T細胞であり、患者又はドナーから得ることができる。操作された細胞は、例えば、細胞のゲノムに組み込まれるキメラ抗原受容体(C A R)又はT細胞受容体(T C R)等の外来コンストラクトを発現するように改変され得る。操作されたポリヌクレオチド又は結合作用物質の結果物は、実際の扱いが以前の実体に対して行われたとしても、一般に「操作された」と言及される。幾つかの実施形態では、「操作された」とは、実体が設計及び産生されたことを指す。

「設計された」という用語は、(i)その構造が人の手によって選択される若しくは選択



された作用物質、( i i ) 人の手を必要とするプロセスによって産生される作用物質、及び/又は( i i i ) 天然物質及び他の既知の作用物質とは異なる作用物質について言及される。「T細胞受容体」、すなわち「TCR」は、T細胞の表面上に存在する抗原認識分子を指す。通常のT細胞の発達の中に、4つのTCR遺伝子、及びのそれぞれは再配列して、非常に多様なTCRタンパク質をもたらす得る。

【0082】

「免疫応答」は、侵入病原体、病原体に感染した細胞若しくは組織、癌性若しくは他の異常な細胞、又は自己免疫若しくは病理学的炎症の場合、正常なヒトの細胞若しくは組織の選択的な標的化、それらへの結合、それらに対する損傷、それらの破壊、及び/又は脊椎動物の身体からのそれらの排除をもたらす、免疫系の細胞(例えばTリンパ球、Bリンパ球、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好酸球、肥満細胞、樹状細胞、及び好中球)及びこれらの細胞のいずれか又は肝臓によって産生される可溶性高分子(Ab、サイトカイン、及び補体を含む)の作用を指す。

10

【0083】

「免疫療法」の用語は、免疫応答を誘導する、増強する、抑制する、或いは改変することを含む方法による、疾患に冒された、又は疾患にかかる若しくは疾患の再発を患うリスクがある被験体の治療を指す。免疫療法の例として、限定されるものではないが、T細胞療法が挙げられる。T細胞療法は、養子T細胞療法(adoptive T cell therapy)、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)免疫療法、自己細胞治療、操作された自己細胞療法(eACT(商標))、及び同種異系T細胞移植を含み得る。しかしながら、当業者は、本明細書に開示されるコンディショニング法(conditioning methods)が任意の移植T細胞療法の有効性を増強し得ることを認識するであろう。T細胞療法の例は、米国特許出願公開第2014/0154228号及び同第2002/0006409号、米国特許第5,728,388号及び国際公開第2008/081035号に記載される。

20

【0084】

免疫療法のT細胞は、当該技術分野において知られている任意の供給源に由来し得る。例えば、T細胞は、造血幹細胞集団から*in vitro*で分化されてもよく、又はT細胞は被験体から得られてもよい。T細胞を、例えば末梢血単核細胞(PBMC)、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位に由来する組織、腹水、胸水、脾臓組織及び腫瘍から得ることができる。さらに、T細胞は、当該技術分野において利用可能な1以上のT細胞株に由来してもよい。また、T細胞は、FICOLL(商標)分離及び/又はアフエーシス(apheresis)等の当業者に知られている任意の多くの技術を使用して被験体から収集された血液単位から得ることもできる。T細胞療法用のT細胞を単離する更なる方法は、米国特許出願公開第2013/0287748号に開示され、その全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

30

【0085】

「eACT(商標)」と略記することができ、養子細胞移植としても知られる「操作された自己細胞療法」の用語は、患者自身のT細胞を収集し、その後、1以上の特定の腫瘍細胞又は悪性腫瘍の細胞表面上に発現される1以上の抗原を認識し、標的とするように遺伝的に変更するプロセスである。T細胞は、例えば、キメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)を発現するように操作され得る。CAR陽性(+)T細胞は、少なくとも1つの共刺激ドメイン及び少なくとも1つの活性化ドメインを含む細胞内シグナル伝達部に連結された特定の腫瘍抗原に対する特異性を有する細胞外単鎖可変フラグメント(scFv)を発現するように操作される。共刺激ドメインは、例えば配列番号232のアミノ酸配列を有する天然起源の共刺激ドメイン、又はその変異体、例えば短縮ヒンジドメイン(「THD」)を有する変異体に由来し得て、活性化ドメインは、例えばCD3-ゼータに由来し得る。或る特定の実施形態では、CARは2個、3個、4個又はそれ以上の共刺激ドメインを有するように設計される。CAR-scFvは、例えば、全ての正常なB細胞、並びに限定されるものではないがNHL、CLL、及び非T細胞ALLを含むB細胞悪性腫瘍を含む、B細胞系統の細胞によって発現される膜貫通タンパク質であるC

40

50

D19を標的とするように設計され得る。幾つかの実施形態では、CARは、共刺激ドメインが別々のポリペプチド鎖として発現されるように操作される。CAR T細胞療法及びコンストラクトの例は、米国特許出願公開第2013/0287748号、同第2014/0227237号、同第2014/0099309号、及び同第2014/0050708号に記載され、これらの引用文献はそれらの全体が引用することにより本明細書の一部をなす。「養子細胞療法」、すなわち「ACT」は、抗腫瘍活性を有する免疫細胞を被験体、例えば癌患者に移入することを含む。幾つかの実施形態では、ACTは、抗腫瘍活性を有するリンパ球（例えば、操作されたリンパ球）の使用を含む治療アプローチである。

【0086】

10

「患者」は、癌（例えばリンパ腫又は白血病）に冒された任意のヒトを含む。「被験体」及び「患者」の用語は、本明細書では区別なく使用される。

【0087】

「in vitro」という用語は、多細胞生物内ではなく、人工的環境内、例えば、試験管、反応容器、細胞培養等において行われる事象を指す。「in vitro細胞」という用語は、ex vivoで培養されるあらゆる細胞を指す。特に、in vitro細胞はT細胞を含み得る。「in vivo」という用語は、ヒト又は非ヒト動物等の多細胞生物内で行われる事象を指す。

【0088】

「抗原特異的標的領域」(ASTR)は、特定の抗原を標的とするCARの領域を指す。本発明のCARは、少なくとも2つの異なる抗原を標的とする少なくとも2つの標的化領域を含む。一実施形態では、CARは、少なくとも3つ以上の異なる抗原を標的とする3つ以上の標的化領域を含む。CAR上の標的化領域は細胞外にある。幾つかの実施形態では、抗原特異的標的化領域は、抗体又はその機能的同等物又はそのフラグメント又はその誘導体を含み、標的化領域のそれぞれは異なる抗原を標的とする。標的化領域は、全長重鎖、Fabフラグメント、単鎖Fv(scFv)フラグメント、二価単鎖抗体又はダイアボディを含み得て、これらはそれぞれ標的抗原に対して特異的である。しかしながら、連結されたサイトカイン（サイトカイン受容体を有する細胞の認識につながる）、アフィボディ、天然に存在する受容体由来のリガンド結合ドメイン、（例えば、腫瘍細胞上の）受容体に対する可溶性タンパク質/ペプチドリガンド、ペプチド、及び免疫応答を促すワクチン等の多くの選択肢があり、これらはそれぞれ本発明の様々な実施形態で使用され得る。実際、当業者によって理解されるように、所与の抗原に高い親和性で結合するほとんどあらゆる分子を、抗原特異的標的化領域として使用することができる。

20

30

【0089】

「抗原提示細胞」、すなわち「APC」は、抗原をプロセッシングしてT細胞に提示する細胞を指す。例示的なAPCには、樹状細胞、マクロファージ、B細胞、或る特定の活性化上皮細胞、並びにTCR刺激及び適切なT細胞共刺激が可能な他の細胞型が含まれる。

【0090】

「ペプチド」、「ポリペプチド」及び「タンパク質」の用語は区別なく使用され、ペプチド結合によって共有結合的に連結されたアミノ酸残基で構成される化合物を指す。タンパク質又はペプチドは、少なくとも2個のアミノ酸を含み、タンパク質又はペプチドの配列を含み得るアミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドは、ペプチド結合によって互いにつながれた2個以上のアミノ酸を含む任意のペプチド又はタンパク質を含む。本明細書で使用されるように、上記用語はまた、当該技術分野において、例えばペプチド、オリゴペプチド及びオリゴマーと一般的に称される短い鎖と、当該技術分野において一般的にはタンパク質と称され、多くの種類が存在する、より長い鎖の両方を指す。「ポリペプチド」として、例えば、特に、生物学的に活性な断片、実質的に相同性のポリペプチド、オリゴペプチド、ホモダイマー、ヘテロダイマー、ポリペプチドの変異体、改変ポリペプチド、誘導体、類縁体、融合タンパク質が挙げられる。ポリペプチドは、天然ペプチド、組換えペプチド、合成ペプチド、又はそれらの組合せを含む。

40

50

【0091】

本明細書で使用される「刺激」は、その同族のリガンドと刺激分子を結合することによって誘導される一次応答を指し、ここで、その結合はシグナル伝達事象を媒介する。「刺激分子」は、T細胞上の分子、例えば、抗原提示細胞上に存在する同族の刺激リガンドと特異的に結合するT細胞受容体(TCR)/CD3複合体を指す。「刺激リガンド」は、抗原提示細胞(例えば、APC、樹状細胞、B細胞等)上に存在する場合、T細胞上の刺激分子と特異的に結合することができ、それによって、限定されるものではないがT細胞の活性化、免疫応答の開始、増殖等を含むT細胞による一次応答を媒介するリガンドである。刺激リガンドとして、限定されるものではないが、抗CD3抗体(OKT3等)、ペプチドで充填されたMHCクラスI分子、スーパーアゴニスト抗CD2抗体、及びスーパーアゴニスト抗CD28抗体が挙げられる。

10

【0092】

本明細書で使用される「共刺激シグナル」は、TCR/CD3ライゲーション等の一次シグナルと組み合わせて、限定されるものではないがT細胞の増殖及び/又は主要な分子の上方制御若しくは下方制御等のT細胞の応答をもたらすシグナルを指す。

【0093】

本明細書で使用される「共刺激リガンド」は、T細胞上の同族の共同刺激分子を特異的に結合する抗原提示細胞上の分子を含む。共刺激リガンドの結合は、限定されるものではないが、T細胞の増殖、活性化、分化等を含むT細胞応答を媒介するシグナルを提供する。共刺激リガンドは、一次シグナルに加えて、刺激分子によって、例えば、ペプチドがロードされた主要組織適合複合体(MHC)分子とのT細胞受容体(TCR)/CD3複合体の結合によって提供されるシグナルを誘導する。共刺激リガンドとして、限定されるものではないが、3/TR6、4-1BBリガンド、Tollリガンド受容体に結合するアゴニスト又は抗体、B7-1(CD80)、B7-2(CD86)、CD30リガンド、CD40、CD7、CD70、CD83、ヘルペスウイルスエントリーメディエーター(HVEM: herpes virus entry mediator)、ヒト白血球抗原G(HLA-G)、ILT

20

4、免疫グロブリン様転写物(ILT: immunoglobulin-like transcript)3、誘導性共刺激リガンド(ICOS-L)、細胞間接着分子(ICAM)、B7-H3と特異的に結合するリガンド、リンフォトキシン受容体、MHCクラスI鎖関連タンパク質A(MICA)、MHCクラスI鎖関連タンパク質B(MICB)、OX40リガンド、PD-L2、又はプログラム細胞死(PD)L1が挙げられ得る。共刺激リガンドとして、限定されず、4-1BB、B7-H3、CD2、CD27、CD28、CD30、CD40、CD7、ICOS、CD83と特異的に結合するリガンド、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、ナチュラルキラー細胞受容体C(NKG2C)、OX40、PD-1、又は腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー14(TNFSF14又はLIGHT)等のT細胞上に存在する共刺激分子と特異的に結合する抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0094】

「共刺激分子」は、共刺激リガンドと特異的に結合することにより、限定されるものではないが増殖等のT細胞による共刺激応答を媒介する、T細胞上の同族の結合パートナーである。共刺激分子として、限定されるものではないが、「共刺激分子」は、共刺激リガンドと特異的に結合することにより、限定されるものではないが増殖等のT細胞による共刺激応答を媒介する、T細胞上の同族の結合パートナーである。共刺激分子として、限定されるものではないが、4-1BB/CD137、B7-H3、BAFFR、BLAME(SLAMF8)、BTLA、CD33、CD45、CD100(SEMA4D)、CD103、CD134、CD137、CD154、CD16、CD160(BY55)、CD18、CD19、CD19a、CD2、CD22、CD247、CD27、CD276(B7-H3)、CD28、CD29、CD3( ; ; ; ; ;ゼータ)、CD30、CD37、CD4、CD4、CD40、CD49a、CD49D、CD49f、CD

40

50

5、CD64、CD69、CD7、CD80、CD83リガンド、CD84、CD86、CD8、CD8、CD9、CD96 (Tactile)、CD11a、CD11b、CD11c、CD11d、CDS、CEACAM1、CRTAM、DAP-10、DNAM1 (CD226)、Fc受容体、GADS、GITR、HVEM (LIGHTR)、IA4、ICAM-1、ICAM-1、ICOS、Ig (CD79a)、IL2R、IL2R、IL7R、インテグリン、ITGA4、ITGA4、ITGA6、ITGAD、ITGAE、ITGAL、ITGAM、ITGAX、ITGB2、ITGB7、ITGB1、KIRDS2、LAT、LFA-1、LFA-1、LIGHT、LIGHT (腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー14; TNFSF14)、LTBR、Ly9 (CD229)、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1 (CD11a/CD18))、MHCクラスI分子、NKG2C、NKG2D、Nkp30、Nkp44、Nkp46、Nkp80 (KLRF1)、OX40、PAG/Cbp、PD-1、PSGL1、SELP (CD162)、シグナル伝達リンパ球活性化分子、SLAM (SLAMF1; CD150; IPO-3)、SLAMF4 (CD244; 2B4)、SLAMF6 (NTB-A; Ly108)、SLAMF7、SLP-76、TNF、TNFr、TNFR2、Tollリガンド受容体、TRANCE/RANKL、VLA1若しくはVLA-6、又はそれらの断片、短縮物 (truncations)、若しくは組合せが挙げられる。

10

## 【0095】

「減少する、減少させる (reducing)」及び「減じる (decreasing)」の用語は、本明細書において区別なく使用され、本来よりも少ない、あらゆる変化を示す。「減少する、減少させる」及び「減じる」は測定前と測定後の比較を必要とする、相対的な用語である。「減少する、減少させる」及び「減じる」は完全な欠乏を含む。

20

## 【0096】

「改善する」、「増加させる」、「抑制する」、及び「減少させる」という用語は、ベースライン又は他の参照測定値に対する値を示す。幾つかの実施形態では、適切な参照測定値は、作用物質若しくは治療の存在を欠く (例えば、これらの前及び/又は後である) が他の点では同等の条件下での、又は適切な同等の参照作用物質の存在下での或る特定の系 (例えば、単一の個体) における測定値を含み得る。幾つかの実施形態では、適切な参照測定値は、関連する作用物質又は治療の存在下で同等に応答することが知られている又はそれが予想される同等の系における測定値を含み得る。

30

## 【0097】

被験体の「治療 (Treatment)」又は被験体を「治療する、治療すること (treating)

」は、症状、合併症若しくは状態の発症、進行、発現、重症度若しくは再発、又は疾患と関連する生化学的指標の転換、緩和、改善、阻害、遅延又は予防の目的で、被験体に対して行われる任意の種類 of 処置若しくはプロセス、又は被験体に対する有効成分の投与を指す。一実施形態では、「治療」又は「治療する、治療すること」は部分寛解を含む。別の実施形態では、「治療」又は「治療する、治療すること」は完全寛解を含む。幾つかの実施形態では、治療は、関連する疾患、障害及び/又は状態の兆候を示さない被験体、及び/又は疾患、障害、及び/又は状態の初期の兆候のみを示す被験体の治療であり得る。幾つかの実施形態では、そのような治療は、関連する疾患、障害、及び/又は状態の1つ以上の確立された兆候を示す被験体の治療であり得る。幾つかの実施形態では、治療は、関連する疾患、障害、及び/又は状態を患っていると診断された被験体の治療であり得る。幾つかの実施形態では、治療は、関連する疾患、障害、及び/又は状態の発症のリスク増加と統計的に相関する1つ以上の感受性因子を有することが知られる被験体の治療であり得る。

40

## 【0098】

「作用物質」という用語は、例えば、ポリペプチド、核酸、糖類、脂質、小分子、金属、細胞、若しくは生物 (例えば、その画分又は抽出物) 若しくはその成分を含むあらゆる部類の分子若しくは実体、又はいずれかが、例えば、ポリペプチド、核酸、糖類、脂質、

50

小分子、金属、細胞、若しくは生物（例えば、その画分又は抽出物）若しくはそれらの成分である複数の分子若しくは実体を指すことができる。幾つかの実施形態では、作用物質は、単離形又は純粋形で利用され得る。幾つかの実施形態では、作用物質は、粗製形又は不純形で利用され得る。幾つかの実施形態では、作用物質は、例えば、スクリーニングして、中に存在する成員を特定する又は特徴付けることができる集団、コレクション、又はライブラリーとして提供され得る。

【0099】

2つの事象又は実体は、一方の存在、レベル及び/又は形態が他方の存在、レベル及び/又は形態と関連している場合に、互いに「関連」している。例えば、実体（例えば、ポリペプチド、遺伝子シグネチャー、代謝産物、微生物等）は、その存在、レベル及び/又は形態が疾患、障害若しくは状態の発生率、及び/又は疾患、障害若しくは状態に対する感受性と（例えば、関連する集団全体にわたって）関連している場合に、疾患、障害又は状態と関連しているとみなされる。例えば、2つ以上の実体は、これらが直接的に又は間接的に相互作用すると、互いに物理的に「結び付けられる」ため、これらは、互いに物理的に近接する及び/又は互いに物理的に近接して留まる（例えば、結合する）。追加の例では、互いに物理的に結び付けられている2つ以上の実体は、例えば、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性相互作用、磁力、及びそれらの組合せによって、互いに共有結合的に連結若しくは接続されるか、又は非共有結合的に結び付けられる。

10

【0100】

「同一性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、核酸分子（例えば、DNA分子及び/又はRNA分子）間、及び/又はポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。示される2つのポリペプチド配列間のパーセント同一性を計算する方法は知られている。2つの核酸配列又はポリペプチド配列のパーセント同一性の計算は、例えば、最適な比較を目的として2つの配列をアライメントすることによって実施され得る（例えば、最適なアライメントを目的として第1の配列及び第2の配列の一方又は両方にギャップを導入することができ、比較を目的として非同一致配列を無視することができる）。次に、対応する位置のヌクレオチド又はアミノ酸を比較する。第1の配列中の位置を第2の配列中の対応する位置と同じ残基（例えば、ヌクレオチド又はアミノ酸）が占めている場合に、これらの分子はその位置で同一である。2つの配列間のパーセント同一性は、配列が共有する同一の位置の数の関数であり、任意にギャップの数及び各ギャップの長さが考慮され、これらは2つの配列の最適なアライメントのために導入することが必要とされる場合がある。配列の比較又はアライメント、及び2つの配列間のパーセント同一性の決定は、BLAST（基本的なローカルアライメント検索ツール）等の数学的アルゴリズムを使用して行われ得る。幾つかの実施形態では、ポリマー分子は、それらの配列が少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、又は99%（例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%）同一である場合に、互いに「相同」とであるとみなされる。

20

30

【0101】

パーセント同一性を計算するため、典型的には、配列間の最も大きな一致を与える方法で比較される配列を整列させる。パーセント同一性を特定するために使用され得るコンピュータプログラムの一例は、GAP（Devereux et al., 1984, Nucl. Acid Res. 12:387、ウィスコンシン州マディソンのウィスコンシン大学、Genetics Computer Group）を含むGCGプログラムパッケージである。コンピュータアルゴリズムであるGAPを使用して、パーセント配列同一性が特定される2つのポリペプチド又はポリヌクレオチドを整列させる。配列を、それらの各アミノ酸又はヌクレオチドの最適なマッチング（アルゴリズムによって特定される、「一致スパン（matched span）」）について整列させる。また或る特定の実施形態では、上記アルゴリズムによって、標準的な比較マトリクス（Dayhoff et al., 1978, Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352 for the PAM 250 comparison matrix、Henikoff et al., 1992, P

40

50

roc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89:10915-10919 for the BLOSUM 62 comparison matrixを参照されたい)が使用される。アミノ酸配列又は核酸配列の比較のために、ヌクレオチド配列用のBLASTN、並びにアミノ酸配列用のBLASTP、ギャップBLAST、及びPSI-BLAST等の市販のコンピュータプログラムで利用可能なアルゴリズムを含む他のアルゴリズムも利用可能である。例示的なそのようなプログラムは、Altschul, et al., Basic local alignment search tool, J. Mol. Biol., 215 (3): 403-410, 1990、Altschul, et al., Methods in Enzymology、Altschul, et al., "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs," Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997、Baxevanis, et al., Bioinformatics : A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998、及びMisener, et al., (eds.), Bioinformatics Methods and Protocols

(Methods in Molecular Biology, Vol. 132), Humana Press, 1999に記載されている。

類似の配列を特定することに加えて、上述のプログラムは一般に類似性の程度の指標を与える。幾つかの実施形態では、2つの配列は、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、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%以上(例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%)のそれらの対応する残基が、残基の関連するストレッチにわたって類似及び/又は同一である場合に、実質的に類似しているとみなされる。幾つかの実施形態では、関連するストレッチは完全な配列である。幾つかの実施形態では、関連するストレッチは、少なくとも10個、少なくとも15個、少なくとも20個、少なくとも25個、少なくとも30個、少なくとも35個、少なくとも40個、少なくとも45個、少なくとも50個、少なくとも55個、少なくとも60個、少なくとも65個、少なくとも70個、少なくとも75個、少なくとも80個、少なくとも85個、少なくとも90個、少なくとも95個、少なくとも100個、少なくとも125個、少なくとも150個、少なくとも175個、少なくとも200個、少なくとも225個、少なくとも250個、少なくとも275個、少なくとも300個、少なくとも325個、少なくとも350個、少なくとも375個、少なくとも400個、少なくとも425個、少なくとも450個、少なくとも475個、少なくとも500個以上の残基である。かなりの配列類似性を有する配列は互いに相同であり得る。

#### 【0102】

「併用療法」は、被験体が2つ以上の治療レジメン(例えば、2つ以上の治療部分)を同時に受ける状況を指す。幾つかの実施形態では、2つ以上のレジメンが同時に施され得る。幾つかの実施形態では、そのようなレジメンは、逐次に施され得る(例えば、第1のレジメンの全ての「用量」は、第2のレジメンのあらゆる用量の投与の前に施される)。幾つかの実施形態では、そのような作用物質は、重複する投与レジメンで投与される。幾つかの実施形態では、併用療法薬の「投与」は、1つ以上の作用物質又はモダリティを、他の作用物質(複数の場合もある)又はモダリティ(複数の場合もある)が与えられる被験体に組み合わせて投与することを含み得る。明確にするために、併用療法は、個々の作用物質が単一の組成物と一緒に(又は更に必然的に同時に)投与されることを必要としないが、幾つかの実施形態では、2つ以上の作用物質又はその活性部分は、併用組成物で又は更に併用化合物で(例えば、単一の化学的複合体又は共有結合実体の部分として)一緒に投与され得る。

#### 【0103】

「~に対応する」は、適切な参照分子又は参照組成物との比較により分子又は組成物の構造要素の位置/同一性を指定するのに使用され得る。例えば、幾つかの実施形態では

、ポリマー中のモノマー残基（例えば、ポリペプチド中のアミノ酸残基又はポリヌクレオチド中の核酸残基）は、適切な参照ポリマー中の残基に「対応する」として特定され得る。例えば、単純にするために、ポリペプチド中の残基は、参照関連ポリペプチドに基づく規範的なナンバリングシステムを使用して指定され得るため、例えば、位置100の残基に「対応する」アミノ酸は、参照ポリペプチド中の位置100にある残基に対応する限り、実際にアミノ酸鎖中の100番目のアミノ酸である必要はない。例えば、本開示によりポリペプチド及び/又は核酸中の「対応する」残基を特定するために利用され得る、例えばBLAST、CS-BLAST、CUDASW++、DIAMOND、FASTA、GSEARCH/GLSEARCH、Genoog1e、HMMER、HHPred/HHsearch、IDF、Infernal、KLAST、USEARCH、parasail、PSI-BLAST、PSI-Search、ScalabLAST、Sequillab、SAM、SSEARCH、SWAPHI、SWAPHI-LS、SWIMM、又はSWIPE等のソフトウェアプログラムを含む様々な配列アライメント方略を利用することができる。

10

#### 【0104】

「ドメイン」という用語は、実体の一部を指す。幾つかの実施形態では、「ドメイン」は、実体の構造的特徴及び/又は機能的特徴に関連しているため、例えば、ドメインがその親実体の残りの部分から物理的に分離される場合に、これが実質的に又は完全に構造的特徴及び/又は機能的特徴を保持する。幾つかの実施形態では、ドメインは、その（親）実体から分離されて異なる（受容）実体に連結又は接続される場合に、1つ以上の構造的特徴及び/又は機能的特徴を受容実体で実質的に保持する及び/又は受容実体に付与する、例えばこれを親実体において特徴付ける実体の一部を含み得る。幾つかの実施形態では、ドメインは、分子（例えば、小分子、炭水化物、脂質、核酸、又はポリペプチド）の一部である。幾つかの実施形態では、ドメインはポリペプチドの一区画である。幾つかのそのような実施形態では、ドメインは、構造要素（例えば、アミノ酸配列又は配列モチーフ、 $\alpha$ -ヘリックス特性、 $\beta$ -シート特性、コイルドコイル特性、ランダムコイル特性等）及び/又は機能的特徴（例えば、結合活性、酵素活性、フォールディング活性、シグナル伝達活性等）によって特徴付けられる。

20

#### 【0105】

「剤形」という用語は、被験体に投与するための活性作用物質（例えば、抗原結合系又は抗体）の物理的に個別の単位を指すのに使用され得る。一般に、そのような単位はそれぞれ予め決められた量の活性作用物質を含有する。幾つかの実施形態では、そのような量は、関連する集団に投与されたときに所望の転帰又は有益な転帰と相関することが認められた投与レジメンに従う投与に適切な単位投与量（又はその全部分）である。被験体に投与される治療組成物又は治療作用物質の総量は1人以上の医師によって決定され、2つ以上の剤形の投与を伴い得る。

30

#### 【0106】

「投与レジメン」という用語は、被験体に個別に投与される一連の1つ以上の単位用量を指すのに使用され得る。幾つかの実施形態では、所与の治療作用物質は、1つ以上の投与を含み得る推奨される投与レジメンを有する。幾つかの実施形態では、投与レジメンは他の投与から時間的に分離される複数の投与を含む。幾つかの実施形態では、投与レジメンは複数の投与を含み、連続する投与は等しい長さの期間によって互いに分離される。幾つかの実施形態では、投与レジメンは複数の投与を含み、連続する投与は少なくとも2つの異なる長さの期間によって互いに分離される。幾つかの実施形態では、投与レジメン内の全ての投与は同じ単位投与量の投与である。幾つかの実施形態では、投与レジメン内の異なる投与は異なる量の投与である。幾つかの実施形態では、投与レジメンは、第1の投与量での第1の投与に続いて、第1の投与量とは異なる第2の投与量での1つ以上の追加の投与を含む。幾つかの実施形態では、投与レジメンは、所望の転帰又は有益な転帰を達成するために定期的に調整される。

40

#### 【0107】

50

「エフェクター機能」は、抗体のFc領域とFc受容体又はリガンドとの相互作用の生物学的結果を指す。エフェクター機能には、限定されるものではないが、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)、抗体依存性細胞媒介性細胞貪食(ADCP)、及び補体媒介性細胞傷害(CMC)が含まれる。エフェクター機能は、抗原結合依存性、抗原結合非依存性、又はその両方であり得る。ADCCは、免疫エフェクター細胞による抗体が結合した標的細胞の溶解を指す。いかなる理論にも拘束されることを望むものではないが、ADCCは一般に、抗体で覆われた標的細胞(例えば、抗体が結合される抗原を表面に発現する細胞)を認識した後にこれを殺傷するFc受容体(FcR)保有エフェクター細胞を含むと理解される。ADCCを媒介するエフェクター細胞は、限定されるものではないが、ナチュラルキラー(NK)細胞、マクロファージ、好中球、好酸球のうちの一つ以上を含む免疫細胞を含み得る。

10

## 【0108】

「エフェクター細胞」は、一つ以上のFc受容体を発現し、かつ一つ以上のエフェクター機能を媒介する免疫系の細胞を指す。幾つかの実施形態では、エフェクター細胞は、限定されるものではないが、単球、マクロファージ、好中球、樹状細胞、好酸球、肥満細胞、血小板、大顆粒リンパ球、ランゲルハンス細胞、ナチュラルキラー(NK)細胞、Tリンパ球、及びBリンパ球のうちの一つ以上を含み得る。エフェクター細胞は、限定されるものではないが、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、及びサルを含むあらゆる生物のエフェクター細胞であり得る。

## 【0109】

「賦形剤」という用語は、例えば、所望の粘稠度又は安定化効果を与える又はそれらに寄与するために組成物に含まれ得る作用物質を指す。幾つかの実施形態では、適切な賦形剤は、例えば、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、チョコク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノール等を含み得る。

20

## 【0110】

本明細書に記載される材料又は実体の「断片」又は「部分」は、例えば物理的実体又は抽象的実体の全体の個別の部分を含む構造を有する。幾つかの実施形態では、断片は、全体に見られる一つ以上の部分を欠いている。幾つかの実施形態では、断片は、全体に見られる特徴的な構造要素、ドメイン又は部分からなる又はそれらを含む。幾つかの実施形態では、ポリマー断片は、全体のポリマー中に見られるモノマー単位(例えば、残基)の少なくとも3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、25個、30個、35個、40個、45個、50個、55個、60個、65個、70個、75個、80個、85個、90個、95個、100個、110個、120個、130個、140個、150個、160個、170個、180個、190個、200個、210個、220個、230個、240個、250個、275個、300個、325個、350個、375個、400個、425個、450個、475個、500個以上を含む又はそれらからなる。幾つかの実施形態では、ポリマー断片は、全体のポリマー中に見られるモノマー単位(例えば、残基)の少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、25%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%以上(例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%)を含む又はそれらからなる。幾つかの実施形態では、材料全体又は実体全体は、断片の「親」と呼称され得る。

30

40

## 【0111】

「融合ポリペプチド」又は「融合タンパク質」という用語は一般に、少なくとも2つのセグメントを含むポリペプチドを指す。一般に、少なくとも2つのそのようなセグメントを含むポリペプチドは、2つのセグメントが(1)同じペプチド中に天然には含まれてお

50



らず、及び/又は(2)以前に単一のポリペプチドにおいて互いに連結若しくは接続されておらず、及び/又は(3)人の手の動作によって互いに連結若しくは接続されている部分である場合に、融合ポリペプチドであるとみなされる。

【0112】

「遺伝子産物」又は「発現産物」という用語は一般に、遺伝子から転写されたRNA(プロセシング前及び/又はプロセシング後)、又は遺伝子から転写されたRNAによってコードされるポリペプチド(修飾前及び/又は修飾後)を指す。

【0113】

「単離された」という用語は、或る物質が(1)以前は共に結び付けられていた若しくはそうでなければ共に結び付けられることとなる少なくとも幾つかの成分から分離されたこと、及び/又は或る物質が(2)限られた若しくは規定された量若しくは濃度の1つ以上の既知又は未知の夾雑物を含む組成物中に存在することを指す。幾つかの実施形態では、単離された物質は、以前は該物質が共に結び付けられていた該物質とは異なる(non-substance)他の成分、例えば以前は該物質が共に結び付けられていた又はそうでなければ

該物質が共に結び付けられることとなる他の成分又は夾雑物の約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超(例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%)から分離され得る。或る特定の場合には、物質は、これが限られた又は低減された量又は濃度の同じ種類又は類似の種類の子を含む組成物中に存在する場合に単離されている。例えば、或る特定の場合には、核酸、DNA、又はRNAの物質は、これが限られた又は低減された量又は濃度の該物質とは異なる核酸、DNA、又はRNA分子を含む組成物中に存在する場合に単離されている。例えば、或る特定の場合には、ポリペプチドの物質は、これが限られた又は低減された量又は濃度の該物質とは異なるポリペプチド分子を含む組成物中に存在する場合に単離されている。或る特定の実施形態では、量は、例えば、組成物中に存在する所望の物質の量に対して測定された量であり得る。或る特定の実施形態では、限られた量は、組成物中の物質量の100%以下、例えば、組成物中の物質量の1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、又は95%以下(例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%)である量であり得る。或る特定の場合には、組成物は、選択された物質に関して純粋又は実質的に純粋である。幾つかの実施形態では、単離された物質は、約80%、約85%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、又は約99%超(例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%)の純度である。物質が他の成分又は夾雑物を実質的に含まない場合に、物質は「純粋」である。幾つかの実施形態では、物質は、例えば1つ以上の担体又は賦形剤(例えば、緩衝剤、溶媒、水等)等の或る特定の他の成分と組み合わせられた後でも「単離されている」又は更には「純粋である」とみなされ得る。そのような実施形態では、物質のパーセント単離又は純度は、そのような担体又は賦形剤を含めずに計算される。

【0114】

「核酸」は、ヌクレオチドのあらゆるポリマー鎖を指す。核酸は、DNA、RNA、又はそれらの組合せであり得る。幾つかの実施形態では、核酸は1つ以上の天然の核酸残基を含む。幾つかの実施形態では、核酸は1つ以上の核酸類似体から構成される。幾つかの実施形態では、核酸は、天然源からの単離、相補的鋳型に基づく重合による酵素的合成(in vivo又はin vitro)、組換え細胞又は組換え系における再生、及び化学合成のうちの一つ以上によって調製される。幾つかの実施形態では、核酸は、少なくとも3残基長、4残基長、5残基長、6残基長、7残基長、8残基長、9残基長、10残基長、15残基長、20残基長、25残基長、30残基長、35残基長、40残基長、45

10

20

30

40

50

残基長、50残基長、55残基長、60残基長、65残基長、70残基長、75残基長、80残基長、85残基長、90残基長、95残基長、100残基長、110残基長、120残基長、130残基長、140残基長、150残基長、160残基長、170残基長、180残基長、190残基長、20残基長、225残基長、250残基長、275残基長、300残基長、325残基長、350残基長、375残基長、400残基長、425残基長、450残基長、475残基長、500残基長、600残基長、700残基長、800残基長、900残基長、1000残基長、1500残基長、2000残基長、2500残基長、3000残基長、3500残基長、4000残基長、4500残基長、5000残基長以上（例えば、20残基長～100残基長、20残基長～500残基長、20残基長～1000残基長、20残基長～2000残基長、又は20残基長～5000残基長以上）である。幾つかの実施形態では、核酸は部分的又は全体的に一本鎖である。幾つかの実施形態では、核酸は部分的又は全体的に二本鎖である。幾つかの実施形態では、核酸は、ポリペプチドをコードする少なくとも1つの要素、又はポリペプチドをコードする配列の相補鎖である少なくとも1つの要素を含むヌクレオチド配列を有する。

10

#### 【0115】

「作動可能に連結された」とは、記載された構成要素がそれらの意図された様式で機能することが可能な関係で存在する並置を指す。例えば、機能的エレメントに「作動可能に連結された」制御エレメントは、機能的エレメントの発現及び/又は活性が、制御エレメントと適合可能な条件下で達成されるように結び付けられている。

#### 【0116】

20

「薬学的に許容可能な」という用語は、或る分子又は組成物が、レシピエントに投与された場合にそのレシピエントに対して有害ではないこと、又はそのレシピエントに対する利益があらゆる有害な作用を上回ることを指す。本明細書に開示される組成物を製剤化するのに使用される担体、希釈剤、又は賦形剤に関して、薬学的に許容可能な担体、希釈剤、又は賦形剤は、組成物の他の成分と相容性でなければならず、そのレシピエントに対して有害であってはならず、又はそのレシピエントに対する利益があらゆる有害な作用を上回っていないなければならない。「薬学的に許容可能な担体」という用語は、作用物質を身体の一部から別の部分に（例えば或る器官から別の器官に）運ぶ又は輸送することに関与する、薬学的に許容可能な材料、組成物、又はビヒクル、例えば、液体若しくは固体の増量剤、希釈剤、賦形剤、又は溶媒封入材料を意味する。医薬組成物中に存在するそれぞれの担体は、製剤の他の成分と相容性であり、患者に対して有害でないという意味で「許容可能」でなければならず、又はそのレシピエントに対する利益はあらゆる有害な作用を上回っていないなければならない。薬学的に許容可能な担体として作用し得る材料の幾つかの例としては、糖類、例えば、ラクトース、グルコース及びスクロース、デンプン、例えば、トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプン、セルロース及びその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース及び酢酸セルロース、粉末状トラガカント、麦芽、ゼラチン、タルク、賦形剤、例えば、カカオバター及び坐剤ワックス、油類、例えば、落花生油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及び大豆油、グリコール、例えば、プロピレングリコール、ポリオール、例えば、グリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコール、エステル、例えば、オレイン酸エチル及びラウリン酸エチル、寒天、緩衝剤、例えば、水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム、アルギン酸、パイロジェンフリー水、等張食塩水、リンガー溶液、エチルアルコール、pH緩衝液、ポリエステル、ポリカーボネート及び/又はポリ無水物、並びに医薬製剤に使用される他の非毒性の相容性物質が挙げられる。

30

40

#### 【0117】

「医薬組成物」という用語は、活性作用物質が1つ以上の薬学的に許容可能な担体と一緒に製剤化されている組成物を指す。幾つかの実施形態では、活性作用物質は、関連する被験体又は集団に投与された場合に予め決められた治療効果を達成する統計的に有意な確率を示す治療レジメンでの投与に適切な単位投与量で存在する。幾つかの実施形態では、医薬組成物は、限定されるものではないが、以下の、経口投与、例えば、飲薬（水性又は

50

非水性の溶液又は懸濁液)、錠剤、例えば、頬側吸収、舌下吸収、及び全身吸収を目的とする錠剤、ボラス剤、粉剤、顆粒剤、舌に適用するペースト剤、非経口投与、例えば、皮下注射、筋肉内注射、静脈内注射、又は硬膜外注射による、例えば、無菌溶液若しくは無菌懸濁液、又は持続放出製剤としての非経口投与、局所適用、例えば、皮膚、肺、又は口腔に適用されるクリーム剤、軟膏剤、又は制御放出性パッチ剤若しくはスプレー剤としての局所適用、腔内投与又は直腸内投与、例えば、ペッサリー剤、クリーム剤、又はフォーム剤としての投与、舌下投与、眼内投与、経皮投与、又は経鼻投与、肺内投与、及び他の粘膜表面への投与のために適合された形を含む固体形又は液体形での投与用に製剤化され得る。

#### 【0118】

10

「参照」という用語は、比較が行われる基準又はコントロールを説明している。例えば、幾つかの実施形態では、対象となる作用物質、動物、個体、集団、試料、配列、又は値が、作用物質、動物、個体、集団、試料、配列、又は値である参照又はコントロールと比較される。幾つかの実施形態では、参照又はコントロールは、対象となる試験、測定、又は決定と実質的に同時に試験、測定、及び/又は決定される。幾つかの実施形態では、参照又はコントロールは、任意に有形媒体内に包埋された組織学的な参照又はコントロールである。一般に、参照又はコントロールは、評価されるものと同等の条件又は状況下で決定される又は特徴付けられる。選択される参照又はコントロールへの信頼及び/又はそれとの比較を正当化するのに十分な類似性が存在する場合。

#### 【0119】

20

「制御性T細胞」(「Treg」、「Treg細胞」、又は「Tregs」)は、或る特定の免疫活性、例えば、自己免疫、アレルギー、及び感染への応答の制御に関与するCD4+Tリンパ球の系譜を指す。制御性T細胞は、T細胞集団の活性を調節することができ、或る特定の自然免疫系細胞型に影響を及ぼすこともできる。Tregsは、バイオマーカーCD4、CD25、及びFoxp3の発現、並びにCD127の低発現によって特定され得る。天然に存在するTreg細胞は通常、末梢CD4+Tリンパ球の約5%~10%を構成する。しかしながら、腫瘍微小環境内のTreg細胞(すなわち、腫瘍浸潤性Treg細胞)は、CD4+Tリンパ球集団全体の20%~30%と同程度の割合を占める場合がある。

#### 【0120】

30

「試料」という用語は一般に、対象となる起源から得られた又はそこから誘導される材料のアリコートを指す。幾つかの実施形態では、対象となる起源は、生物学的起源又は環境的起源である。幾つかの実施形態では、対象となる起源は、細胞又は生物、例えば、細胞集団、組織、又は動物(例えば、ヒト)を含み得る。幾つかの実施形態では、対象となる起源は、生体組織又は生体液を含む。幾つかの実施形態では、生体組織又は生体液は、羊水、房水、腹水、胆汁、骨髄、血液、乳汁、脳脊髄液、耳垢、乳び、び汁、射精液、内リンパ、滲出液、糞便、胃酸、胃液、リンパ、粘液、心膜液、外リンパ、腹腔液、胸膜液、膿汁、カタル性分泌物、唾液、皮脂、精液、血清、恥垢、痰、滑液、汗、涙液、尿、腔分泌物、硝子体液、嘔吐物、及び/又はそれらの組合せ若しくは成分(複数の場合もある)を含み得る。幾つかの実施形態では、生体液は、細胞内液、細胞外液、血管内液(血漿) 40、間質液、リンパ液、及び/又は細胞透過液を含み得る。幾つかの実施形態では、生体液は、植物滲出液を含み得る。幾つかの実施形態では、生体組織又は生体試料を、例えば、吸引、生検(例えば、細針生検又は組織生検)、スワブ(例えば、口腔スワブ、鼻腔内スワブ、皮膚スワブ、又は腔スワブ)、擦過、手術、洗出、又は洗浄(例えば、気管支肺胞洗浄、乳管洗浄、鼻洗浄、眼洗浄、口腔洗浄、子宮洗浄、腔洗浄、又は他の洗出若しくは洗浄)によって得ることができる。幾つかの実施形態では、生体試料は個体から得られた細胞を含む。幾つかの実施形態では、試料は、任意の適切な手段によって対象となる起源から直接得られた「一次試料」である。幾つかの実施形態では、文脈から明らかのように「試料」という用語は、一次試料を処理することによって(例えば、一次試料の1つ以上の成分を除去することによって、及び/又は一次試料に1つ以上の作用物質を添加する 50

ことによって)得られる調製物を指す。そのような「処理された試料」は、例えば、試料から抽出された又は一次試料を核酸の増幅若しくは逆転写、或る特定の成分の単離及び/又は精製等のような1つ以上の技法に供することによって得られた核酸又はタンパク質を含み得る。

#### 【0121】

「癌の病期」という用語は、癌の進行のレベルの定性的評価又は定量的評価を指す。幾つかの実施形態では、癌の病期を決定するのに使用される基準は、限定されるものではないが、癌が体内のどこに位置するか、腫瘍サイズ、癌がリンパ節に広がっているかどうか、癌が身体の1つ以上の異なる部分に広がっているかどうか等のうちの1つ以上を含み得る。幾つかの実施形態では、癌は、いわゆるTNMシステムを使用して病期分類され得る。それによれば、Tは通常、原発腫瘍と呼ばれる主腫瘍のサイズ及び範囲を指し、Nは癌を有する近くのリンパ節の数を指し、Mは癌が転移しているかどうかを指す。幾つかの実施形態では、癌は、病期0(上皮内癌又はCISとも呼ばれる、近くの組織に広がりを持たずに存在する異常な細胞;CISは癌ではないが、癌になる可能性がある)、病期I~病期III(癌が存在する;数が大きいほど、腫瘍は大きくなり、近くの組織により一層広がっている)、又は病期IV(癌が身体離れた部分に広がっている)として言及され得る。幾つかの実施形態では、癌は、正常位置;限局型(癌はそれが始まった場所に限定され、広がったという兆候を有しない);局所(癌が近くのリンパ節、組織、又は臓器に広がっている);遠隔(癌が身体離れた部分に広がっている);及び不明(病期を決定するのに十分な情報がない)からなる群から選択される病期に割り当てられ得る。

10

20

#### 【0122】

「治療作用物質」という語句は、生物に投与されたときに所望の薬理学的効果を誘発するあらゆる作用物質を指し得る。幾つかの実施形態では、作用物質は、それが適切な集団にわたって統計的に有意な効果を示す場合に、治療作用物質であるとみなされる。幾つかの実施形態では、適切な集団は、モデル生物又はヒト被験体の集団であり得る。幾つかの実施形態では、適切な集団は、或る特定の年齢群、性別、遺伝的背景、既存の臨床状態等の様々な基準によって、バイオマーカーの存在又は不存在等に従って規定され得る。幾つかの実施形態では、治療作用物質は、疾患、障害、及び/又は状態の1つ以上の症状又は特徴の軽減、改善、緩和、抑止、予防、発症の遅延、重症度の軽減、及び/又は発生率の低下に使用され得る物質である。幾つかの実施形態では、治療作用物質は、それをヒトへの投与のために販売し得る前に、政府機関によって承認された又は承認される必要がある作用物質である。幾つかの実施形態では、治療作用物質は、ヒトへの投与のために処方箋が必要とされる作用物質である。

30

40

#### 【0123】

本開示の様々な態様を、以下の小区分で更に詳細に説明する。本開示は、少なくとも抗CD20結合モチーフを含む抗原結合系及び結合作用物質を提供する。とりわけ、本開示は、癌の治療及び/又は免疫応答の開始若しくは調節に有用な方法及び組成物を提供する。或る特定の実施形態では、本開示は、抗CD20結合モチーフと、第2の抗原又はエピトープに対する第2の結合モチーフとを含むことで二重標的化されている抗原結合系及び結合作用物質を含む。幾つかの例では、第2の結合モチーフは、CD19に選択的に結合する。様々な実施形態では、1つ以上の結合モチーフはscFvである。例示的な結合モチーフのアミノ酸配列、及び該アミノ酸配列をコードする核酸配列は、本明細書に示されている。幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系はキメラ抗原受容体である。幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、二重特異性キメラ抗原受容体又はバイシストロン性キメラ抗原受容体である。幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質は操作されたT細胞受容体である。

#### 【0124】

本開示の様々な実施形態は、本明細書に示される結合モチーフ又は抗原結合系をコードするベクター、例えば、二重特異性又はバイシストロン性の抗CD20/抗CD19キメラ抗原受容体等の抗CD20/抗CD19抗原結合系をコードするベクターを提供する。

50

本開示の様々な実施形態は、本明細書に示される抗原結合系又は結合モチーフをコード又は発現する細胞、例えば、二重特異性又はバイシストロン性の抗CD20/抗CD19キメラ抗原受容体等の抗CD20/抗CD19キメラ抗原受容体をコード又は発現するように操作されたT細胞である結合作用物質を提供する。本開示は、例えば、組み込まれた遺伝子、例えば、対象となるヌクレオチド配列（例えば、そのようなヌクレオチド配列を含む構成的発現コンストラクト及び/又は誘導性発現コンストラクト）で遺伝子改変された免疫細胞である結合作用物質を含む結合作用物質を提供する。幾つかの実施形態では、本開示は、腫瘍を有する被験体を治療する方法であって、本明細書に記載される結合作用物質治療薬及び/又は本明細書に記載されるタンパク質治療薬を被験体に投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態では、方法は、1つ以上の追加の治療薬（例えば、第2の結合作用物質（例えば、CAR-T細胞、CAR-NK細胞、TCR-T細胞、TIL細胞、同種異系NK細胞、及び自家NK細胞）、抗体-薬物コンジュゲート、抗体、二重特異性抗体、T細胞に結合する二重特異性抗体、操作された抗体、及び/又は本明細書に記載されるポリペプチド）の投与を更に含む。

#### 【0125】

本開示の他の特徴、課題及び利点は、以下の詳細な説明において明白である。しかしながら、詳細な説明は、本開示の実施形態を示す一方で、限定するものではなく、例示的に示されているにすぎないことを理解されたい。

#### 【0126】

本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に記載される抗体に見られる抗原結合配列を含み得る。幾つかの場合には、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に記載される抗原結合フラグメントを含む。別段の指示がない限り、本開示におけるCD20についての言及はヒトCD20に関連することが理解されるべきである。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される少なくとも1つの重鎖CDR(HCDR)、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも1つのHCDRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される2つのHCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも2つのHCDRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される3つのHCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される3つのHCDRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される少なくとも1つの軽鎖CDR(LCDR)、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも1つのLCDRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される2つのLCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも2つのLCDRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される3つのLCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される3つのLCDRを含む。

#### 【0127】

様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される少なくとも1つのHCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも1つのHCDRと、本明細書に示される少なくとも1つのLCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも1つのLCDRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される1つのHCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも1つのHCDRと、本明細書に示される、例えば、表4～表13のHCDR（複数の場合もある）と同じ表から導き出される1つのLCDRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される2つのHCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも2つのHCDRと、本明細書に示される2つのLCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも2つのLCDRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本明細書に示される2つのHCDR、例えば、表4～表13のいずれか1つに開示される少なくとも2つのHCDRと、本明細書に示される、例え

ば、表 4 ~ 表 1 3 の H C D R ( 複数の場合もある ) と同じ表から導き出される 2 つの L C D R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に示される 3 つの H C D R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される 3 つの H C D R と、本明細書に示される 3 つの L C D R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される 3 つの L C D R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に示される 3 つの H C D R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される 3 つの H C D R と、表 4 ~ 表 1 3 の H C D R ( 複数の場合もある ) と同じ表から導き出される 3 つの L C D R とを含む。

【 0 1 2 8 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの重鎖フレームワーク領域 ( 重鎖 F R )、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの重鎖 F R を含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 2 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 2 つの重鎖 F R を含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 3 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの 3 つの重鎖 F R を含む。

10

【 0 1 2 9 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの軽鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの軽鎖 F R を含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの 2 つの軽鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも 2 つの軽鎖 F R を含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの 3 つの軽鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの 3 つの軽鎖 F R を含む。

20

【 0 1 3 0 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの重鎖 F R と、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの軽鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの軽鎖 F R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 1 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 1 つの重鎖 F R と、本明細書に開示される、例えば、表 4 ~ 表 1 3 の重鎖 F R ( 複数の場合もある ) と同じ表から導き出される軽鎖可変ドメインの 1 つの軽鎖 F R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 2 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 2 つの重鎖 F R と、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの 2 つの軽鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも 2 つの軽鎖 F R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 2 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの少なくとも 2 つの重鎖 F R と、本明細書に開示される、例えば、表 4 ~ 表 1 3 の重鎖 F R ( 複数の場合もある ) と同じ表から導き出される軽鎖可変ドメインの 2 つの軽鎖 F R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 3 つの重鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの 3 つの重鎖 F R と、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの 3 つの軽鎖 F R、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの 3 つの軽鎖 F R とを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの 3 つの重鎖 F R

30

40

50

、例えば、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの 3 つの軽鎖 F R と、表 4 ~ 表 1 3 の重鎖 F R ( 複数の場合もある ) と同じ表から導き出される 3 つの軽鎖 F R とを含む。

【 0 1 3 1 】

表 4 ~ 表 1 3 に示される例示的な抗体配列は、例えば、四量体抗体、単一特異性抗体、二重特異性抗体、抗原結合フラグメント、又は結合モチーフを含む、あらゆる抗体形式で使用するのに適している。表 4 ~ 表 1 3 に示される重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン並びにそれらの部分は、結合モチーフに含まれ得る。

【 0 1 3 2 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、一緒に又はそれぞれ個別に、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインの対応する F R ( 複数の場合もある ) に対して少なくとも 7 5 % ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 %、例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % ) の同一性を有する 1 つ、2 つ、又は 3 つの F R を含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、一緒に又はそれぞれ個別に、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインの対応する F R ( 複数の場合もある ) に対して少なくとも 7 5 % ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 % ) の同一性を有する 1 つ、2 つ、又は 3 つの F R を含む。

10

【 0 1 3 3 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも 7 5 % の配列同一性 ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 %、例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % の同一性 ) を有する少なくとも 1 つの重鎖可変ドメインを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、表 4 ~ 表 1 3 に開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも 7 5 % の配列同一性 ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 %、例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % の同一性 ) をそれぞれ有する 2 つの重鎖可変ドメインを含み、これらの重鎖可変ドメインは同一又は相違し得る。

20

30

【 0 1 3 4 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも 7 5 % の配列同一性 ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 %、例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % の同一性 ) を有する少なくとも 1 つの軽鎖可変ドメインを含む。様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも 7 5 % の配列同一性 ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 %、例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % の同一性 ) をそれぞれ有する 2 つの軽鎖可変ドメインを含み、これらの軽鎖可変ドメインは同一又は相違し得る。

40

【 0 1 3 5 】

様々な実施形態では、本開示の抗 C D 2 0 結合モチーフは、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも 7 5 % の配列同一性 ( 例えば、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、又は 1 0 0 %、例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % の同一性 ) を有する少なくとも 1 つの重鎖可変ドメインと、表 4 ~ 表 1 3 のいずれか 1 つに開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも

50

75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）を有する少なくとも1つの軽鎖可変ドメインとを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、表4~表13のいずれか1つに開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）を有する1つの重鎖可変ドメインと、表4~表13のいずれか1つに開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）を有する1つの軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、任意に、表4~表13の同じ表から導き出される。

10

#### 【0136】

様々な実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、表4~表13に開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）をそれぞれ有する2つの重鎖可変ドメインと、表4~表13に開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）をそれぞれ有する2つの軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、様々な実施形態では、(i)重鎖可変ドメインのそれぞれは同一若しくは相違し得るか、(ii)軽鎖可変ドメインのそれぞれは同一若しくは相違し得るか、(iii)少なくとも1つの重鎖可変ドメイン及び少なくとも1つの軽鎖可変ドメインは、表4~表13の同じ表から導き出され得るか、又は(iv)2つの重鎖可変ドメイン及び2つの軽鎖可変ドメインは全て表4~表13の同じ表から導き出され得る。表4~表13のそれぞれは、(i)例示的な抗体の重鎖可変ドメイン、(ii)重鎖可変ドメインをコードするDNA配列、(iii)IMGT、Kabata、及びChothiaのナンバリングによる重鎖可変ドメインの3つの重鎖可変ドメインCDR、(iv)例示的な抗体の軽鎖可変ドメイン、(v)軽鎖可変ドメインをコードするDNA配列、並びに(vi)IMGT、Kabata、及びChothiaのナンバリングによる軽鎖可変ドメインの3つの軽鎖可変ドメインCDRを含む、例示的な抗体の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインの配列を表す。各表に示される情報は、フレームワークアミノ酸配列、並びに各CDRアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列及び対応するFRアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を提供する。

20

30

#### 【0137】

様々な実施形態では、結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメイン（例えば、表4~表13のいずれか1つの重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性、例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性を有する）と、本開示の軽鎖可変ドメイン（例えば、表4~表13のいずれか1つの軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性、例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性を有する）と、リンカー（例えば、配列番号247によるリンカー及び/又は配列番号307~配列番号313のいずれか1つによるリンカー；例えば、Whitlow

40

50



et

al. Protein Eng. 1993 Nov;6(8):989-95を参照)とを含み得る。様々な実施形態では、結合モチーフは、リーダー配列と、本開示の重鎖可変ドメイン(例えば、表4~表13のいずれか1つの重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性、例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性を有する)と、本開示の軽鎖可変ドメイン(例えば、表4~表13のいずれか1つの軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性、例えば、少なくとも80%、85%、90%、95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性を有する)と、リンカーとを含み得る。本開示の重鎖可変ドメイン及び本開示の軽鎖可変ドメインを含む結合モチーフのアミノ酸配列又はヌクレオチド配列が提供される場合に、本開示を考慮すれば、該配列から2つの可変ドメインをつなぐリンカーは明らかであろう。本開示の重鎖可変ドメイン及び本開示の軽鎖可変ドメインを含む結合モチーフのアミノ酸配列又はヌクレオチド配列が提供される場合に、本開示を考慮すれば、リーダー配列は明らかであろう。誤解を避けるために、本開示の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、任意の方向、例えば、重鎖可変ドメインが軽鎖可変ドメインのC末端にある方向、又は重鎖可変ドメインが軽鎖可変ドメインのN末端にある方向で存在し得る。様々な実施形態では、結合モチーフは、1つ以上の追加のリンカーに隣接する、配列番号247によるリンカー及び/又は配列番号307~配列番号313のいずれか1つによるリンカーを含み得る。

10

20

#### 【0138】

或る特定の実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメインと、本開示の軽鎖可変ドメインと、配列番号247に対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性)を有するリンカーとを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、配列番号247によるリンカー及び/又は配列番号307~配列番号313のいずれか1つによるリンカーを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメインと、本開示の軽鎖可変ドメインと、配列番号245に対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性)を有するリーダー配列とを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、配列番号245によるCSF2RAリーダー配列を含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD20結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメインと、本開示の軽鎖可変ドメインと、本開示のリンカーと、本開示のリーダー配列とを含む結合モチーフを含む。抗CD19結合モチーフ及びその構成要素をコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号246及び配列番号248に見られる。様々な実施形態では、本開示の結合モチーフは、表53の配列(配列番号251~配列番号260)のいずれか1つによる配列を有する。

30

40

#### 【0139】

例えばAb1等の本明細書に示される例示的な抗体に基づく本開示の結合作用物質は、示される例示的な抗体による重鎖可変ドメインと、示される例示的な抗体による軽鎖可変ドメインとを含む、あらゆるフラグメント又は形式で提供され得る。

#### 【0140】

50

表 4 : 例示的な抗体配列 1 (Ab1)

配列番号	説明	配列
1	重鎖可変ドメイン	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYNPSLKSRTI SVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARGGGSWYSNWFDPPWGQGT MTVSS
2	VH (DNA)	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGG CGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCT GTCTATGGTGGGTCCCTCAGTGG T TACTACTGGAGCTGGATCCGCC AGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGGAATCGACCATAG TGAAGCACCAACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATA TCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTG TGACCGCCGCGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGAGGTGGAGG AAGTTGGTACAGCAACTGGTTTCG ACCCATGGGGACAGGGTACAATG GTCACCGTCTCCTCA
3	CDRH1 IMG T (Prot)	GGSFSGYY
4	CDRH1 Kab a t (Prot)	GYYWS
5	CDRH1 Cho t hia (Prot)	GGSFSG
6	CDRH2 IMG T (Prot)	IDHSGST
7	CDRH2 Kab a t (Prot)	EIDHSGSTNYNPSLKS
8	CDRH2 Cho t hia (Prot)	DHSGS
9	CDRH3 IMG T (Prot)	ARGGGSWYSNWFDPP
10	CDRH3 Kab a t (Prot)	GGGSWYSNWFDPP
11	CDRH3 Cho t hia (Prot)	GGGSWYSNWFDPP
12	軽鎖可変ドメイン	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITC RASQSISSWLAWYQQKPKAPKL LIYDASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISSLQPDDFATYYCQQDR SLPPTFGGGTKVEIK
13	VL (DNA)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCC TTCCACCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGC CGGGCCAGTTCAGAGTATTAGTAG CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGA AACCAAGGAAAGCCTAAGCTC CTGATCTATGATGCCTCAGTTT

10

20

30

40

50

		GGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACA GAATTCACCTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGATGATTTTGCAA CTTATTACTGCCAGCAGGACCGA AGTCTCCCTCCTACTTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA	
14	CDRL1 IMGT (Prot)	RASQSISSWLA	10
15	CDRL1 Kabat (Prot)	RASQSISSWLA	
16	CDRL1 Chothia (Prot)	RASQSISSWLA	
17	CDRL2 IMGT (Prot)	DASSLES	
18	CDRL2 Kabat (Prot)	DASSLES	
19	CDRL2 Chothia (Prot)	DASSLES	
20	CDRL3 IMGT (Prot)	QQDRSLPPT	20
21	CDRL3 Kabat (Prot)	QQDRSLPPT	
22	CDRL3 Chothia (Prot)	QQDRSLPPT	

【 0 1 4 1 】

30

40

50

表 5 : 例示的な抗体配列 2 (Ab 2)

配列番号	説明	配列
23	重鎖可変ドメイン	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGIHWNWIRQPPGKGLE WIGDIDTSGSTNYNPSLKSRTI SVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARLGQESATYLGMDVWGQGT TVTSS
24	VH (DNA)	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGG CGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCGCT GTCTATGGTGGGTCTTCAGTGG TATCCACTGGAAGTGGATCCGCC AGCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGGACATCGACACAAG TGAAGCACCAACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATA TCCGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGTTCTG TGACCGCCGCAGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGATTGGGACA GGAGTCAGCCACCTATCTCGGAA TGGACGTATGGGGCCAGGGAACA ACTGTACCCGTCTCTCA
25	CDRH1 IMGT (Prot)	GGSFSGIH
26	CDRH1 Kabat (Prot)	G I H W N
27	CDRH1 Chot hia (Prot)	G G S F S G
28	CDRH2 IMGT (Prot)	I D T S G S T
29	CDRH2 Kabat (Prot)	D I D T S G S T N Y N P S L K S
30	CDRH2 Chot hia (Prot)	D T S G S
31	CDRH3 IMGT (Prot)	A R L G Q E S A T Y L G M D V
32	CDRH3 Kabat (Prot)	L G Q E S A T Y L G M D V
33	CDRH3 Chot hia (Prot)	L G Q E S A T Y L G M D V
34	軽鎖可変ドメイン	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKP GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQLYTYPTFTFGGGTKVEIK
35	VL (DNA)	GACATCGTGATGACCCAGTCTCC AGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGG GCGAGAGGGCCACCATCAACTGC AAGTCCAGCCAGAGTGT TTTATA CAGCTCCAACAATAAGA ACTACT TAGCTTGGTACCAGCAGAAACCA GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCAT

10

20

30

40

50

		TTACTGGGCATCTACCCGGGAAT CCGGGGTCCCTGACCGATTCAGT GGCAGCGGGTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCTGC AGGCTGAAGATGTGGCAGTTTAT TACTGTCAGCAGCTCTACACCTA CCCTTTCACTTTTGGCGGAGGGA CCAAGGTTGAGATCAAA	
36	CDRL1 IMGT (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	10
37	CDRL1 Kabat (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
38	CDRL1 Chothia (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
39	CDRL2 IMGT (Prot)	WASTRES	
40	CDRL2 Kabat (Prot)	WASTRES	
41	CDRL2 Chothia (Prot)	WASTRES	20
42	CDRL3 IMGT (Prot)	QQLYTYPFT	
43	CDRL3 Kabat (Prot)	QQLYTYPFT	
44	CDRL3 Chothia (Prot)	QQLYTYPFT	

【 0 1 4 2 】

30

40

50

表 6：例示的な抗体配列 3 (A b 3)

配列番号	説明	配列
45	重鎖可変ドメイン	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSTYYNPSLKS RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCARETDYSSGMGYGMDVWG QGTTVTVSS
46	VH (DNA)	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGG CCCAGGACTGGTGAAGCCTTCGG AGACCCTGTCCCTCACCTGCACT GTCTCTGGTGGCTCCATCAGCAG TAGTAGTTACTACTGGGGCTGGA TCCGCCAGCCCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGATTGGGAGTATCTA TTATAGTGGGAGCACCTACTACA ACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTC ACCATATCCGTAGACACGTCCAA GAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGA GTTCTGTGACCGCCGCAGACACG GCGGTGTACTACTGCGCCAGAGA GACTGACTACAGCAGCGGAATGG GATACGGAATGGACGTATGGGGC CAGGGAACAACCTGTCACCGTCTC CTCA
47	CDRH1 IMGT (Prot)	GGSISSSSYY
48	CDRH1 Kabat (Prot)	SSSYWGW
49	CDRH1 Chothia (Prot)	GGSISSSS
50	CDRH2 IMGT (Prot)	IYYSGST
51	CDRH2 Kabat (Prot)	SIYYSGSTYYNPSLKS
52	CDRH2 Chothia (Prot)	YYS GS
53	CDRH3 IMGT (Prot)	ARETDYSSGMGYGMDV
54	CDRH3 Kabat (Prot)	ETDYSSGMGYGMDV
55	CDRH3 Chothia (Prot)	ETDYSSGMGYGMDV
56	軽鎖可変ドメイン	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC RASQSINSYLNWYQQKPKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSL ADPFTFGGGTKVEIK
57	VL (DNA)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCC ATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGC CGGGCAAGTCAGAGCATTAACAG CTATTTAAATTGGTATCAGCAGA AACCCAGGGAAGCCCCCTAAGCTC

10

20

30

40

50

		CTGATCTATGCTGCATCCAGTTT GCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA GATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGCCAGCAAAGCCTC GCCGACCCTTTCACCTTTGGCGG AGGGACCAAGGTTGAGATCAA	
58	CDRL1 IMGT (Prot)	RASQSINSYLN	10
59	CDRL1 Kabat (Prot)	RASQSINSYLN	
60	CDRL1 Chothia (Prot)	RASQSINSYLN	
61	CDRL2 IMGT (Prot)	AASSLQS	
62	CDRL2 Kabat (Prot)	AASSLQS	
63	CDRL2 Chothia (Prot)	AASSLQS	20
64	CDRL3 IMGT (Prot)	QQSLADPFT	
65	CDRL3 Kabat (Prot)	QQSLADPFT	
66	CDRL3 Chothia (Prot)	QQSLADPFT	

【 0 1 4 3 】

30

40

50

表 7 : 例示的な抗体配列 4 (A b 4)

配列番号	説明	配列
67	重鎖可変ドメイン	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFKEYG I SWVRQAPGQGLE WMGWI SAYS GHTYYA QKLQGRVT MTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTA VYYCARGPHYDDWSGF I IWFDPW GQGTLVTVSS
68	VH (DNA)	CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGG AGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGG CCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAG GCTTCTGGTTACACCTTTAAAGA ATATGGTATCAGCTGGGTGCGAC AGGCCCTGGACAAGGGCTTGAG TGGATGGGATGGATCAGCGCTTA CAGTGGTCACACATACTATGCAC AGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACC ATGACCACAGACACATCCACGAG CACAGCCTACATGGAGCTGAGGA GCCTGAGATCTGACGACACGGCG GTGTACTACTGCGCCAGAGGGCC TCACTACGACGACTGGAGCGGAT TTATCATATGGTTTCGACCCATGG GGACAGGGTACATTGGTCACCGT CTCCTCA
69	CDRH1 IMGT (Prot)	GYTFKEYG
70	CDRH1 Kabat (Prot)	EYGIS
71	CDRH1 Chot hia (Prot)	GYTFKE
72	CDRH2 IMGT (Prot)	ISAYS GHT
73	CDRH2 Kabat (Prot)	WISAYS GHTYYA QKLQ
74	CDRH2 Chot hia (Prot)	SAYSG
75	CDRH3 IMGT (Prot)	ARGPHYDDWSGF I IWFD P
76	CDRH3 Kabat (Prot)	GPHYDDWSGF I IWFD P
77	CDRH3 Chot hia (Prot)	GPHYDDWSGF I IWFD P
78	軽鎖可変ドメイン	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC RASQSISSYLNWYQQKPKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSY RFPPTFGQGTKVEIK
79	VL (DNA)	GACATCCAGATGACCCAGTCTCC ATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGC CGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAG CTATTTAAATTGGTATCAGCAGA AACCAAGGAAAGCCCTAAGCTC

10

20

30

40

50



		CTGATCTATGCTGCATCCAGTTT GCAAAGTGGGGTCCCTTCAAGGT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACA GATTTCACTCTCACCATCAGCAG TCTGCAACCTGAAGATTTTGCAA CTTACTACTGTCAACAGAGTTAC AGGTTTTCCTCCTACCTTTGGCCA AGGGACCAAGGTTGAGATCAAA	
80	CDRL1 IMGT (Prot)	RASQSISSYLN	10
81	CDRL1 Kabat (Prot)	RASQSISSYLN	
82	CDRL1 Chothia (Prot)	RASQSISSYLN	
83	CDRL2 IMGT (Prot)	AASSLQS	
84	CDRL2 Kabat (Prot)	AASSLQS	
85	CDRL2 Chothia (Prot)	AASSLQS	20
86	CDRL3 IMGT (Prot)	QQSYRFPPT	
87	CDRL3 Kabat (Prot)	QQSYRFPPT	
88	CDRL3 Chothia (Prot)	QQSYRFPPT	

【 0 1 4 4 】

30

40

50

表 8：例示的な抗体配列 5 (Ab 5)

配列番号	説明	配列
89	重鎖可変ドメイン	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTC TVSGGSISSPDHYWGWIRQPPG KGLEWIGSIYASGSTFYNPSLK SRVTISVDTSKNQFSLKLSVT AADTAVYYCARETDYSSSGMGYG MDVWGGGTTVTVSS
90	VH (DNA)	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGG GCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGC ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCA GCAGTCCCGACCACTACTGGGG CTGGATCCGCCAGCCCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGATTGGGT CCATCTACGCCAGTGGGAGCAC CTTCTACAACCCGTCCCTCAAG AGTCGAGTCACCATATCCGTAG ACACGTCCAAGAACCAGTTCTC CCTGAAGCTGAGCTCTGTGACC GCCGCGGACACGGCGGTGTA ACTGCGCCAGAGAGACTGACTA CAGCAGCGGAATGGGATACGGA ATGGACGTATGGGGCCAGGGAA CAACTGTCACCGTCTCCTCA
91	CDRH1 IMGT (Prot)	GGSISSPDHY
92	CDRH1 Kabat (Prot)	SPDHYWG
93	CDRH1 Chothia (Prot)	GGSISSPD
94	CDRH2 IMGT (Prot)	IYASGST
95	CDRH2 Kabat (Prot)	SIYASGSTFYNPSLKS
96	CDRH2 Chothia (Prot)	YASGS
97	CDRH3 IMGT (Prot)	ARETDYSSSGMGYGMDV
98	CDRH3 Kabat (Prot)	ETDYSSSGMGYGMDV
99	CDRH3 Chothia (Prot)	ETDYSSSGMGYGMDV
100	軽鎖可変ドメイン	DIQMTQSPSSLSASVGDRTIT CRASQSIINSYLNWYQQKPKGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFLTISSLQPEDFATYYC QQSLADPFTFGGGTKVEIK
101	VL (DNA)	GACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTCCCTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCCACCATCACT TGCCGGGCAAGTCCAGAGCATTA ACAGCTATTTAAATTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCT

10

20

30

40

50

		AAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGGCAAAGTGGGGTCCC ATCAAAGGTTCAGTGGCAGTGGGA TCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGTCTGCAACCTGA AGATTTTGGCAACTTACTACTGC CAGCAAAGCCTCGCCGACCCTT TCACTTTTGGCGGAGGGACCAA GGTTGAGATCAAA	
102	CDRL1 IMGT (Prot)	RASQSINSYLN	10
103	CDRL1 Kabat (Prot)	RASQSINSYLN	
104	CDRL1 Chothia (Prot)	RASQSINSYLN	
105	CDRL2 IMGT (Prot)	AASSLQS	
106	CDRL2 Kabat (Prot)	AASSLQS	20
107	CDRL2 Chothia (Prot)	AASSLQS	
108	CDRL3 IMGT (Prot)	QQSLADPFT	
109	CDRL3 Kabat (Prot)	QQSLADPFT	
110	CDRL3 Chothia (Prot)	QQSLADPFT	

【 0 1 4 5 】

30

40

50

表9：例示的な抗体配列6 (Ab6)

配列番号	説明	配列
111	重鎖可変ドメイン	QITLKESEGPTLVKPTQTLTLTLC TFSGFSLDTEGVGVGWIRQPPG KALEWLALIYFNDQKRYSPSLK SRLTITKDTSKNQVVLTMNMD PVDTAVYYCARDTGYSRWYYGM DVWGQGTTVTVSS
112	VH (DNA)	CAGATCACCTTGAAGGAGTCTG GTCCTACGCTGGTGAAACCCAC ACAGACCCTCACGCTGACCTGC ACCTTCTCTGGGTTCTCACTCG ACACTGAAGGAGTGGGTGTGGG CTGGATCCGTCAGCCCCAGGA AAGGCCCTGGAGTGGCTTGCAC TCATTTATTTCAATGATCAAAA GCGCTACAGCCCATCTCTGAAG AGCAGGCTCACCATCACCAAGG ACACCTCCAAAAACCAGGTGGT CCTTACAATGACCAACATGGAC CCTGTGGACACGGCGGTGTACT ACTGCGCCAGAGACACGGGATA CAGCCGATGGTACTACGGCATG GATGTATGGGGCCAGGGAACAA CTGTCACCGTCTCCTCA
113	CDRH1 IMGT (Prot)	GFSLDTEGVG
114	CDRH1 Kabat (Prot)	TEGVGVG
115	CDRH1 Chothia (Prot)	GFSLDTEG
116	CDRH2 IMGT (Prot)	IYFNDQK
117	CDRH2 Kabat (Prot)	L IYFNDQKRYSPSLKS
118	CDRH2 Chothia (Prot)	YFNDQ
119	CDRH3 IMGT (Prot)	ARDTGYSRWYYGMDV
120	CDRH3 Kabat (Prot)	DTGYSRWYYGMDV
121	CDRH3 Chothia (Prot)	DTGYSRWYYGMDV
122	軽鎖可変ドメイン	DIQMTQSPSSVSASVGDRTIT CRASQGISSWLAWYQQKPKGKAP KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQAYAYPITFGGGTKVEIK
123	VL (DNA)	GACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCTTCCGTGTCTGCATCTGT AGGAGACAGAGTCCACCATCACT TGTCTGGGCGAGTCAGGGTATTA GCAGCTGGTTAGCCTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAGCCCT

10

20

30

40

50

		AAGCTCCTGATCTATGCTGCAT CCAGTTTGGCAAAGTGGGGTCCC ATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGGA TCTGGGACAGATTTCACTCTCA CCATCAGCAGCCTGCAGCCTGA AGATTTTGGCAACTTATTACTGT CAGCAGGCATACGCCTACCCTA TCACTTTTGGCGGAGGGACCAA GGTTGAGATCAAA	
124	CDRL1 IMGT (Prot)	RASQGISSWLA	10
125	CDRL1 Kabat (Prot)	RASQGISSWLA	
126	CDRL1 Chothia (Prot)	RASQGISSWLA	
127	CDRL2 IMGT (Prot)	AASSLQS	
128	CDRL2 Kabat (Prot)	AASSLQS	20
129	CDRL2 Chothia (Prot)	AASSLQS	
130	CDRL3 IMGT (Prot)	QQAYAYPIT	
131	CDRL3 Kabat (Prot)	QQAYAYPIT	
132	CDRL3 Chothia (Prot)	QQAYAYPIT	

【 0 1 4 6 】

30

40

50

表 10 : 例示的な抗体配列 7 (Ab7)

配列番号	説明	配列
133	重鎖可変ドメイン	QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCA VYGGSFEEKYWSWIRQPPGKGLE WIGE IYHSGLTNYPNPSLKSRTI SVDTSKNQFSLKLSVTAADTAV YYCARVRYDSSDSYYSYDYGMD VWGQGTTVTVSS
134	VH (DNA)	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGG CGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGG AGACCTGTCCCTCACCTGCGCT GTCTATGGTGGGTCCCTTCGAAAA ATACTACTGGAGCTGGATCCGCC AGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAG TGGATTGGGGAAATCTACCATAG TGGACTCACCAACTACAACCCGT CCCTCAAGAGTCGAGTCACCATA TCAGTAGACACGTCCAAGAACCA GTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTG TGACCGCCGCGGACACGGCGGTG TACTACTGCGCCAGGGTCAAGATA CGACAGCAGCGACTCCTACTACT ATAGCTACGATTATGGAATGGAC GTATGGGGCCAGGGAACAACCTGT CACCGTCTCCTCA
135	CDRH1 IMG T (Prot)	GGSFEEKYY
136	CDRH1 Kab a t (Prot)	KYYWS
137	CDRH1 Cho t hia (Prot)	GGSFEEK
138	CDRH2 IMG T (Prot)	IYHSGLT
139	CDRH2 Kab a t (Prot)	E IYHSGLTNYPNPSLKS
140	CDRH2 Cho t hia (Prot)	YHSGL
141	CDRH3 IMG T (Prot)	ARVRYDSSDSYYSYDYGMDV
142	CDRH3 Kab a t (Prot)	VRYDSSDSYYSYDYGMDV
143	CDRH3 Cho t hia (Prot)	VRYDSSDSYYSYDYGMDV
144	軽鎖可変ドメイン	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINC KSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKP GQPPKLLIYWASSRESGVPDRFS GSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQQSYSPWTFGGGTKVEIK
145	VL (DNA)	GACATCGTGCTGACCCAGTCTCC AGACTCCCTGGCTGTGTCTCTGG GCGAGAGGGCCACCATCAACTGC AAGTCCAGCCAGAGTGTTTTATA CAGCTCCAACAATAAGAACTACT TAGCTTGGTACCAGCAGAAACCA

10

20

30

40

50

		GGACAGCCTCCTAAGCTGCTCAT TTACTGGGCATCTAGCCGGGAAT CCGGGGTCCCTGACCGATTTCAGT GGCAGCGGGTCTGGGACAGATTT CACTCTCACCATCAGCAGCCTGC AGGCTGAAGATGTGGCAGTTTAT TACTGTCAGCAGTCCTACTCCTT CCCTTGGACTTTTGGCGGAGGGA CCAAGGTTGAGATCAA	
146	CDRL1 IMGT (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	10
147	CDRL1 Kabat (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
148	CDRL1 Chothia (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
149	CDRL2 IMGT (Prot)	WASSRES	
150	CDRL2 Kabat (Prot)	WASSRES	
151	CDRL2 Chothia (Prot)	WASSRES	20
152	CDRL3 IMGT (Prot)	QQSYSFPWT	
153	CDRL3 Kabat (Prot)	QQSYSFPWT	
154	CDRL3 Chothia (Prot)	QQSYSFPWT	

【 0 1 4 7 】

30

40

50

表 1 1 : 例示的な抗体配列 8 (A b 8)

配列番号	説明	配列
1 5 5	重鎖可変ドメイン	Q V Q L Q Q W G A G L L K P S E T L S L T C A V Y G G S F S R Y V W S W I R Q P P G K G L E W I G E I D S S G K T N Y N P S L K S R V T I S V D T S K N Q F S L K L S S V T A A D T A V Y Y C A R V R Y D S S D S Y Y Y S Y D Y G M D V W G Q G T T V T V S S
1 5 6	VH (DNA)	C A G G T G C A G C T A C A G C A G T G G G G C G C A G G A C T G T T G A A G C C T T C G G A G A C C C T G T C C C T C A C C T G C G C T G T C T A T G G T G G G T C C T T C A G T C G A T A C G T A T G G A G C T G G A T C C G C C A G C C C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G A T T G G G G A A A T C G A C T C C A G T G G A A A A C C A A C T A C A A C C C G T C C C T C A A G A G T C G A G T C A C C A T A T C A G T A G A C A C G T C C A A G A A C C A G T T C T C C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C C G C C G C G G A C A C G G C G G T G T A C T A C T G C G C C A G G G T C A G A T A C G A C A G C A G C G A C T C C T A C T A C T A T A G C T A C G A T T A T G G A A T G G A C G T A T G G G G C C A G G G A A C A A C T G T C A C C G T C T C C T C A
1 5 7	CDRH1 IMGT (Prot)	G G S F S R Y V
1 5 8	CDRH1 Kabat (Prot)	R Y V W S
1 5 9	CDRH1 Chot hia (Prot)	G G S F S R
1 6 0	CDRH2 IMGT (Prot)	I D S S G K T
1 6 1	CDRH2 Kabat (Prot)	E I D S S G K T N Y N P S L K S
1 6 2	CDRH2 Chot hia (Prot)	D S S G K
1 6 3	CDRH3 IMGT (Prot)	A R V R Y D S S D S Y Y Y S Y D Y G M D V
1 6 4	CDRH3 Kabat (Prot)	V R Y D S S D S Y Y Y S Y D Y G M D V
1 6 5	CDRH3 Chot hia (Prot)	V R Y D S S D S Y Y Y S Y D Y G M D V
1 6 6	軽鎖可変ドメイン	D I V L T Q S P D S L A V S L G E R A T I N C K S S Q S V L Y S S N N K N Y L A W Y Q Q K P G Q P P K L L I Y W A S S R E S G V P D R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q A E D V A V Y Y C Q Q S Y S F P W T F G G G T K V E I K
1 6 7	VL (DNA)	G A C A T C G T G C T G A C C C A G T C T C C A G A C T C C C T G G C T G T G T C T C T G G G C G A G A G G G C C A C C A T C A A C T G C A A G T C C A G C C A G A G T G T T T

10

20

30

40

50



		TATACAGCTCCAACAATAAGAA CTACTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAGC TGCTCATTTACTGGGCATCTAG CCGGGAATCCGGGGTCCCTGAC CGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCAT CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGAT GTGGCAGTTTATTACTGTTCAGC AGTCCTACTCCTTCCCTTGGAC TTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAA	10
168	CDRL1 IMGT (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
169	CDRL1 Kabat (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
170	CDRL1 Chothia (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
171	CDRL2 IMGT (Prot)	WASSRES	20
172	CDRL2 Kabat (Prot)	WASSRES	
173	CDRL2 Chothia (Prot)	WASSRES	
174	CDRL3 IMGT (Prot)	QQSYSFPWT	
175	CDRL3 Kabat (Prot)	QQSYSFPWT	
176	CDRL3 Chothia (Prot)	QQSYSFPWT	30

【 0 1 4 8 】

表 1 2 : 例示的な抗体配列 9 (A b 9)

配列番号	説明	配列
177	重鎖可変ドメイン	QVQLQQWGAGLLKPSSETLSLTC AVYGGSFSGYAWSWIRQPPGKG LEWIGEIDHRGFTNYNPSLKS VTISVDTSKNQFSLKLSVTA DTAVYYCARVRYDSSDSYYSY DYGMDVWGQGTTVTVSS
178	VH (DNA)	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGG GCGCAGGACTGTTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGC GCTGTCTATGGTGGGTCTTCT CCGGTTACGCATGGAGCTGGAT CCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGG CTGGAGTGGATTGGGGAAATCG ACCATCGAGGATTCACCAACTA CAACCCGTCCCTCAAGAGTCGA GTCACCATATCAGTAGACACGT CCAAGAACCAGTTCTCCCTGAA GCTGAGCTCTGTGACCGCCGCG GACACGGCGGTGTACTACTGCG CCAGGGTCAGATACGACAGCAG CGACTCCTACTACTATAGCTAC GATTATGGAATGGACGTATGGG GCCAGGGAACAACCTGTCACCGT CTCCTCA
179	CDRH1 IMGT (Prot)	GGSFSGYA
180	CDRH1 Kabat (Prot)	GYAWS
181	CDRH1 Chot hia (Prot)	GGSFSG
182	CDRH2 IMGT (Prot)	IDHRGFT
183	CDRH2 Kabat (Prot)	EIDHRGFTNYNPSLKS
184	CDRH2 Chot hia (Prot)	DHRGF
185	CDRH3 IMGT (Prot)	ARVRYDSSDSYYSYDYGMDV
186	CDRH3 Kabat (Prot)	VRYDSSDSYYSYDYGMDV
187	CDRH3 Chot hia (Prot)	VRYDSSDSYYSYDYGMDV
188	軽鎖可変ドメイン	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASSRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISLQAED VAVYYCQQSYSFPWTFGGGTKV EIK
189	VL (DNA)	GACATCGTGCTGACCCAGTCTC CAGACTCCCTGGCTGTGTCTCT GGGCGAGAGGGCCACCATCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGTTT

10

20

30

40

50

		TATACAGCTCCAACAATAAGAA CTACTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAGC TGCTCATTTACTGGGCATCTAG CCGGGAATCCGGGGTCCCTGAC CGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCAT CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGAT GTGGCAGTTTATTACTGT CAGC AGTCCTACTCCTTCCCTTGGAC TTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAA	10
190	CDRL1 IMGT (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
191	CDRL1 Kabat (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
192	CDRL1 Chothia (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
193	CDRL2 IMGT (Prot)	WASSRES	20
194	CDRL2 Kabat (Prot)	WASSRES	
195	CDRL2 Chothia (Prot)	WASSRES	
196	CDRL3 IMGT (Prot)	QQSYSFPWT	
197	CDRL3 Kabat (Prot)	QQSYSFPWT	
198	CDRL3 Chothia (Prot)	QQSYSFPWT	30

【 0 1 4 9 】

表 13 : 例示的な抗体配列 10 (Ab10)

配列番号	説明	配列
199	重鎖可変ドメイン	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTC AVYGGSFQKYYWSWIRQPPGKG LEWIGEIDTSGFTNYPNPSLKS VTISVDTSKNQFSLKLSVTA DTAVYYCARVGRYSYGYIITAF DIWGQGTTVTVSS
200	VH (DNA)	CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGG GCGCAGGACTGTTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGC GCTGTCTATGGTGGGTCTCTCC AAAAATACTACTGGAGCTGGAT CCGCCAGCCCCCAGGGAAAGGG CTGGAGTGGATTGGGGAAATCG ACACCAGTGGATTACCAACTA CAACCCGTCCCTCAAGAGTCGA GTCACCATATCAGTAGACACGT CCAAGAACCAGTTCTCCTGAA GCTGAGCTCTGTGACCGCCGCG GACACGGCGGTGTACTACTGCG CCAGAGTGGGAAGGTACAGCTA CGGATACTATATCACCGCATTC GACATATGGGGTTCAGGGTACAA CTGTACCCGTCTCCTCA
201	CDRH1 IMGT (Prot)	GGSFQKYY
202	CDRH1 Kabat (Prot)	KYYWS
203	CDRH1 Chot hia (Prot)	GGSFQK
204	CDRH2 IMGT (Prot)	IDTSGFT
205	CDRH2 Kabat (Prot)	EIDTSGFTNYPNPSLKS
206	CDRH2 Chot hia (Prot)	DTSGF
207	CDRH3 IMGT (Prot)	ARVGRYSYGYIITAFDI
208	CDRH3 Kabat (Prot)	VGRYSYGYIITAFDI
209	CDRH3 Chot hia (Prot)	VGRYSYGYIITAFDI
210	軽鎖可変ドメイン	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAED VAVYYCQQHYSFPFTFGGGTKV EIK
211	VL (DNA)	GACATCGTGATGACCCAGTCTC CAGACTCCCTGGCTGTGTCTCT GGGCGAGAGGGCCACCATCAAC TGCAAGTCCAGCCAGAGTGT TATACAGCTCCAACAATAAGAA

10

20

30

40

50

		CTACTTAGCTTGGTACCAGCAG AAACCAGGACAGCCTCCTAAGC TGCTCATTACTGGGCATCTAC CCGGGAATCCGGGGTCCCTGAC CGATTTCAGTGGCAGCGGGTCTG GGACAGATTTCACTCTCACCAT CAGCAGCCTGCAGGCTGAAGAT GTGGCAGTTTATTACTGT CAGC AGCACTACTCCTTCCCTTTT CAC TTTTGGCGGAGGGACCAAGGTT GAGATCAA	10
212	CDRL1 IMGT (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
213	CDRL1 Kabat (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
214	CDRL1 Chothia (Prot)	KSSQSVLYSSNNKNYLA	
215	CDRL2 IMGT (Prot)	WASTRES	
216	CDRL2 Kabat (Prot)	WASTRES	20
217	CDRL2 Chothia (Prot)	WASTRES	
218	CDRL3 IMGT (Prot)	QQHYSFPFT	
219	CDRL3 Kabat (Prot)	QQHYSFPFT	
220	CDRL3 Chothia (Prot)	QQHYSFPFT	

30

## 【0150】

本開示は、抗CD20結合モチーフと、第2の標的抗原又はエピトープ、例えばCD20ではない抗原（例えば、CD19）に結合する第2の結合モチーフを含む抗体及び抗原結合系を含む。二重標的化抗原結合系は、二重特異性CAR及びバイシストロン性CARを含む。多くの抗原結合モチーフが知られている。様々な実施形態では、第2の標的抗原はCD19である。本明細書は、限定されるものではないが、5T4、フェトプロテイン、B細胞成熟抗原（BCMA）、CA-125、癌胎児性抗原、CD19、CD20、CD22、CD23、CD30、CD33、CD56、CD123、CD138、c-Met、CSPG4、C型レクチン様分子1（CLL-1）、EGFRvIII、上皮性腫瘍抗原、ERBB2、FLT3、葉酸結合タンパク質、GD2、GD3、HER1-HER2の組合せ、HER2-HER3の組合せ、HER2/Neu、HERV-K、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp120、IL-11R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、MUC-1、突然変異p53、突然変異ras、前立腺特異抗原、ROR1、VEGFR2、又はそれらの組合せである第2の抗原を含む、様々な第2の標的抗原を含む。したがって、様々な実施形態では、本開示の抗原結合系又は抗体は、抗CD20結合モチーフである第1の結合モチーフと、5T4、フェトプロテイン、B細胞成熟抗原（BCMA）、CA-125、癌胎児性抗原、CD19、CD20、CD22、CD23、CD30、CD33、CD56、CD123、CD138、c-Met、CSPG4、C型レクチン様分子1（CLL-1）、EGFRvIII、上皮性腫瘍抗原、ERBB2、FLT3、葉酸結合タンバ

40

50

ク質、GD2、GD3、HER1-HER2の組合せ、HER2-HER3の組合せ、HER2/Neu、HERV-K、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp120、IL-11R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、MUC-1、突然変異p53、突然変異ras、前立腺特異抗原、ROR1、VEGFR2、EphA3 (EPH受容体A3)、BAFFR (B細胞活性化因子受容体)、又はそれらの組合せである第2の抗原に結合する第2の結合モチーフとを含み得る。幾つかの実施形態では、第2の抗原は、B細胞又はそのサブセットに特徴的な抗原であり、任意に第2の抗原は、CD19又はCD20ではない。これらの第2の抗原を標的とする結合モチーフの例は知られている及び/又は本明細書に示されている。

#### 【0151】

幾つかの場合には、抗CD20結合モチーフ(例えば、本開示の重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメインを含む)と、抗CD19結合モチーフ(例えば、本開示の重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメインを含む)とを含む二重特異性CAR等の抗原結合系において、抗CD20結合モチーフ(又はその重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメイン)は、抗CD19結合モチーフ(又はその重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメイン)よりもキメラ抗原受容体のC末端に近い。幾つかの場合には、抗CD20結合モチーフ(例えば、本開示の重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメインを含む)と、抗CD19結合モチーフ(例えば、本開示の重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメインを含む)とを含む二重特異性CAR等の抗原結合系において、抗CD20結合モチーフ(又はその重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメイン)は、抗CD19結合モチーフ(又はその重鎖可変ドメイン及び/又は軽鎖可変ドメイン)よりも作用物質のN末端に近い。

#### 【0152】

CD19(分化クラスター19、Bリンパ球抗原CD19、Bリンパ球表面抗原B4、B4、CVI D3、分化抗原CD19としても知られる)は、ヒトにおいてCD19遺伝子によってコードされるタンパク質である。別段の指示がない限り、本開示におけるCD19についての言及はヒトCD19に関連することが理解されるべきである。CD19はB細胞の表面上に見られる。CD19の発現はB細胞の証であるため、CD19は、抗原として、例えば、B細胞及びB細胞から生ずる癌細胞、例えば、B細胞リンパ腫の認識において有用であり得る。抗CD19抗体は、例えば、幾つかの非限定的な例を示すと、末梢血及び脾臓におけるBリンパ球、B細胞慢性リンパ球性白血病(B-CLL)細胞、前リンパ球性白血病(PLL)細胞、有毛細胞性白血病(HCL)細胞、共通急性リンパ芽球性白血病(CALL)細胞、プレB細胞急性リンパ芽球性白血病(pre-B-ALL)細胞、及びヌル細胞型急性リンパ芽球性白血病(NULL-ALL)細胞上に発現されるCD19に結合し得る。抗CD19結合モチーフを含む抗原結合系を含む例示的な医薬製品は、医薬製品YESCARTA(商標)である。YESCARTA(商標)は、特定不能のびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、縦隔原発大細胞型B細胞リンパ腫、高悪性度B細胞リンパ腫、及び濾胞性リンパ腫に起因するDLBCLを含む、2ライン以上の全身療法後の再燃性又は難治性大細胞型B細胞リンパ腫を伴う成人患者の治療に適応されるCD19指向性遺伝子改変自家T細胞免疫療法薬である(免疫療法に関連する方法及び組成物に関して、引用することによりその全体が本明細書の一部をなすYESCARTA(商標)のFDA承認の添付文書を参照のこと)。抗CD19結合モチーフを含む抗原結合系を含む別の例示的な医薬製品は、医薬製品KYMRIAH(商標)である。KYMRIAH(商標)は、(1)難治性又は2回目以降の再燃にある前駆B細胞急性リンパ芽球性白血病(ALL)を伴う25歳までの患者、並びに(2)特定不能のびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)、高悪性度B細胞リンパ腫、及び濾胞性リンパ腫に起因するDLBCLを含む、2ライン以上の全身療法後の再燃性又は難治性(r/r)大細胞型B細胞リンパ腫を伴う成人患者の治療に適応されるCD19指向性遺伝子改変自家T細胞免疫療法薬である(免疫療法に関連する方法及び組成物に関して、引用することによりその全体が本明細書の一部をなすKYMRIAH(商標)のFDA承認の添付文書

10

20

30

40

50

を参照のこと)。

【0153】

YESCARTA (商標) 及び KYMRIAH (商標) の両者とも、抗ヒトCD19抗体から誘導される抗体結合ドメインを含む。多くの抗CD19抗体は、CD19遺伝子のエクソン4にコードされているCD19のエピトープに結合すると考えられている。他の抗CD19結合モチーフは、CD19の異なるエピトープ、又は異なる親和性を有する同じエピトープを認識し得る。抗原結合系は、例えば、SJ25C1に由来する抗原結合ドメインを含み得る。CD19抗体であるクローンSJ25C1は、Sp2/0マウス骨髄腫細胞とNALM1細胞及びNALM16細胞で免疫化されたBALB/cマウスから分離された脾臓細胞とのハイブリダイゼーションから得られる。SJ25C1抗原結合ドメインは、他の治験中のCD19標的化キメラ抗原受容体(CAR)T細胞療法で使用された。

10

【0154】

本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に記載される抗体に見られる抗原結合配列を含み得る。幾つかの実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される抗原結合フラグメントを含む。

【0155】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される少なくとも1つのHC DR、例えば、表14に開示される少なくとも1つのHC DRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される2つのHC DR、例えば、表14に開示される少なくとも2つのHC DRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される3つのHC DR、例えば、表14に開示される3つのHC DRを含む。

20

【0156】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される少なくとも1つのLC DR、例えば、表14に開示される少なくとも1つのLC DRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される2つのLC DR、例えば、表14に開示される少なくとも2つのLC DRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される3つのLC DR、例えば、表14に開示される3つのLC DRを含む。

30

【0157】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される少なくとも1つのHC DR、例えば、表14に開示される少なくとも1つのHC DRと、本明細書に示される少なくとも1つのLC DR、例えば、表14に開示される少なくとも1つのLC DRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される2つのHC DR、例えば、表14に開示される少なくとも2つのHC DRと、本明細書に示される2つのLC DR、例えば、表14に開示される少なくとも2つのLC DRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に示される3つのHC DR、例えば、表14に開示される3つのHC DRと、本明細書に示される3つのLC DR、例えば、表14に開示される3つのLC DRとを含む。

40

【0158】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも1つの重鎖フレームワーク領域(重鎖FR)、例えば、表14に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも1つの重鎖FRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの2つの重鎖FR、例えば、表14に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも2つの重鎖FRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの3つの重鎖FR、例えば、表14に開示される重鎖可変ドメインの3つの重鎖FRを含む。

【0159】

50

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも1つの軽鎖FR、例えば、表14に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも1つの軽鎖FRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの2つの軽鎖FR、例えば、表14に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも2つの軽鎖FRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの3つの軽鎖FR、例えば、表14に開示される軽鎖可変ドメインの3つの軽鎖FRを含む。

#### 【0160】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも1つの重鎖FR、例えば、表14に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも1つの重鎖FRと、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも1つの軽鎖FR、例えば、表14に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも1つの軽鎖FRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの2つの重鎖FR、例えば、表14に開示される重鎖可変ドメインの少なくとも2つの重鎖FRと、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの2つの軽鎖FR、例えば、表14に開示される軽鎖可変ドメインの少なくとも2つの軽鎖FRとを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本明細書に開示される重鎖可変ドメインの3つの重鎖FR、例えば、表14に開示される重鎖可変ドメインの3つの重鎖FRと、本明細書に開示される軽鎖可変ドメインの3つの軽鎖FR、例えば、表14に開示される軽鎖可変ドメインの3つの軽鎖FRとを含む。

10

20

#### 【0161】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、一緒に又はそれぞれ個別に、表14に開示される重鎖可変ドメインの対応するFR（複数の場合もある）に対して少なくとも75%の同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）を有する1つ、2つ、又は3つのFRを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、一緒に又はそれぞれ個別に、表14に開示される軽鎖可変ドメインの対応するFR（複数の場合もある）に対して少なくとも75%の同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）を有する1つ、2つ、又は3つのFRを含む。

30

#### 【0162】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、表14に開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）を有する少なくとも1つの重鎖可変ドメインを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、表14に開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%の同一性）をそれぞれ有する2つの重鎖可変ドメインを含み、これらの重鎖可変ドメインは同一又は相違し得る。

40

#### 【0163】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、表14に開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性（例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は9

50



5%～100%の同一性)を有する少なくとも1つの軽鎖可変ドメインを含む。様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、表14に開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)をそれぞれ有する2つの軽鎖可変ドメインを含み、これらの軽鎖可変ドメインは同一又は相違し得る。

【0164】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、表14に開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)を有する少なくとも1つの重鎖可変ドメインと、表14に開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)を有する少なくとも1つの軽鎖可変ドメインとを含む。

10

【0165】

様々な実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、表14に開示される重鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)をそれぞれ有する2つの重鎖可変ドメインと、表14に開示される軽鎖可変ドメインに対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)をそれぞれ有する2つの軽鎖可変ドメインとを含み、ここで、様々な実施形態では、(i)重鎖可変ドメインのそれぞれは同一若しくは相違し得るか、又は(ii)軽鎖可変ドメインのそれぞれは同一若しくは相違し得る。

20

30

【0166】

或る特定の実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメインと、本開示の軽鎖可変ドメインと、配列番号247に対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)を有するリンカーを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、配列番号247によるリンカー及び/又は配列番号307～配列番号313のいずれか1つによるリンカーを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメインと、本開示の軽鎖可変ドメインと、配列番号245に対して少なくとも75%の配列同一性(例えば、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は100%、例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%の同一性)を有するリーダー配列とを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、配列番号245によるCSF2RAリーダー配列を含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、本開示の抗CD19結合モチーフは、本開示の重鎖可変ドメインと、本開示の軽鎖可変ドメインと、本開示のリンカーと、本開示のリーダー配列とを含む結合モチーフを含む。或る特定の実施形態では、結合モチーフは、配列番号243に示される配列を有する。抗CD19結合モチーフ及びその構成要素をコードする例示的なヌクレオチド配列は、配列番号244、

40

50

配列番号 2 4 6 及び配列番号 2 4 8 に見られる。様々な実施形態では、結合モチーフは、1 つ以上の追加のリンカーに隣接する、配列番号 2 4 7 によるリンカー及び / 又は配列番号 3 0 7 ~ 配列番号 3 1 3 のいずれか 1 つによるリンカーを含み得る。

## 【 0 1 6 7 】

表 1 4 : 例示的な抗 CD 1 9 抗体配列 ( A b 1 1 )

配列番号	説明	配列
2 2 1	重鎖可変ドメイン	EVK L Q E S G P G L V A P S Q S L S V T C T V S G V S L P D Y G V S W I R Q P P R K G L E W L G V I W G S E T T Y Y N S A L K S R L T I I K D N S K S Q V F L K M N S L Q T D D T A I Y Y C A K H Y Y Y G G S Y A M D Y W G Q G T S V T V S S
2 2 2	VH (DNA)	G A G G T G A A A C T G C A G G A G T C A G G A C C T G G C C T G G T G G C G C C C T C A C A G A G C C T G T C C G T C A C A T G C A C T G T C T C A G G G G T C T C A T T A C C C G A C T A T G G T G T A A G C T G G A T T C G C C A G C C T C C A C G A A A G G G T C T G G A G T G G C T G G G A G T A A T A T G G G G T A G T G A A A C C A C A T A C T A T A A T T C A G C T C T C A A A T C C A G A C T G A C C A T C A T C A A G G A C A A C T C C A A G A G C C A A G T T T T C T T A A A A A T G A A C A G T C T G C A A A C T G A T G A C A C A G C C A T T T A C T A C T G T G C C A A A C A T T A T T A C T A C G G T G G T A G C T A T G C T A T G G A C T A C T G G G G T C A A G G A A C C T C A G T C A C C G T C T C C T C A
2 2 3	CDRH1 I MGT (Prot)	G V S L P D Y G
2 2 4	CDRH1 K abat (Prot)	D Y G V S
2 2 5	CDRH1 C hothia (Prot)	G V S L P D Y
2 2 6	CDRH2 I MGT (Prot)	I W G S E T T
2 2 7	CDRH2 K abat (Prot)	V I W G S E T T Y Y N S A L K S
2 2 8	CDRH2 C hothia (Prot)	W G S E T
2 2 9	CDRH3 I MGT (Prot)	A K H Y Y Y G G S Y A M D Y
2 3 0	CDRH3 K abat (Prot)	H Y Y Y G G S Y A M D Y
2 3 1	CDRH3 C hothia (Prot)	H Y Y Y G G S Y A M D Y
2 3 2	軽鎖可変ドメイン	D I Q M T Q T T S S L S A S L G D R V T I S C R A S Q D I S K Y L N W Y Q Q K P D G T V K L L I Y H T S R L H S G V P S R F S G S G S G T D Y S L T I S N L E Q E D I A T Y F C Q Q G N T L P Y T F G G G T K L E I T

10

20

30

40

50

233	VL (DNA)	GACATCCAGATGACACAGACTACAT CCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGA CAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCA AGTCAGGACATTAGTAAATATTTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGG AACTGTTAAACTCCTGATCTACCAT ACATCAAGATTACACTCAGGAGTCC CATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTC TGGAACAGATTATTCTCTCACCAT AGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTG CCACTTACTTTTGGCCAACAGGGTAA TACGCTTCCGTACACGTTCTGGAGGG GGGACTAAGTTGGAATAACA	10
234	CDRL1 I MGT (Prot)	RASQDISKYLN	
235	CDRL1 K abat (Prot)	RASQDISKYLN	
236	CDRL1 C hothia (Prot)	RASQDISKYLN	
237	CDRL2 I MGT (Prot)	HTSRLHS	
238	CDRL2 K abat (Prot)	HTSRLHS	20
239	CDRL2 C hothia (Prot)	HTSRLHS	
240	CDRL3 I MGT (Prot)	QQGNTLPYT	
241	CDRL3 K abat (Prot)	QQGNTLPYT	
242	CDRL3 C hothia (Prot)	QQGNTLPYT	
243	結合モチーフ (Prot)	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGSTSVTVSS	30
244	結合モチーフ (DNA)	gacatccagatgacacagactacat cctccctgtctgcctctctctgggaga cagagtcaccatcagttgcagggca agtcaggacattagttaaataatttaa attggtatcagcagaaaccagatgg	40

10

20

30

40

50

		<pre> a a c t g t t a a a c t c c t g a t c t a c c a t a c a t c a a g a t t a c a c t c a g g g a g t c c c a t c a a g g t t c a g t g g c a g t g g g t c t g g a a c a g a t t a t t c t c t c a c c a t t a g c a a c c t g g a g c a a g a a g a t a t t g c c a c t t a c t t t t g c c a a c a g g g t a a t a c g c t t c c g t a c a c g t t c g g a g g g g g g a c t a a g t t g g a a a t a a c a g g c t c c a c c t c t g g a t c c g g c a a g c c c g g a t c t g g c g a g g g a t c c a c c a a g g g c g a g g t g a a a c t g c a g g a g t c a g g a c c t g g c c t g g t g g c g c c c t c a c a g a g c c t g t c c g t c a c a t g c a c t g t c t c a g g g g t c t c a t t a c c c g a c t a t g g t g t a a g c t g g a t t c g c c a g c c t c c a c g a a a g g g t c t g g a g t g g c t g g g a g t a a t a t g g g g t a g t g a a a c c a c a t a c t a t a a t t c a g c t c t c a a a t c c a g a c t g a c c a t c a t c a a g g a c a a c t c c a a g a g c c a a g t t t t c t t a a a a t g a a c a g t c t g c a a a c t g a t g a c a c a g c c a t t t a c t a c t g t g c c a a a c a t t a t t a c t a c g g t g g t a g c t a t g c t a t g g a c t a c t g g g g t c a a g g a a c c t c a g t c a c c g t c t c c t c a </pre>	10
245	リーダー (CSF2RA) (Prot)	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIIP	
246	リーダー (CSF2RA) (DNA)	<pre> a t g c t t c t c c t g g t g a c a a g c c t t c t g c t c t g t g a g t t a c c a c a c c c a g c a t t c c t c c t g a t c c c a </pre>	30
247	リンカー (Prot)	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	
248	リンカー (DNA)	<pre> g g c t c c a c c t c t g g a t c c g g c a a g c c c g g a t c t g g c g a g g g a t c c a c c a a g g g c </pre>	

【0168】

抗原結合系は、例として、二重特異性キメラ抗原受容体 (CAR) 及びバイシストロン性キメラ抗原受容体 (CAR) を含む。本開示は、とりわけ、CD20 及び第2の標的抗原、例えばCD19の両方を標的とする抗原結合系を提供する。幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、二重特異性抗原結合系を含む。幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、バイシストロン性抗原結合系 (例えば、第1のCAR及び第2のCARを含み、第1のCAR及び第2のCARが同じ細胞で発現される系) を含む。バイシストロン性CARは、単一のベクターによってコードされる異なる標的に結合する2つのCARを含み得る。バイシストロン性CARは、抗CD19結合モチーフを含む第1のCARと、抗CD20結合モチーフを含む第2のCARとを含み得る。様々なCARフレームワークと結び付けられた結合モチーフは交換可能であり、本実施例に示される特徴の組合せは例示的なものであって、限定するものではない。幾つかの実施形態では、バイシストロン性CARの第1のCAR及び第2のCAR (例えば、抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR) は、別個の遺伝子によってコードされ、及び/又は別個のmRNA分子として

40

50

発現される。幾つかの実施形態では、バイシストロン性CARの第1のCAR及び第2のCAR（例えば、抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR）は、単一の遺伝子によってコードされ、及び/又は単一のmRNA分子において一緒に発現され、ここで、発現されるタンパク質は、第1のCAR、切断可能なリンカードメイン、及び第2のCARを含む。バイシストロン性CARの第1のCAR及び第2のCARは一般に、免疫細胞、例えば、CAR-T細胞において一緒に発現されるため、個々のCAR-T細胞は、標的抗原のそれぞれ（例えば、CD20及びCD19のそれぞれ）を標的とするCARを発現した。

#### 【0169】

様々な実施形態では、バイシストロン性CARベクターは、リボソームスキップ配列又は内部リボソーム進入部位を利用する。リボソームスキップ配列によって隔離された2つの独立したCAR分子をコードする単一のベクターは、バイシストロン性CARを発現し得る。様々な実施形態では、バイシストロン性CARは、第1のCAR及び第2のCARを含み、ここで、第1のCAR及び第2のCARの配列は、結合モチーフに関してのみ相違する。様々な実施形態では、バイシストロン性CARは、第1のCAR及び第2のCARを含み、ここで、第1のCAR及び第2のCARの配列は、重鎖可変ドメイン配列及び/又は軽鎖可変ドメイン配列に関してのみ相違する。したがって、幾つかの実施形態では、バイシストロン性CARの第1のCAR及び第2のCARは、その1つ以上の構成要素、例えば、同じ又は異なる共刺激ドメインのいずれか又は全てについて同じ又は異なる配列を有し得る。例えば、バイシストロン性CARの第1のCAR及び第2のCARの一方又は両方は、CD28共刺激ドメイン、41BB共刺激ドメイン、OX40共刺激ドメイン、又はICOS共刺激ドメイン等の本明細書に示される共刺激ドメインを含み得る。

#### 【0170】

バイシストロン性CARのCARは、結合モチーフと、ヒンジと、膜貫通ドメインと、共刺激ドメイン及び活性化ドメインを含む細胞内ドメインとを含み得る。結合モチーフは、本開示の抗CD19結合モチーフ又は抗CD20結合モチーフであり得る。ヒンジ及び膜貫通ドメインは、ヒンジドメイン及び膜貫通ドメインを含む28T（CD28）ドメイン又はCD8Kドメインであり得る。共刺激ドメインは、CD28共刺激ドメイン又は41BB共刺激ドメインであり得る。活性化ドメインはCD3ζ活性化ドメインであり得る。

#### 【0171】

幾つかの実施形態では、第1の結合モチーフ及び第2の結合モチーフ（例えば、別個の抗CD20結合モチーフ及び抗CD19結合モチーフ）は両者とも、単一の二重特異性CARに含まれる。そのような二重特異性CARにおいて、CAR分子自体は、2つ以上の抗原を認識するように操作され得る。タンデム二重特異性CARでは、第1の結合モチーフ及び第2の結合モチーフは細胞外にあり、膜近位結合モチーフ及び膜遠位結合モチーフとして特徴付けられ得る。幾つかの実施形態では、抗CD20結合モチーフは膜近位であり、抗CD19結合モチーフは膜遠位である。他の実施形態では、抗CD19結合モチーフは膜遠位であり、抗CD20結合モチーフは膜近位である。

#### 【0172】

キメラ抗原受容体（CAR）は、選択された抗原を標的とするようにT細胞（例えば、患者T細胞又はドナーT細胞）を誘導又はリダイレクトすることができる操作された受容体である。CARは、抗原を認識し、その抗原に結合したときに免疫細胞を活性化して、その抗原を有する細胞を攻撃及び破壊するように操作され得る。これらの抗原が腫瘍細胞上に存在する場合に、CARを発現する免疫細胞は、該腫瘍細胞を標的として殺傷することができる。CARは一般に、抗原結合を媒介する細胞外結合モチーフ（例えば、抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD19結合モチーフ）と、抗原結合系が細胞表面又は細胞膜に存在する場合に細胞膜にまたがる又は細胞膜にまたがると理解される膜貫通ドメインと、細胞内（又は細胞質）シグナル伝達ドメインとを含む。

#### 【0173】

少なくとも1つの非限定的な見地によれば、CAR組成物の少なくとも3つの「世代」が存在している。第1世代のCARにおいて、結合モチーフ（例えば、単鎖フラグメント可変結合モチーフ）は、任意にヒンジドメイン及び1つ以上のスペーサーを含む膜貫通ドメインを介してシグナル伝達ドメイン（例えば、CD3）に連結又は接続される。第2世代のCARでは、シグナル伝達ドメイン（例えば、CD3）とともに共刺激ドメイン（CM1、例えば、CD28、4-1BB、又はOX-40）が導入される。第3世代のCARでは、第2の共刺激ドメイン（CM2）が含まれる。

【0174】

TCRは、鎖及び鎖から構成されるヘテロ二量体である。TCRシグナル伝達は、免疫シナプスを生成するシグナル伝達タンパク質の動員を必要とする。さらに、原形質膜でのTCRの局在は、T細胞で発現されるCD3複合体に依存する。操作された単鎖TCRは、例えば、CARコンストラクトの膜貫通ドメイン及びシグナル伝達ドメインを使用して作製され得る。そのための方法及びコンストラクトは知られている（例えば、sTCR及びTCR-CAR分子、例えば、TCR鎖とCD28TM及びCD28及びCD3シグナル伝達モジュールとの融合）。本開示の抗CD20抗原結合系及び/又は抗CD19抗原結合系は、CD20及び/又はCD19に結合する1つ以上の抗原結合モチーフを含み得る。幾つかの実施形態では、抗原結合系は、共刺激ドメイン、及び/又は細胞外ドメイン（例えば、「ヒンジ」又は「スペーサー」領域）、及び/又は膜貫通ドメイン、及び/又は細胞内（シグナル伝達）ドメイン、及び/又はCD3若しくはCD3活性化ドメインを更に含む。幾つかの実施形態では、本開示の抗CD20抗原結合系及び/又は抗CD19抗原結合系は、少なくとも、ヒトCD20に結合する結合モチーフと、共刺激ドメインと、細胞外ドメインと、膜貫通ドメインと、CD3又はCD3活性化ドメインとを含む。

【0175】

幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、リーダーペプチド（P）、結合モチーフ（B）、共刺激タンパク質の細胞外ドメイン（E）、膜貫通ドメイン（T）、共刺激ドメイン（C）、第2の共刺激ドメイン（C'）、及び活性化ドメイン（A）の1つ以上又は全てを含む抗原結合系を含み得る。幾つかの場合には、抗原結合系は、以下：B E T Aに従って構成される。幾つかの場合には、抗原結合系は、以下：P B E T Aに従って構成される。幾つかの場合には、抗原結合系は、以下：B E T C Aに従って構成される。幾つかの場合には、抗原結合系は、以下：P B E T C Aに従って構成される。幾つかの場合には、抗原結合系は、以下：B E T C C' Aに従って構成される。幾つかの場合には、抗原結合系は、以下：P B E T C C' Aに従って構成される。幾つかの実施形態では、抗原結合系はVH及びVLを含み、任意にCARは、以下：P-VH-VL-E-T-C-A、又はP-VL-VH-E-T-C-Aに従って構成される。幾つかの実施形態では、VH及びVLはリンカー（L）によって接続されており、任意にCARは、以下：（N末端からC末端に向かって）P-VH-L-VL-E-T-C-A、又はP-VH-L-VL-E-T-C-Aに従って構成される。

【0176】

1つ以上の抗原結合モチーフが、抗原結合系の標的（複数の場合もある）を決定する。抗原結合系の結合モチーフは、あらゆる結合モチーフ、例えば、本開示によって提供される抗体、例えば、本開示の結合モチーフを含み得る。幾つかの実施形態では、結合モチーフは、抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD19結合モチーフを含み得る。幾つかの実施形態では、結合モチーフは、抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD19結合モチーフを含み得る。

【0177】

結合モチーフは、これらが他のCAR構成要素と一緒に単鎖の部分として発現されるように操作され得るため、キメラ抗原受容体において少なくとも部分的に使用される。例えば、米国特許第7,741,465号及び同第6,319,494号、並びにEshhar et

al., *Cancer Immunol Immunotherapy* (1997) 45: 131-136, Krause et al., *J. Exp. Med.*, Volume 188, No. 4, 1998 (619-626), Finney et al., *Journal of Immunology*, 19

98, 161: 2791-2797 (これらはそれぞれ、CAR中の結合モチーフドメインに関して、引用することにより本明細書の一部をなす)を参照されたい。結合モチーフ又はscFvは、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインとが一緒に連結又は接続されている単鎖抗原結合フラグメントである。例えば、米国特許第7,741,465号及び同第6,319,494号、並びにEshhar et al., *Cancer Immunol Immunotherapy* (1997) 45: 131-136 (これらはそれぞれ、結合モチーフドメイ

10

ンに関して、引用することにより本明細書の一部をなす)を参照されたい。親抗体から誘導される場合に、結合モチーフは、標的抗原の親抗体の結合の一部を保持し得るか、全てを保持し得るか、又はその結合を本質的に保持し得る。

#### 【0178】

ヒンジは、結合モチーフと膜貫通ドメインとの間に位置する抗原結合系の細胞外ドメインであり得る。ヒンジは、細胞外ドメイン又は「スペーサー」とも呼称され得る。ヒンジは、受容体の発現、活性、及び/又は安定性に寄与し得る。幾つかの実施形態では、ヒンジドメインは、結合モチーフと膜貫通ドメインとの間に位置している。ヒンジはまた、標的抗原に到達するための柔軟性を与え得る。ヒンジは、免疫グロブリン様ヒンジドメインを含む。

20

#### 【0179】

幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、免疫グロブリン様ヒンジドメインであるか、それに由来するか、又はそれから誘導される(例えば、その全て又は断片を含む)ヒンジを含み得る。幾つかの実施形態では、ヒンジドメインは、免疫グロブリンに由来するか、又は免疫グロブリンから誘導される。幾つかの実施形態では、ヒンジドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgD、IgE、若しくはIgMのヒンジ、又はそれらの断片から選択される。

#### 【0180】

ヒンジは、天然源又は合成源から誘導され得る。幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、CD2、CD3、CD3、CD3、CD4、CD7、CD8、CD8、CD11a(ITGAL)、CD11b(ITGAM)、CD11c(ITGAX)、CD11d(ITGAD)、CD18(ITGB2)、CD19(B4)、CD27(TNFRSF7)、CD28、CD28T、CD29(ITGB1)、CD30(TNFRSF8)、CD40(TNFRSF5)、CD48(SLAMF2)、CD49a(ITGA1)、CD49d(ITGA4)、CD49f(ITGA6)、CD66a(CEACAM1)、CD66b(CEACAM8)、CD66c(CEACAM6)、CD66d(CEACAM3)、CD66e(CEACAM5)、CD69(CLEC2)、CD79A(B細胞抗原受容体複合体関連鎖)、CD79B(B細胞抗原受容体複合体関連鎖)、CD84(SLAMF5)、CD96(Tactile)、CD100(SEMA4D)、CD103(ITGAE)、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD150(SLAMF1)、CD158A(KIR2DL1)、CD158B1(KIR2DL2)、CD158B2(KIR2DL3)、CD158C(KIR3DP1)、CD158D(KIRD4)、CD158F1(KIR2DL5A)、CD158F2(KIR2DL5B)、CD158K(KIR3DL2)、CD160(BY55)、CD162(SELPLG)、CD226(DNAM1)、CD229(SLAMF3)、CD244(SLAMF4)、CD247(CD3)、CD258(LIGHT)、CD268(BAFFR)、CD270(TNFSF14)、CD272(BTLA)、CD276(B7-H3)、CD279(PD-1)、CD314(NKG2D)、CD319(SLAMF7)、CD335(NK-p46)、CD336(NK-p44)、CD337(NK-p30)、CD352(SLAMF6)、CD353(SLA

30

40

50

M F 8 )、C D 3 5 5 ( C R T A M )、C D 3 5 7 ( T N F R S F 1 8 )、誘導性 T 細胞共刺激因子 ( I C O S )、L F A - 1 ( C D 1 1 a / C D 1 8 )、N K G 2 C、D A P - 1 0、I C A M - 1、N K p 8 0 ( K L R F 1 )、I L - 2 R、I L - 2 R、I L - 7 R、L F A - 1、S L A M F 9、L A T、G A D S ( G r p L )、S L P - 7 6 ( L C P 2 )、P A G 1 / C B P、C D 8 3 リガンド、F c 受容体、M H C クラス 1 分子、M H C クラス 2 分子、T N F 受容体タンパク質、免疫グロブリンタンパク質、サイトカイン受容体、インテグリン、活性化 N K 細胞受容体、若しくは T o L L リガンド受容体であるか、それらに由来するか、若しくはそれらから誘導される ( 例えば、それらの全て又は断片を含む ) 又はそれらの断片若しくは組合せであるヒンジを含み得る。或る特定の実施形態では、C A R は C D 2 8 ヒンジを含まない。

10

## 【 0 1 8 1 】

幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、C D 8 のヒンジであるか、それに由来するか、又はそれから誘導される ( 例えば、その全て又は断片を含む ) ヒンジを含み得る。幾つかの実施形態では、ヒンジは、C D 2 8 のヒンジであるか、それに由来するか、又はそれから誘導される。幾つかの実施形態では、ヒンジは、C D 8 のヒンジの断片又は C D 2 8 のヒンジの断片であるか、それらに由来するか、又はそれから誘導され、ここで、断片は全体よりも小さいものである。幾つかの実施形態では、C D 8 ヒンジの断片又は C D 2 8 ヒンジの断片は、C D 8 ヒンジ又は C D 2 8 ヒンジの N 末端又は C 末端又はその両方の少なくとも 1 アミノ酸、少なくとも 2 アミノ酸、少なくとも 3 アミノ酸、少なくとも 4 アミノ酸、少なくとも 5 アミノ酸、少なくとも 6 アミノ酸、少なくとも 7 アミノ酸、少なくとも 8 アミノ酸、少なくとも 9 アミノ酸、少なくとも 1 0 アミノ酸、少なくとも 1 1 アミノ酸、少なくとも 1 2 アミノ酸、少なくとも 1 3 アミノ酸、少なくとも 1 4 アミノ酸、少なくとも 1 5 アミノ酸、少なくとも 1 6 アミノ酸、少なくとも 1 7 アミノ酸、少なくとも 1 8 アミノ酸、少なくとも 1 9 アミノ酸、又は少なくとも 2 0 アミノ酸を除くアミノ酸配列を含む。例示的なヒンジ配列は、表 5 4 に示されるヒンジ配列 ( 配列番号 2 6 1 ~ 配列番号 2 6 9 ) を含む。

20

## 【 0 1 8 2 】

これらのヒンジドメインのポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列は知られている。幾つかの実施形態では、ヒンジドメインをコードするポリヌクレオチドは、既知のヌクレオチド配列に対して少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 6 5 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、又は約 1 0 0 % ( 例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % ) 同一のヌクレオチド配列を含む。幾つかの実施形態では、ヒンジドメインのポリペプチド配列は、既知のポリペプチド配列に対して少なくとも約 6 0 %、少なくとも約 6 5 %、少なくとも約 7 0 %、少なくとも約 7 5 %、少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、又は約 1 0 0 % ( 例えば、8 5 % ~ 9 0 %、8 5 % ~ 9 5 %、8 5 % ~ 1 0 0 %、9 0 % ~ 9 5 %、9 0 % ~ 1 0 0 %、又は 9 5 % ~ 1 0 0 % ) 同一のポリペプチド配列を含む。

30

40

## 【 0 1 8 3 】

概して、( 例えば、抗原結合系の ) 「膜貫通ドメイン」は、細胞表面の分子又は細胞膜に存在する ( 例えば、細胞膜の一部又は全部にまたがる ) 場合に、膜内に存在するという特質を有するドメインを指す。本開示の抗原結合系についての共刺激ドメインは、膜貫通ドメイン及び / 又は細胞内シグナル伝達ドメインを更に含み得る。膜貫通ドメインにおける全てのアミノ酸が膜内に存在することは必要ない。例えば、幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、タンパク質の指定されたストレッチ又は部分が実質的に膜内に位置することを特徴とする。タンパク質の細胞内局在 ( 例えば、膜貫通局在 ) を予測する様々なアルゴリズムを使用して、アミノ酸配列又は核酸配列を分析することができる。プログラム

50



psort (PSORT.org) 及び Prosite (prosite.expasy.org) が、そのような

プログラムの例である。

【0184】

本明細書に記載される抗原結合系に含まれる膜貫通ドメインの種類は、いかなる種類にも限定されない。幾つかの実施形態では、結合モチーフ及び/又は細胞内ドメインに天然に結び付けられている膜貫通ドメインが選択される。幾つかの場合には、膜貫通ドメインは、例えば、同じ又は異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへのそのようなドメインの結合を避けて、受容体複合体の他の構成員との相互作用を最小限に抑えるために、1つ以上のアミノ酸の修飾(例えば、欠失、挿入、及び/又は置換)を含む。

10

【0185】

膜貫通ドメインは、天然源又は合成源のいずれかから誘導され得る。起源が天然であれば、ドメインは、あらゆる膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質から誘導され得る。例示的な膜貫通ドメインは、T細胞受容体の鎖、鎖、若しくは鎖、CD28、CD3、CD3、CD3、CD45、CD4、CD5、CD7、CD8、CD8、CD8、CD9、CD11a、CD11b、CD11c、CD11d、CD16、CD22、CD27、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、TNFSFR25、CD154、4-1BB/CD137、活性化NK細胞受容体、免疫グロブリンタンパク質、B7-H3、BAFFR、BLAME(SLAMF8)、BTLA、CD100(SEMA4D)、CD103、CD160(BY55)、CD18、CD19、CD19a、CD2、CD247、CD276(B7-H3)、CD29、CD30、CD40、CD49a、CD49D、CD49f、CD69、CD84、CD96(Tactile)、CDS、CEACAM1、CRTAM、サイトカイン受容体、DAP-10、DNAM1(CD226)、Fc受容体、GADS、GITR、HVEM(LIGHTR)、IA4、ICAM-1、ICAM-1、Ig(CD79a)、IL-2R、IL-2R、IL-7R、誘導性T細胞共刺激因子(ICOS)、インテグリン、ITGA4、ITGA4、ITGA6、ITGAD、ITGAE、ITGAL、ITGAM、ITGAX、ITGB2、ITGB7、ITGB1、KIRDS2、LAT、LFA-1、LFA-1、CD83と結合するリガンド、LIGHT、LIGHT、LTBR、Ly9(CD229)、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1; CD11a/CD18)、MHCクラス1分子、NKG2C、NKG2D、NKp30、NKp44、NKp46、NKp80(KLRF1)、OX-40、PAG/Cbp、プログラム死-1(PD-1)、PSGL1、SELP(LG(CD162)、シグナル伝達リンパ球活性化分子(SLAMタンパク質)、SLAM(SLAMF1; CD150; IPO-3)、SLAMF4(CD244; 2B4)、SLAMF6(NTB-A; Ly108)、SLAMF7、SLP-76、TNF受容体タンパク質、TNFR2、TNFSF14、Tollリガンド受容体、TRANCE/RANKL、VLA1、若しくはVLA-6、又はそれらの断片、短縮物若しくは組合せから誘導され得る(例えば、少なくともそれらの膜貫通ドメインを含み得る)。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、合成物であり得る(そして、例えば、ロイシン及びバリン等の主に疎水性の残基を含み得る)。幾つかの実施形態では、合成による膜貫通ドメインの各末端にフェニルアラニン、トリプトファン、及びバリンのトリプレットが含まれる。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインは、細胞質ドメインに直接的に連結又は接続されている。幾つかの実施形態では、短いオリゴペプチドリンカー又はポリペプチドリンカー(例えば、2アミノ酸から10アミノ酸の間の長さ)が、膜貫通ドメインと細胞内ドメインとの間の連結を形成し得る。幾つかの実施形態では、リンカーはグリシン-セリンダブレットである。

20

30

40

【0186】

本明細書に示される膜貫通ドメインのポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列は知られている。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインをコードするポリヌクレオチドは、既知のヌクレオチド配列に対して少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも

50

約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、又は約 100% (例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は 95%~100%) 同一のヌクレオチド配列を含む。幾つかの実施形態では、膜貫通ドメインのポリペプチド配列は、既知のポリペプチド配列に対して少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、又は約 100% (例えば、85%~90%、85%~95%、85%~100%、90%~95%、90%~100%、又は 95%~100%) 同一のポリペプチド配列を含む。任意に、短いスペーサーが、CAR の細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び細胞内ドメインの全て又は一部の間の連結を形成し得る。

10

#### 【0187】

細胞内ドメイン (又は細胞質ドメイン) は、標的抗原が結合モチーフに結合した際に、例えば、1つ以上の免疫細胞エフェクター機能 (例えば、ネイティブな免疫細胞エフェクター機能) を活性化する細胞内シグナルを惹起及び/又は媒介する1つ以上のシグナル伝達ドメインを含む。幾つかの実施形態では、細胞内ドメインのシグナル伝達ドメインは、免疫細胞の正常なエフェクター機能の少なくとも1つの活性化を媒介する。T細胞のエフェクター機能は、例えば、細胞溶解活性又はサイトカインの分泌を含むヘルパー活性であり得る。幾つかの実施形態では、細胞内ドメインのシグナル伝達ドメインは、T細胞の活性化、増殖、生存、及び/又は他のT細胞機能を媒介する。細胞内ドメインは、活性化ドメインであるシグナル伝達ドメインを含み得る。細胞内ドメインは、共刺激シグナル伝達ドメインであるシグナル伝達ドメインを含み得る。

20

#### 【0188】

抗原が免疫細胞に結合した際にシグナルを伝達し得る細胞内シグナル伝達ドメインは知られており、そのいずれも本開示の抗原結合系に含まれ得る。例えば、T細胞受容体 (TCR) の細胞質配列は、TCRが抗原に結合した後にシグナル伝達を開始することが知られている (例えば、Brownlie et al., Nature Rev. Immunol. 13:257-269 (2013) を参照されたい)。

#### 【0189】

幾つかの実施形態では、シグナル伝達ドメイン及び/又は活性化ドメインは、免疫受容体チロシン活性化モチーフ (ITAM) を含む。細胞質シグナル伝達配列を含む ITAM の例は、TCR、FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD5、CD22、CD79a、CD79b、及び CD66d から誘導されるものを含む (例えば、Love et al., Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2:a002485 (2010)、Smith-Garvin et al., Annu. Rev. Immunol. 27:591-619 (2009) を参照されたい)。

30

#### 【0190】

或る特定の実施形態では、好適なシグナル伝達ドメインとしては、限定されるものではないが、4-1BB/CD137、活性化NK細胞受容体、免疫グロブリンタンパク質、B7-H3、BAFFR、BLAME (SLAMF8)、BTLA、CD100 (SEMA4D)、CD103、CD160 (BY55)、CD18、CD19、CD19a、CD2、CD247、CD27、CD276 (B7-H3)、CD28、CD29、CD3、CD3、CD30、CD4、CD40、CD49a、CD49D、CD49f、CD69、CD7、CD84、CD8、CD8、CD96 (Tactile)、CD11a、CD11b、CD11c、CD11d、CDS、CEACAM1、CRTAM、サイトカイン受容体、DAP-10、DNAM1 (CD226)、Fc受容体、GADS、GITR、HVEM (LIGHTR)、IA4、ICAM-1、ICAM-1、Ig (CD79a)、IL-2R、IL-2R、IL-7R、誘導性T細胞共刺激分子 (ICOS)、インテグリン、ITGA4、ITGA4、ITGA6、IT

40

50

GAD、ITGAE、ITGAL、ITGAM、ITGAX、ITGB2、ITGB7、ITGB1、KIRDS2、LAT、LFA-1、LFA-1、CD83と結合するリガンド、LIGHT、LIGHT、LTBR、Ly9(CD229)、Ly108)、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1;CD11a/CD18)、MHCクラス1分子、NKG2C、NKG2D、Nkp30、Nkp44、Nkp46、Nkp80(KLRF1)、OX-40、PAG/Cbp、プログラム細胞死-1(PD-1)、PSGL1、SELP(LG(CD162)、シグナル伝達リンパ球活性化分子(SLAMタンパク質)、SLAM(SLAMF1;CD150;IPO-3)、SLAMF4(CD244;2B4)、SLAMF6(NTB-A、SLAMF7、SLP-76、TNF受容体タンパク質、TNFR2、TNFSF14、Tollリガンド受容体、TRANSC/RANKL、VLA1若しくはVLA-6、又はそれらの断片、短縮物若しくは組合せが挙げられる。

#### 【0191】

CARに共刺激シグナル伝達ドメインを含めることで、例えば、シグナル伝達能を高めることができる。米国特許第7,741,465号及び同第6,319,494号と並んで、Krause et al.及びFinney et al.(上記参照)、Song et al., Blood 119:696-706 (2012)、Kalos et al., Sci Transl. Med. 3:95 (2011)、Porter et al., N. Engl. J. Med. 365:725-33 (2011)、並びにGross et al., Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 56:59-83 (2016)を参照されたい。TCRのみにより生成されたシグナルは、T細胞の完全な活性化には不十分である場合があり、二次シグナル又は共刺激シグナルが活性化を高めることができる。したがって、幾つかの実施形態では、シグナル伝達ドメインは、1つ以上の免疫細胞エフェクター機能(例えば、本明細書に記載されるネイティブな免疫細胞エフェクター機能)を活性化する1つ以上の追加のシグナル伝達ドメイン(例えば、共刺激シグナル伝達ドメイン)を更に含む。幾つかの実施形態では、そのような共刺激シグナル伝達ドメインの一部は、その部分がエフェクター機能シグナルを伝達する限り使用され得る。幾つかの実施形態では、本明細書に記載される細胞質ドメインは、T細胞補助受容体(又はその断片)の1つ以上の細胞質配列を含む。このようなT細胞補助受容体の非限定的な例としては、CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、MYD88、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、及びCD83と結合するリガンドが挙げられる。例示的な共刺激タンパク質は、T細胞上に天然に見られる共刺激タンパク質のアミノ酸配列を有し、その共刺激タンパク質の完全なネイティブなアミノ酸配列は、NCBI参照配列:NP\_006130.1に記載されている。或る特定の場合には、CARは、以下に示される配列番号270による配列によってコードされる41BB共刺激ドメインを含む。

#### 【0192】

配列番号270

```
AGATTCAGCGTTGTGAAGAGAGGCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGCC
CTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCC
CCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTACAGCAGGAGCGCCGAC
GCCCCTGCCTACCAGCAAGGACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAG
ACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGAGGGCAGAGACCCCGAGATGGGCG
GCAAACCTAGAAGAAAGAACCCCGAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCCAGAAGGAC
AAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAA
GGGCCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAAAGGACACCTACGACG
CCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCTAGATGATTAATTAatcgat
```

#### 【0193】

本明細書に示されるシグナル伝達ドメインのポリヌクレオチド配列及びポリペプチド配列は知られている。幾つかの実施形態では、シグナル伝達ドメインをコードするポリヌクレオチドは、既知のヌクレオチド配列に対して少なくとも約60%、少なくとも約65%

、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、  
 、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%  
 、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、又は約 100%（例えば、85%～90%  
 、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%  
 ～100%）同一のヌクレオチド配列を含む。幾つかの実施形態では、シグナル伝達ドメ  
 インのポリペプチド配列は、既知のポリペプチド配列に対して少なくとも約 60%、少な  
 くとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少な  
 くとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少な  
 くとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、又は約 100%（例えば、  
 85%～90%、85%～95%、85%～100%、90%～95%、90%～100%、又は95%～100%）同一のポリペプチド配列を含む。 10

#### 【0194】

様々な実施形態では、例えば、抗原結合系の活性に起因する有害事象を最小限に抑える  
 又は減らすには、抗原結合系の活性を調節する（例えば、減少させる）機構が望ましい。  
 免疫細胞に誘導性の「オン」スイッチ又は「促進（accelerator）」スイッチを含めるこ  
 とも望ましい場合がある。適切な技術は、細胞が本開示のCARコンストラクトで形質導  
 入される前に、その後、又はそれと同時に、誘導性カスパーゼ-9（米国特許出願公開  
 第2011/0286980号）又はチミジンキナーゼを使用することを含む。自殺遺伝  
 子及び/又は「オン」スイッチを導入する追加の方法は、TALENS、ジnkフィンガ  
 ー、RNAi、siRNA、shRNA、アンチセンス技術、及び他の技術を含む。 20

#### 【0195】

本開示によれば、オン-オフ制御スイッチ技術又は他の種類の制御スイッチ技術は本明  
 細書の一部をなし得る。これらの技術は、例えば、或る特定の細胞におけるFKBP/R  
 apalog二量体化システムを利用するWu et al., Science 2014 350 (6258)  
 （その  
 内容は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）によって開示される二量  
 体化ドメイン及びそのようなドメインの二量体化の任意の活性化因子の使用を含み得る。  
 追加の二量体化技術は、例えば、Fegan et al. Chem. Rev. 2010, 110, 3315-33  
 36並びに米国特許第5,830,462号、同第5,834,266号、同第5,86  
 9,337号、及び同第6,165,787号（これらのそれぞれの内容も、二量体化技術 30  
 に関して、引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されている。追加の二量  
 体化ペアは、シクロスポリン-A/シクロフィリン受容体、エストロゲン/エストロゲン  
 受容体（任意に、タモキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、又はエンドキシフェ  
 ンを使用する）、グルココルチコイド/グルココルチコイド受容体、テトラサイクリン/  
 テトラサイクリン受容体、及び/又はビタミンD/ビタミンD受容体を含み得る。二量体  
 化技術の更なる例は、例えば、国際公開第2014/127261号、国際公開第201  
 5/090229号、米国特許出願公開第2014/0286987号、米国特許出願公  
 開第2015/0266973号、米国特許出願公開第2016/0046700号、米  
 国特許第8,486,693号、米国特許出願公開第2014/0171649号、及び  
 米国特許出願公開第2012/0130076号（これらの内容は更に、引用することによ  
 りその全体が本明細書の一部をなす）に見出すことができる。 40

#### 【0196】

幾つかの実施形態では、本開示の抗原結合系は、リーダーペプチド（本明細書では、「  
 シグナルペプチド」又は「リーダー配列」とも呼称される）を含む。或る特定の実施形態  
 では、リーダーペプチドは、アミノ酸配列MEWTWVFLFLLSVTAGVHS（配  
 列番号249）、MALPVTALLLPLALLLHAARP（配列番号250）、又  
 はMLLLVTSLLLCLELPHPAFLLIIP（配列番号295）に対して少なくと  
 も約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくと  
 も約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくと  
 も約 99%、又は 100%（例えば、85%～90%、85%～95%、85%～100% 50

%、90%~95%、90%~100%、又は95%~100%)同一のアミノ酸配列を含む。

【0197】

CARの構成要素を、バイオテクノロジーの定型的な技術を使用して同等の構成要素と交換する又は「入れ替える」ことができる。少数の非限定的かつ部分的な例を提供するために、本開示のCARは、本明細書に示されるヒンジ及び本明細書に示される共刺激ドメインと組み合わせて、本明細書に示される結合モチーフを含み得る。或る特定の例では、本開示のCARは、本明細書に示されるヒンジ及び本明細書に示される共刺激ドメインと組み合わせて、本明細書に示されるリーダー配列と一緒に本明細書に示される結合モチーフを含み得る。様々な実施形態では、本開示は、配列番号251~配列番号260のいずれか1つによる結合モチーフを、配列番号261~配列番号269のいずれか1つによるヒンジと組み合わせて(例えば、隣接して融合させて)、任意に配列番号270による41BB共刺激ドメインと更に組み合わせて(例えば、隣接して融合させて)提供する。それらの少数の非限定的な例は、配列番号271~配列番号290に示されている。

10

【0198】

バイシストロン性CARは、第1のCARと第2のCARとの間に切断可能なリンカーを含む単一のポリペプチドとして発現される第1のCAR配列及び第2のCAR配列を含み得る。例示的な切断可能なリンカーは、フーリン-GSG-T2Aである(例えば、切断可能なリンカーに関して、引用することにより本明細書の一部をなすChng et al. M Abs. 2015 Mar-Apr; 7(2): 403-412を参照されたい、またバイシストロン性CAR設計に関

20

して、引用することにより本明細書の一部をなすGuedan et al. Mol Ther Methods Clin Dev. 2019 Mar 15; 12: 145-156を参照されたい)。バイシストロン性CAR構造物の唯

一の非限定的な例を提供するために、バイシストロン性CARは、(a)(i)シグナルペプチド(例えば、CSF2RAシグナルペプチド)、(ii)抗CD19軽鎖可変ドメイン、(iii)リンカー(例えば、1つのG4Sリンカー又は複数のG4Sリンカー)、(iv)抗CD19重鎖可変ドメイン、(v)スペーサー又はヒンジ(例えば、CD28Tスペーサー)、(vi)膜貫通ドメイン(例えば、CD28膜貫通ドメイン)、(vii)共刺激ドメイン(例えば、CD28共刺激ドメイン)、(viii)刺激ドメイン(例えば、CD3z刺激ドメイン)を含む第1のCARと、(b)切断可能なリンカー(例えば、フーリンGSG-T2Aリンカー)と、(c)(i)シグナルペプチド(例えば、CD8aシグナルペプチド)、(ii)本開示の抗CD20重鎖可変ドメイン、(iii)リンカー(例えば、配列番号247によるリンカー及び/又は配列番号307~配列番号313のいずれか1つによるリンカー)、(iv)本開示の抗CD20軽鎖可変ドメイン、(v)スペーサー又はヒンジ(例えば、CD8aスペーサー)、(vi)膜貫通ドメイン(例えば、CD8膜貫通ドメイン)、(vii)共刺激ドメイン(例えば、41bb共刺激ドメイン)、及び(viii)刺激ドメイン(例えば、CD3z刺激ドメイン)を含む第2のCARとを含み得る。したがって、限定されるものではないが、例示的な抗CD20/抗CD19バイシストロン性CARは、配列番号291及び配列番号292に示されるヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を有し得る又はそれらを含み得る。

30

40

【0199】

二重特異性CARは、本開示の第1の結合モチーフと、抗CD19結合モチーフである第2の結合モチーフとを含む単一のポリペプチドであり得る。非限定的な例示的な実施形態では、二重特異性CARは、(i)リーダー(例えば、CSF2RAシグナルペプチド)と、(ii)本開示の抗CD20軽鎖可変ドメインと、(iii)リンカーと、(iv)抗CD20重鎖可変ドメインと、(v)リンカー(例えば、短縮されたリンカー)と、(vi)抗CD19軽鎖可変ドメインと、(vii)リンカーと、(viii)抗CD19重鎖可変ドメインと、(ix)細胞外ドメイン(例えば、CD28Tヒンジ又はIgG4ヒンジ)と、(x)膜貫通ドメイン(例えば、CD28膜貫通ドメイン)と、(xi)

50

細胞内領域（例えば、CD28細胞内共刺激ドメイン及び/又は41bb共刺激ドメイン）と、刺激ドメイン（例えば、CD3z刺激ドメイン）とを含み得る。したがって、限定されるものではないが、例示的な抗CD20/抗CD19二重特異性CARは、配列番号293～配列番号306に示されるヌクレオチド配列及びアミノ酸配列を有し得る又はそれらを含み得る。

#### 【0200】

限定されるものではないが、ヒンジ、スペーサー、膜貫通ドメイン、共刺激ドメイン、刺激ドメイン、結合モチーフ、及びそれぞれの変異体の配列を含む様々なCAR配列、構成要素、及び/又はフレームワークは知られており、所望の結合及び構成要素又は構造を有するCARは、例えば重鎖可変ドメイン配列又はCDR配列及び軽鎖可変ドメイン配列又はCDR配列が示されれば、容易に構築され得る。

10

#### 【0201】

本開示は、とりわけ、CD20及び第2の標的抗原、例えばCD19に結合する二重特異性抗体を提供する。二重特異性抗体は、第1の標的抗原に結合する第1の結合モチーフと、第2の標的抗原に結合する第2の結合モチーフとを有する抗体を含む。幾つかの実施形態では、二重特異性抗体は、本開示の抗CD20結合モチーフと、本開示の抗CD19結合モチーフとを含む。幾つかの実施形態では、二重特異性抗体は、本開示の抗CD20重鎖可変ドメイン及び本開示の抗CD20軽鎖可変ドメインを含む抗CD20結合モチーフと、抗CD19重鎖可変ドメイン及び抗CD19軽鎖可変ドメインを含む抗CD19結合モチーフとを含む。

20

#### 【0202】

本開示は、本開示の抗体が治療作用物質又は検出可能な部分と結び付けられているコンジュゲートを含む。様々な実施形態では、治療作用物質は、本明細書に示される抗癌剤である。或る特定の実施形態では、示されるコンジュゲートは、1つ以上の検出可能な部分を含む、すなわち、1つ以上のそのような部分で「標識」される。幾つかのそのような実施形態では、本開示のコンジュゲートは、診断又はイメージングの用途で、例えば、癌の診断又はイメージングにおいて有用である。本明細書に記載される標識抗体コンジュゲートにおいて、あらゆる多種多様な検出可能な部分を使用することができる。適切な検出可能な部分は、限定されるものではないが、様々なリガンド、放射性核種、蛍光色素、化学発光剤（例えば、アクリジニウムエステル、安定化ジオキセタン等）、生物発光剤、スペ

30

#### 【0203】

本開示は、本明細書に示される抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD19結合モチーフをコードする核酸を含む。本開示は、限定されるものではないが、結合モチーフ（例えば、抗CD20結合モチーフ及び抗CD19結合モチーフ）をコードする核酸を含む、本明細書に示される抗体をコードする核酸を含む。本開示は、限定されるものではないが、バイシストロン性キメラ抗原受容体及び二重特異性キメラ抗原受容体（例えば、CD20及びCD19に結合するバイシストロン性キメラ抗原受容体及び二重特異性キメラ抗原受容体）をコードする核酸を含む、本明細書に示される抗原結合系をコードする核酸を含む。配列番号2の核酸配列は、配列番号1及び配列番号3～配列番号11のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号13の核酸配列は、配列番号12及び配列番号14～配列番号22のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号24の核酸配列は、配列番号23及び配列番号25～配列番号33のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号35の核酸配列は、配列番号34及び配列番号36～配列番号44のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号46の核酸配列は、配列番号45及び配列番号47～配

40

50

列番号 55 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 57 の核酸配列は、配列番号 56 及び配列番号 58 ~ 配列番号 66 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 68 の核酸配列は、配列番号 67 及び配列番号 69 ~ 配列番号 77 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 79 の核酸配列は、配列番号 78 及び配列番号 80 ~ 配列番号 88 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 90 の核酸配列は、配列番号 89 及び配列番号 91 ~ 配列番号 99 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 101 の核酸配列は、配列番号 100 及び配列番号 102 ~ 配列番号 110 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 112 の核酸配列は、配列番号 111 及び配列番号 113 ~ 配列番号 121 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 123 の核酸配列は、配列番号 122 及び配列番号 124 ~ 配列番号 132 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 134 の核酸配列は、配列番号 133 及び配列番号 135 ~ 配列番号 143 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 145 の核酸配列は、配列番号 144 及び配列番号 146 ~ 配列番号 154 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 156 の核酸配列は、配列番号 155 及び配列番号 157 ~ 配列番号 165 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 167 の核酸配列は、配列番号 166 及び配列番号 168 ~ 配列番号 176 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 178 の核酸配列は、配列番号 177 及び配列番号 179 ~ 配列番号 187 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 189 の核酸配列は、配列番号 188 及び配列番号 190 ~ 配列番号 198 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 200 の核酸配列は、配列番号 199 及び配列番号 201 ~ 配列番号 209 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 211 の核酸配列は、配列番号 210 及び配列番号 212 ~ 配列番号 220 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。本開示は、本明細書に示される抗 CD 19 結合モチーフをコードする核酸を含む。配列番号 222 の核酸配列は、配列番号 221 及び配列番号 223 ~ 配列番号 231 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。配列番号 233 の核酸配列は、配列番号 232 及び配列番号 234 ~ 配列番号 242 のそれぞれに対応し、それらをコードする例示的な核酸配列を含み、そして提供する。

10

20

30

40

50

#### 【0204】

本開示は、本開示の核酸を含む及び/又は本開示のポリペプチドをコードするベクターを含む。様々な実施形態では、本開示は、本明細書に示される抗 CD 20 結合モチーフ及び/又は抗 CD 19 結合モチーフをコードする核酸を含むベクターを含む。様々な実施形態では、本開示は、限定されるものではないが、結合モチーフ分子（例えば、抗 CD 20 結合モチーフ又は抗 CD 19 結合モチーフ）をコードする核酸を含む、本明細書に示される抗体をコードする核酸を含むベクターを含む。様々な実施形態では、本開示は、限定されるものではないが、パイシストロン性キメラ抗原受容体又は二重特異性キメラ抗原受容体（例えば、CD 20 及び CD 19 に結合するパイシストロン性キメラ抗原受容体及び二重特異性キメラ抗原受容体）をコードする核酸を含む、本明細書に示される 1 つ以上の抗原結合系をコードする核酸を含むベクターを含む。

#### 【0205】

あらゆるベクターが本開示に適切であり得る。幾つかの実施形態では、ベクターはウイルスベクターである。幾つかの実施形態では、ベクターは、レトロウイルスベクター、DNA ベクター、マウス白血病ウイルスベクター、SFV ベクター、プラスミド、RNA ベ

クター、アデノウイルスベクター、バキュロウイルスベクター、エプスタインバールウイルスベクター、パポウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、単純ヘルペスウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス(AAV)、レンチウイルスベクター、又はそれらの任意の組合せである。好適な例示的なベクターとして、例えばpGAR、pBABE-puro、pBABE-neo largeTcDNA、pBABE-hygro-hTERT、pMKO.1 GFP、MSCV-IRES-GFP、pMSCV-PIG(Puro IRES GFP空プラスミド)、pMSCV-loxp-dsRed-loxp-eGFP-Puro-WPRE、MSCV IRES Luciferase、pMIG、MDH1-PGK-GFP\_2.0、TtRMPVIR、pMSCV-IRES-mCherry FP、pRetroX GFP T2A Cre、pRXTN、pLncEXP、及びpLXIN-Lucが挙げられる。

10

#### 【0206】

組換え発現ベクターは、あらゆる適切な組換え発現ベクターであり得る。適切なベクターは、プラスミド及びウイルス等の繁殖及び増殖若しくは発現又はその両方に向けて設計されたベクターを含む。例えば、ベクターは、pUCシリーズ(Fermentas Life Sciences、メリーランド州グレンバーニー)、pBluescriptシリーズ(Stratagene、カリフォルニア州ラホーヤ)、pETシリーズ(Novagen、ウィスコンシン州マディソン)、pGEXシリーズ(Pharmacia Biotech、スウェーデン、ウプサラ)、及びpEX

20

シリーズ(Clontech、カリフォルニア州パロアルト)から選択され得る。GT10、GT11、ZapII(Stratagene)、EMBL4、及びNM1149等のバクテリオファージベクターを使用することもできる。本開示の文脈において有用な植物発現ベクターの例としては、pBI01、pBI101.2、pBI101.3、pBI121、及びpBIN19(Clontech)が挙げられる。本開示の文脈において有用な動物発現ベクターの例としては、pcDNA、pEUK-C1、pMAM、及びpMAMneo(Clontech)が挙げられる。幾つかの実施形態では、抗原結合系をコードする核酸及び本明細書に記載される誘導性発現コンストラクトの両方を含めるために、(例えば、Clontechからの)バイシストロン性IRESベクターが使用される。

30

#### 【0207】

幾つかの実施形態では、組換え発現ベクターはウイルスベクターである。適切なウイルスベクターとしては、限定されるものではないが、レトロウイルスベクター、アルファウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、ヘルペスウイルスベクター、及び鶏痘ウイルスベクターが挙げられ、好ましくは、免疫細胞(例えば、T細胞)を形質転換する天然の能力又は操作された能力を有する。

#### 【0208】

組換え発現ベクターは、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 2001、及びAusubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and John Wiley & Sons, NY, 1994に記載される標準的な組換えDNA技術を使用して調製され得る。環状又は線状である発現ベクターのコンストラクトは、原核性宿主細胞又は真核性宿主細胞において機能する複製系を含むように調製され得る。複製系は、例えば、ColE1、2µプラスミド、SV40、ウシパピローマウイルス等から誘導され得る。

40

#### 【0209】

組換え発現ベクターは、形質転換又はトランスフェクションされた宿主の選択を可能に

50



する1つ以上のマーカー遺伝子を含み得る。マーカー遺伝子は、殺生物剤耐性、例えば、抗生物質、重金属等に対する耐性、栄養要求性宿主において原栄養性を与える相補等を含む。組換え発現ベクターに適したマーカー遺伝子は、例えば、ネオマイシン/G418耐性遺伝子、ピューロマイシン耐性遺伝子、ハイグロマイシン耐性遺伝子、ヒスチジノール耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、及びアンピシリン耐性遺伝子を含む。

#### 【0210】

本開示の文脈において有用なベクターは、「裸の」核酸ベクター（すなわち、これらを封入するタンパク質、糖類、及び/又は脂質をほとんど又は全く有しないベクター）、又は他の分子と複合体を形成したベクターであり得る。ベクターと適切に組み合わせることができる他の分子としては、限定されるものではないが、ウイルスコート、カチオン性脂質、リポソーム、ポリアミン、金粒子、及び細胞分子を標的とするリガンド、受容体、又は抗体等の標的化部分が挙げられる。

10

#### 【0211】

慣用の形質転換技術、トランスフェクション技術、又は形質導入技術を介して、ベクターDNAを細胞、例えば免疫細胞に導入することができる。「形質転換」及び「トランスフェクション」という用語は、リン酸カルシウム共沈又は塩化カルシウム共沈、DEAE-デキストラン媒介性トランスフェクション、リポフェクション、遺伝子銃、ナノ粒子媒介送達、又はエレクトロポレーション等の、外来核酸（例えば、DNA）を細胞に導入する様々な当該技術分野で認められた技術を包含する。形質導入は、例えば、限定されるものではないが、レトロウイルス、レンチウイルス、及びAAVを含む、本明細書に開示されるベクターによる細胞へのベクターのウイルス性送達を含む。

20

#### 【0212】

本開示は、本開示の少なくとも1つのベクター又は核酸を含むか、発現するか、又はそれらを含む若しくは発現するように操作される（例えば、形質転換又は形質導入される）細胞を含む。幾つかの実施形態では、方法は、少なくとも1つの抗原結合系をコードするポリヌクレオチドを含むベクターで細胞を形質導入することを含む。本開示は、本開示の1つ以上のポリペプチドをコードする少なくとも1つのベクターを含む又は該ベクターを含むように形質転換される細胞を含む。本開示は、本明細書に示される抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD19結合モチーフをコードする少なくとも1つのベクターを含む又は該ベクターを含むように形質転換される細胞を含む。本開示は、限定されるものではないが、結合モチーフ分子（例えば、抗CD20結合モチーフ又は抗CD19結合モチーフ）を含む、本明細書に示される抗体をコードする少なくとも1つのベクターを含む又は該ベクターを含むように形質転換される細胞を含む。本開示は、限定されるものではないが、バイシストロン性キメラ抗原受容体又は二重特異性キメラ抗原受容体（例えば、CD20及びCD19に結合するバイシストロン性キメラ抗原受容体又は二重特異性キメラ抗原受容体）を含む、本明細書に示される1つ以上の抗原結合系をコードする少なくとも1つのベクターを含む又は該ベクターを含むように形質転換される細胞を含む。幾つかの実施形態では、細胞は、それぞれのベクターが異なるCARをコードする2つのベクターで同時トランスフェクション又は同時形質導入され、それら2つの異なるCARが一緒になってバイシストロン性CARとなる。一緒になってバイシストロン性CARとなる2つの異なるCARをコードする2つの異なるベクターによる細胞のトランスフェクション又は形質導入は、単一の細胞集団に対して同時に行われ得るか、2つの異なる細胞集団に対して同時に、それぞれの集団が2つのベクターのうちの一つだけで形質導入されるように行われ得るか、又は2つの異なる細胞集団に対して独立して、それぞれが2つのベクターのうちの一つだけで形質導入されるように行われ得る。

30

40

#### 【0213】

本開示は、本開示の1つ以上のポリペプチドを含む細胞を含む。本開示は、本明細書に示される抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD19結合モチーフを含む（例えば、発現する）細胞を含む。本開示は、限定されるものではないが、結合モチーフ（例えば、抗CD20結合モチーフ又は抗CD19結合モチーフ）を含む、本明細書に示される抗体を

50

含む（例えば、発現する）細胞を含む。本開示は、限定されるものではないが、バイシストロン性キメラ抗原受容体又は二重特異性キメラ抗原受容体（例えば、CD20及びCD19に結合するバイシストロン性キメラ抗原受容体及び二重特異性キメラ抗原受容体）を含む、本明細書に示される1つ以上の抗原結合系を含む（例えば、発現する）細胞を含む。

【0214】

他の態様では、本開示のポリヌクレオチド又はベクターを含む細胞が本明細書に示されている。幾つかの実施形態では、本開示は、本明細書に開示される1つ又は2つのscfvを含むCAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを含む細胞、例えば、*in vitro*細胞を対象とする。他の実施形態では、本開示は、本明細書に開示される1つ又は2つのscfvを含むCAR又はTCRによってコードされるポリペプチドを含む細胞、例えば、*in vitro*細胞を対象とする。幾つかの実施形態では、ポリペプチドは、以下に示されるアミノ酸配列、又はそれらの任意の組合せを含む。

10

【0215】

配列番号232（抗CD19 scFv軽鎖）：

【0216】

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSG  
VPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT

【0217】

配列番号221（抗CD19 scFv重鎖）：

20

【0218】

EVKLQESGPGPLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETT  
YYNSALKSRLTIKDNSKQVFLKMNSLQTDDETAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQG  
TSVTVSS

【0219】

配列番号56（抗CD20軽鎖）：

【0220】

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSINSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSLADPFTFGGGTKVEIK

【0221】

30

配列番号45（抗CD20重鎖）：

【0222】

QLQLQESGPGPLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGS  
TYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARETDYSSGMGYGMDVW  
GQGTTVTVSS

【0223】

配列番号56（抗CD20 scFv2軽鎖）：

【0224】

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSINSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSLADPFTFGGGTKVEIK

40

【0225】

配列番号155（抗CD20 scFv2重鎖）：

【0226】

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFVSRVYVSWIRQPPGKGLEWIGWIGIDSSGK  
TNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARVRYDSSDSYYSYDYG  
MDVWGQGTTVTVSS

【0227】

配列番号144（抗CD20 scFv3軽鎖）：

【0228】

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA

50

SSRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQSYSPFWTFGGGKVEIK

【0229】

配列番号177（抗CD20 s c F v 3重鎖）：

【0230】

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVAVYGGSFSGYAWSWIRQPPGKGLEWIGEIDHRGF  
TNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARVRYDSSDSYYSYDYG  
MDVWGQGTTVTVSS

【0231】

配列番号78（抗CD20 s c F v 4軽鎖）：

【0232】

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV  
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYRFPPTFGQGKVEIK

【0233】

配列番号67（抗CD20 s c F v 4重鎖）：

【0234】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFKEYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYSG  
HTYYAQLKQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGPHYDDWSGFIIWF  
DPWGQGTLLVTVSS

【0235】

いずれの細胞も本開示のポリヌクレオチド、ペプチド又はポリペプチドに対する宿主細胞として使用され得る。幾つかの実施形態では、細胞は、原核細胞、真菌細胞、酵母細胞、又は哺乳動物細胞等のより高等な真核細胞であってもよい。好適な原核細胞としては、限定されずに、グラム陰性又はグラム陽性の生物等の真正細菌、例えばエンテロバクテラシエ（*Enterobacteriaceae*：腸内細菌科）、例えばエシェリヒア（*Escherichia*）、例えばE. コリ；エンテロバクター（*Enterobacter*）；エルウィニア（*Erwinia*）；クレブシエ

ラ（*Klebsiella*）；プロテウス（*Proteus*）；サルモネラ（*Salmonella*）、例えばサルモ

ネラ・チフィムリウム（*Salmonella typhimurium*）；セラチア（*Serratia*）、例えばセラチア・マルセッセンス（*Serratia marcescans*）及びシゲラ（*Shigella*）；B

. サチリス（*subtilis*）及びB. リケニフォルミス（*licheniformis*）等の桿菌；P. アエルギノ

ザ（*aeruginosa*）等のシュードモナス；及びストレプトマイセス（*Streptomyces*）等が挙げられる。幾つかの実施形態では、細胞はヒト細胞である。幾つかの実施形態では、細胞は免疫細胞である。幾つかの実施形態では、免疫細胞は、T細胞、B細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、TCR発現細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、樹状細胞、顆粒球、生得のリンパ系細胞、巨核球、単球、マクロファージ、血小板、胸腺細胞、及び骨髄性細胞からなる群から選択される。一実施形態では、免疫細胞はT細胞である。別の実施形態では、免疫細胞はNK細胞である。或る特定の実施形態では、T細胞は、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、自己T細胞、操作された自己T細胞（eACT（商標））、同種異系T細胞、異種性T細胞、又はそれらの任意の組合せである。

【0236】

キメラ抗原受容体（CAR又はCAR-T）及び操作されたT細胞受容体（TCR）は免疫細胞、例えばT細胞に容易に挿入され、該免疫細胞、例えばT細胞によって発現されて、結合作用物質が生産され得る。或る特定の実施形態では、細胞（例えば、T細胞等の免疫細胞）は、ドナー被験体から得られる。幾つかの実施形態では、ドナー被験体は、癌又は腫瘍に罹患しているヒト患者である。他の実施形態では、ドナー被験体は、癌又は腫瘍に罹患していないヒト患者である。幾つかの実施形態では、操作された細胞は被験体に対して自家である。幾つかの実施形態では、操作された細胞は被験体に対して同種異系で

10

20

30

40

50

ある。

【0237】

本開示の細胞を、当該技術分野で知られている任意の供給源によって得ることができる。例えば、T細胞は、*in vitro*で造血幹細胞集団から分化されてもよく、又はT細胞は被験体から得られてもよい。T細胞は、例えば末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位に由来する組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍から得られてもよい。さらに、T細胞は、当該技術分野において利用可能な1以上のT細胞株に由来し得る。また、T細胞は、FICOLL（商標）分離及び/又はアフレーシス等の当業者に知られている数多くの技術を使用して被験体から収集された血液単位から得られてもよい。或る特定の実施形態では、アフレーシスによって収集された細胞を洗浄して血漿画分を除去し、後の処理に適切なバッファー又は培地に入れる。幾つかの実施形態では、細胞をPBSで洗浄する。理解されるように、洗浄工程は、例えばCobe（商標）2991細胞処理装置、Baxter Cytomate（商標）等の半自動フロールー遠心分離機等を使用することによって使用され得る。幾つかの実施形態では、洗浄された細胞を1以上の生体適合性のバッファー、又はバッファーを含む若しくは含まない他の生理食塩水溶液に再懸濁する。或る特定の実施形態では、アフレーシス試料の望ましくない成分が除去される。T細胞療法用にT細胞を単離する追加の方法は、米国特許出願公開第2013/0287748号に開示され、その全体が引用することにより本明細書の一部をなす。

10

【0238】

或る特定の実施形態では、T細胞は、例えばPERCOLL（商標）勾配による遠心分離を使用することによる赤血球の溶解及び単球の枯渇によってPBMSから単離される。幾つかの実施形態では、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup>、CD45RA<sup>+</sup>及びCD45RO<sup>+</sup>のT細胞等のT細胞の特定の亜集団は、当該技術分野において知られている正又は負の選択技術によって更に単離される。例えば、負の選択によるT細胞集団の富化は、負に選択される細胞に特有の表面マーカーに対する抗体の組合せによって遂行され得る。幾つかの実施形態では、負に選択される細胞に存在する細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体のカクテルを使用する負の磁気免疫付着（negative magnetic immunoadherence）又はフローサイトメトリーによる細胞の選別及び/又は選択を使用することができる。

20

30

例えば、負の選択によってCD4<sup>+</sup>細胞を富化するため、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、CD8、CD11b、CD14、CD16、CD20及びHLA-DRに対する抗体を含む。或る特定の実施形態では、フローサイトメトリー及び細胞選別は、本開示における使用に対する目的の細胞集団を単離するために使用される。

【0239】

幾つかの実施形態では、PBMCは、本明細書に記載される方法を使用して、免疫細胞（CAR又はTCR等）により遺伝子修飾に直接使用される。或る特定の実施形態では、PBMCを単離した後、Tリンパ球を更に単離し、遺伝子修飾及び/又は拡大の前又は後のいずれかに、細胞傷害性Tリンパ球とヘルパーTリンパ球の両方を、ナイーブ、メモリー、及びエフェクターのT細胞亜集団へと選別する。

40

【0240】

幾つかの実施形態では、CD8<sup>+</sup>細胞は、これら各種のCD8<sup>+</sup>細胞と関連する細胞表面抗原を同定することによって、ナイーブ細胞、セントラルメモリー細胞、及びエフェクター細胞へと更に選別される。幾つかの実施形態では、セントラルメモリーT細胞の表現型マーカーの発現は、CCR7、CD3、CD28、CD45RO、CD62L、及びCD127を含み、グランザイムBに対して陰性である。幾つかの実施形態では、セントラルメモリーT細胞は、CD8<sup>+</sup>、CD45RO<sup>+</sup>及びCD62L<sup>+</sup>のT細胞である。幾つかの実施形態では、エフェクターT細胞は、CCR7、CD28、CD62L及びCD127に対して陰性であり、グランザイムB及びパーフォリンに対して陽性である。或る特定の実施形態では、CD4<sup>+</sup>T細胞は亜集団へと更に選別される。例えば、CD4<sup>+</sup>ヘル

50

パーT細胞は、細胞表面抗原を有する細胞集団を同定することによって、ナイーブ細胞、セントラルメモリー細胞及びエフェクター細胞へと選別され得る。

#### 【0241】

幾つかの実施形態では、免疫細胞、例えばT細胞は、単離に続いて、既知の方法を使用して遺伝子修飾されるか、又は遺伝子修飾に先だつて *in vitro* で免疫細胞が活性化され、拡大される（すなわち、前駆細胞の場合、分化される）。別の実施形態では、免疫細胞、例えばT細胞は、本明細書に記載されるキメラ抗原受容体によって遺伝子修飾され（例えば、CARをコードする1以上のヌクレオチド配列を含むウイルスベクターによって形質導入される）、次いで *in vitro* で活性化及び/又は拡大される。T細胞を活性化及び拡大する方法は当該技術分野において知られており、例えば米国特許第6,905,874号、同第6,867,041号、及び同第6,797,514号、並びにPCT公報国際公開第2012/079000号に記載され、それらの内容は、それらの全体が引用することにより本明細書の一部をなす。一般的には、かかる方法は、PBM C又は単離されたT細胞と、一般的にはビーズ又は他の表面に付着された抗CD3抗体及び抗CD28抗体等の刺激物質及び共刺激物質とを、IL-2等の適切なサイトカインを含む培養培地中で接触させることを含む。同じビーズに付着された抗CD3抗体及び抗CD28抗体は、「代理」抗原提示細胞（APC）としての役割を果たす。一例は、ヒトT細胞の生理学的な活性化に対するCD3/CD28活性化因子/刺激因子システムである、Dyna beads（商標）システムである。他の実施形態では、米国特許第6,040,177号及び同第5,827,642号、並びにPCT公報国際公開第2012/129514号（それらの内容は、それらの全体が引用することにより本明細書の一部をなす）に記載されるような方法を使用して、フィーダー細胞、並びに適切な抗体及びサイトカインによって、T細胞は活性化され、刺激されて増殖する。

#### 【0242】

本開示の様々な態様では、本開示のベクター又はポリペプチド（例えば、本開示の抗CD20結合モチーフ及び/又は抗CD20/抗CD19抗原結合系）を含む、これらを発現する、これらをコードする、又はこれらをコードするように形質転換される細胞が結合作用物質である。結合作用物質、又は結合作用物質の集団は、結合作用物質（例えば、癌の治療薬として有用な細胞を含む組成物）として（例えば、その活性作用物質として）使用され得る。

#### 【0243】

本開示は、例えば、本開示のベクター又は核酸による細胞の形質転換（例えば、形質導入）によって、本明細書に開示される抗体作用物質を生産する方法及びプロセスを更に含む。幾つかの実施形態では、本明細書に開示される抗体作用物質を生産する方法又はプロセスは、本明細書に示される少なくとも1つの抗原結合系をコードする核酸（例えば、ベクター中に存在する核酸）で細胞を形質転換（例えば、形質導入）することを含む。概して、本明細書に記載される抗体作用物質は、免疫細胞、例えば、養子細胞療法において有用である又は使用することができる細胞から生産され得る。幾つかの実施形態では、結合作用物質は、TIL、T細胞、CD8<sup>+</sup>細胞、CD4<sup>+</sup>細胞、NK細胞、T細胞、制御性T細胞、又は末梢血単核細胞からなる群から選択される細胞型から生産される。「腫瘍浸潤リンパ球」、すなわちTILは、血流から出て腫瘍に遊走した白血球を指す。リンパ球は、B細胞、T細胞、及びナチュラルキラー細胞の3つの群に分けることができる。「T細胞」は、CD4<sup>+</sup>ヘルパー細胞、CD8<sup>+</sup>細胞傷害性T細胞、及びT細胞を含むCD3<sup>+</sup>細胞を指す。

#### 【0244】

或る特定の実施形態では、結合作用物質は、細胞、例えば免疫細胞を、本明細書に記載される抗原結合系をコードする核酸及び/又は発現コンストラクト（例えば、(i)抗原結合系をコードする核酸を含む第1の組換え発現ベクター及び誘導性発現コンストラクトを含む第2の組換え発現ベクター、(ii)抗原結合系をコードする核酸及び誘導性発現コンストラクトの両方を含む単一の組換え発現ベクター、又は(iii)構成的発現コン

ストラクトを含む組換え発現ベクター)で遺伝子改変(例えば、形質転換)することによって生産される。組換え発現ベクターは、限定されるものではないが、一本鎖又は二本鎖であり、合成された又は部分的に天然源から得ることができ、天然ヌクレオチド、非天然ヌクレオチド、又は改変ヌクレオチドを含み得るDNA及びRNAを含む、あらゆる種類のヌクレオチドを含み得る。組換え発現ベクターは、天然に存在する若しくは天然に存在しないヌクレオチド間の連結、又は両方の種類の連結を含み得る。

【0245】

幾つかの実施形態では、或る方法は、本明細書に開示される抗原結合系をコードするポリヌクレオチドで細胞を形質導入することを含む。幾つかの実施形態では、方法は、抗原結合系をコードするポリヌクレオチドを含むベクターで細胞を形質導入することを含む。

10

【0246】

幾つかの実施形態では、T細胞療法で使用されるドナーT細胞は(例えば、自家T細胞療法用に)患者から得られる。他の実施形態では、T細胞療法で使用されるドナーT細胞は患者ではない被験体から得られる。例示的な態様では、被験体は白血球アフェレーシスを受けることができ、その際、白血球を*ex vivo*で収集、濃縮、又は枯渇させて、対象となる細胞、例えばT細胞が選択及び/又は分離される。これらのT細胞分離物を方法により増殖させ、本開示の1つ以上のCARコンストラクトが導入され得るように処理することができ、それにより本開示のCAR T細胞が作製される。

【0247】

幾つかの実施形態では、免疫細胞を被験体から得て、本明細書に記載される誘導性発現コンストラクト又は構成的発現コンストラクト、例えば、本明細書に記載される誘導性発現コンストラクト又は構成的発現コンストラクトを含む発現ベクターで形質転換、例えば形質導入することで、結合作用物質が得られる。したがって、幾つかの実施形態では、結合作用物質は、免疫細胞を得たのと同じ被験体に投与される自家細胞を含む。幾つかの実施形態では、免疫細胞を被験体から得て、本明細書に記載される誘導性発現コンストラクト又は構成的発現コンストラクト、例えば、本明細書に記載される誘導性発現コンストラクト又は構成的発現コンストラクトを含む発現ベクターで形質転換、例えば形質導入することで、別の被験体に同種異系移植される結合作用物質が得られる。

20

【0248】

或る特定の実施形態では、T細胞はドナー被験体から得られる。幾つかの実施形態では、ドナー被験体は、癌又は腫瘍に冒されたヒト患者である。他の実施形態では、ドナー被験体は癌又は腫瘍に冒されていないヒト患者である。

30

【0249】

本開示の様々な組成物は、任意の手段によって生産され得る操作された細胞の集団を含む。幾つかの実施形態では、本開示は、本明細書に記載される抗原結合系を発現するように操作されたヒト細胞の集団を提供する。幾つかの実施形態では、そのような集団は結合作用物質を含む。幾つかの実施形態では、そのような集団は培養された集団を含む。幾つかの実施形態では、そのような集団は、幾つかの実施形態では、培養された集団の投与を受け得る単一のヒト供給源からの細胞の培養された集団である。本明細書に開示されるように、結合作用物質は、任意の単一の細胞又は細胞の集団、例えば、本明細書に示される操作された細胞の集団を含み得る。

40

【0250】

本開示の他の態様は、本明細書に記載されるポリヌクレオチドを含む組成物、本明細書に記載されるベクター、本明細書に記載されるポリペプチド、又は本明細書に記載される*in vitro*細胞に関する。幾つかの実施形態では、上記組成物は、薬学的に許容可能な担体、希釈剤、可溶化剤、乳化剤、保存剤、及び/又はアジュバントを含む。幾つかの実施形態では、上記組成物は賦形剤を含む。一実施形態では、上記組成物は、本明細書に記載される抗原結合分子を含むCAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを含む。別の実施形態では、上記組成物は、本開示のポリヌクレオチドによってコードされるTCDを含むCAR又はTCRを含む。別の実施形態では、上記組成物は、本明細書に開示

50

される s c f v の 1 つ又は 2 つを含む C A R 又は T C R を含む T 細胞を含む。

【 0 2 5 1 】

他の実施形態では、上記組成物は、非経口的な送達に対し、吸入に対し、又は経口等の消化管による送達に対して選択される。かかる薬学的に許容可能な組成物の作製は、当業者の能力の範囲に含まれる。或る特定の実施形態では、バッファーを使用して上記組成物を生理学的 pH 又はわずかに低い pH、典型的には約 5 ~ 約 8 の範囲の pH に維持する。或る特定の実施形態では、非経口投与が検討される場合、上記組成物は、薬学的に許容可能なビヒクル中、追加の治療剤と共に又はそれを伴わずに、本明細書に記載される組成物を含む、パイロジェンフリー (pyrogen-free) の非経口的に許容可能な水溶液の形態である。或る特定の実施形態では、非経口注射用のビヒクルは滅菌蒸留水であり、該蒸留水中において、少なくとも 1 つの追加の治療剤と共に又はそれを伴わずに、本明細書に記載される組成物が適切に保存される無菌の等張液として製剤化される。或る特定の実施形態では、上記作製は、所望の分子と、製品の制御放出又は持続放出を提供する、高分子化合物 (ポリ乳酸又はポリグリコール酸等)、ビーズ、又はリポソームとの製剤化を含み、その後、デポー注射によって送達される。或る特定の実施形態では、所望の分子を導入するために、埋め込み可能な薬物送達デバイスが使用される。

10

【 0 2 5 2 】

幾つかの実施形態では、本開示は、本開示の 1 つ以上、例えば、本開示の抗原結合系、該抗原結合系をコードする核酸、及び / 又は該核酸を含む及び / 又は発現する細胞 (複数の場合もある) 若しくは細胞の集団を含む及び / 又は送達する医薬組成物を提供する。

20

【 0 2 5 3 】

幾つかの実施形態では、本開示は、本明細書に示される 1 つ以上の細胞、例えば、本明細書に示されるポリペプチドをコード又は発現する結合作用物質、例えば、抗 C D 2 0 / 抗 C D 1 9 C A R を含む及び / 又は送達する医薬組成物 (すなわち「結合作用物質医薬組成物」) を提供する。結合作用物質医薬組成物は、本明細書に記載される 1 つ又は複数の細胞を 1 つ以上の薬学的又は生理学的に許容可能な担体、希釈剤、又は賦形剤と組み合わせる。そのような組成物は、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水等のような緩衝液、グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトール等の炭水化物、タンパク質、ポリペプチド又はグリシン等のアミノ酸、酸化防止剤、E D T A 又はグルタチオン等のキレート剤、アジュバント (例えば、水酸化アルミニウム)、及び保存剤を含み得る。

30

【 0 2 5 4 】

本開示の結合作用物質医薬組成物を、本明細書に示される任意の実施形態による投与用に製剤化することができ、その少なくとも 1 つの非限定的な例は静脈内投与である。組成物は、静脈内投与経路、腫瘍内投与経路、動脈内投与経路、筋肉内投与経路、腹腔内投与経路、髄腔内投与経路、硬膜外投与経路、及び / 又は皮下投与経路用に製剤化され得る。好ましくは、組成物は非経口投与経路用に製剤化される。非経口投与に適した組成物は、酸化防止剤、緩衝剤、静菌薬及び、例えば該組成物を意図されるレシピエントの血液と等張にする溶質を含み得る、水性又は非水性の等張性の滅菌注射溶液であり得る。水性又は非水性の滅菌懸濁液は、1 つ以上の懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、及び保存剤を含むし得る。本開示の結合作用物質医薬組成物は、治療される (又は予防される) 疾患に適切な様式で投与され得る。

40

【 0 2 5 5 】

注射用の滅菌組成物は、従来製の薬慣行に従って注射用の蒸留水をビヒクルとして使用して製剤化され得る。例えば、生理食塩水又はグルコース並びに D - ソルビトール、D - マンノース、D - マンニトール及び塩化ナトリウム等の他の補助剤を含む等張性溶液を、任意に適切な可溶化剤、例えば、エタノール等のアルコール及びプロピレングリコール又はポリエチレングリコール等のポリアルコール、並びにポリソルベート 8 0 (商標)、H C O - 5 0 等の非イオン性界面活性剤と組み合わせ、注射用水溶液として使用することができる。

50

## 【0256】

油状液体の非限定的な例としてはゴマ油及び大豆油が挙げられ、該油状液体を可溶化剤としての安息香酸ベンジル又はベンジルアルコールと組み合わせることができる。含まれる他のものは、リン酸緩衝剤又は酢酸ナトリウム緩衝剤等の緩衝剤、塩酸プロカイン等の鎮静剤、ベンジルアルコール又はフェノール等の安定剤、及び酸化防止剤である。製剤化された注射剤は、適切なアンプル内に包装され得る。

## 【0257】

一実施形態では、結合作用物質医薬組成物は、検出可能なレベルの夾雑物、例えば、エンドトキシン、マイコプラズマ、複製コンピテントレンチウイルス(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残留抗CD3/抗CD28被覆ビーズ、マウス抗体、プールヒト血清、ウシ血清アルブミン、ウシ血清、培養培地成分、ベクターパッケージング細胞又はプラスミド構成要素、細菌及び真菌を実質的に含まない。一実施形態では、細菌は、アルカリゲネス・ファエカリス(*Alcaligenes faecalis*)、カンジダ・アルビカンス(*Candida albicans*)、エシェリキア・コリ(*Escherichia coli*)、ヘモフィルス・インフルエンザエ(*Haemophilus influenzae*)、ナイセリア・メニンギティディス(*Neisseria meningitidis*)、シュードモナス・アエルギノーサ(*Pseudomonas aeruginosa*)、スタフィロコッカス・アウレウス(*Staphylococcus aureus*)、ストレプトコッカス・ニュー

10

モニア(*Streptococcus pneumonia*)、及び/又はストレプトコッカス・ピオゲネス(*Streptococcus pyogenes*) A群からなる群から選択される少なくとも1つである。

20

## 【0258】

様々な実施形態では、本明細書に示される細胞(例えば、結合作用物質、例えば、操作されたT細胞又は操作されたNK細胞)は、結合作用物質医薬組成物から活性化及び/又は増殖され得る、及び/又は結合作用物質医薬組成物を産生すべきであり得る。幾つかの実施形態では、被験体への投与の前に追加の工程を実施することができる。例えば、結合作用物質は、被験体に投与する前に、免疫細胞を本明細書に記載される誘導性発現コンストラクト又は構成的発現コンストラクト(例えば、誘導性発現コンストラクト又は構成的発現コンストラクトを含む発現ベクター)と接触させてから(例えば、形質導入又はトランスフェクトさせてから) *in vitro*で増殖され得る。*in vitro*での増殖は、被験体に投与する前に、1日以上、例えば、2日以上、3日以上、4日以上、6日以上、又は8日以上続行し得る。幾つかの実施形態では、*in vitro*での増殖は、被験体に投与する前に、21日以内、例えば、18日以内、16日以内、14日以内、10日以内、7日以内、又は5日以内続行し得る。例えば、*in vitro*での増殖は、被験体に投与する前に、1日間~7日間、2日間~10日間、3日間~5日間、又は8日間~14日間続行し得る。例えば、結合作用物質(例えば、操作されたT細胞又は操作されたNK細胞)を含む結合作用物質医薬組成物は、所望の投与量、例えば $10^4$ 個~ $10^9$ 個の細胞/kg(体重)(例えば、 $10^5$ 個~ $10^6$ 個の細胞/kg(体重))の投与量での投与用に製剤化され得る。本開示の或る特定の実施形態は、被験体に本明細書に記載される医薬組成物、例えば本明細書に記載される結合作用物質(例えば、本開示の操作された細胞の集団)、本明細書に記載されるタンパク質治療薬、結合作用物質を含む組成物、及び/又はタンパク質治療薬を含む組成物等を、例えば、適切な投与レジメンで投与される場合に、被験体を治療するのに有効な量で投与する方法を含む。

30

40

## 【0259】

幾つかの実施形態では、結合作用物質は、被験体に対して自家であり、被験体は、被験体から免疫細胞を分離する前に、免疫学的にナイーブな状態、免疫化された状態、罹患した状態、又は別の状態であり得る。幾つかの実施形態では、*in vitro*での増殖の間に、結合作用物質は、抗原(例えば、TCR抗原)で刺激され得る。抗原刺激された増殖を、任意に、例えば、抗CD3抗体、抗Tac抗体、抗CD28抗体、又はフィトヘマグルチニン(PHA)等のリンパ球増殖を非特異的に刺激する条件下での増殖で補うこと

50



ができる。増殖された結合作用物質は、被験体に直接的に投与され得る、又は今後の使用のために、すなわち被験体への後の投与のために凍結され得る。

【0260】

幾つかの実施形態では、結合作用物質は *ex vivo* でインターロイキン-2 (IL-2) により処理した後に癌患者へと注入され、注入後に、癌患者はIL-2で治療される。さらに、幾つかの実施形態では、癌患者は、結合作用物質の投与前に、準備的なリンパ球枯渇(免疫系の一時的なアブレーション)を受けることができる。IL-2治療及び準備的なリンパ球枯渇の組合せは、結合作用物質の持続性を高め得る。幾つかの実施形態では、結合作用物質は、サイトカインをコードする核酸で形質導入又はトランスフェクションされ、その核酸は、サイトカインの構成的な、調節可能な、又は時間的に制御される発現をもたらすように操作され得る。適切なサイトカインとしては、例えば、収縮期の間のTリンパ球の生存を高めるように作用するサイトカインが挙げられ、これによりメモリーTリンパ球の形成及び生存が促進され得る。

10

【0261】

或る特定の実施形態では、結合作用物質は、癌治療剤等の別の治療剤の投与の前に、実質的にそれと同時に、又はその後投与される。癌治療剤は、例えば、化学療法剤、生物学的作用物質、又は放射線治療であり得る。幾つかの実施形態では、結合作用物質が与えられる被験体には、リンパ球枯渇化学療法又は放射線療法等の免疫細胞の枯渇を引き起こすのに十分な治療は施されない。

【0262】

幾つかの実施形態において被験体に投与される投与量は、実施形態、使用される組成物、投与方法、並びに治療される部位及び被験体によって変動し得る。しかしながら、用量は治療応答を与えるのに十分であるべきである。臨床医は、病状を治療又は予防するために、ヒト又は他の被験体に投与される組成物の治療的有効量を決定することができる。治療的に有効であるのに必要とされる組成物の正確な量は、例えば、結合作用物質の活性、及び投与経路等の多くの要因に依存し得る。

20

【0263】

適切な数の結合作用物質細胞が被験体に投与され得る。本明細書に記載される単一の結合作用物質細胞は、増殖して治療上の利益を与えることができるが、幾つかの実施形態では、 $10^2$ 個以上、例えば、 $10^3$ 個以上、 $10^4$ 個以上、 $10^5$ 個以上、又は $10^8$ 個以上の結合作用物質細胞が投与される。幾つかの実施形態では、 $10^{12}$ 個以下、例えば $10^{11}$ 個以下、 $10^9$ 個以下、 $10^7$ 個以下、又は $10^5$ 個以下の本明細書に記載される結合作用物質細胞が被験体に投与される。幾つかの実施形態では、 $10^2$ 個~ $10^5$ 個、 $10^4$ 個~ $10^7$ 個、 $10^3$ 個~ $10^9$ 個、又は $10^5$ 個~ $10^{10}$ 個の本明細書に記載される結合作用物質細胞が投与される。結合作用物質医薬組成物は、例えば $10^4$ 個~ $10^9$ 個の細胞/kg(体重)(例えば、 $10^5$ 個~ $10^6$ 個の細胞/kg(体重))の投与量で投与され得る。結合作用物質医薬組成物は、例えば、約 $2 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $3 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $4 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $5 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $6 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $7 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $8 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $9 \times 10^6$ 個の細胞/kg、約 $1 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $2 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $3 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $4 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $5 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $6 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $7 \times 10^7$ 個の細胞/kg、約 $8 \times 10^7$ 個の細胞/kg、又は約 $9 \times 10^7$ 個の細胞/kgの投与量で投与され得る。

30

40

【0264】

本明細書に記載される結合作用物質の用量は、一度に、又は一連の分割用量(subdoses)を適切な期間にわたって投与して、例えば必要に応じて、毎日、半週ごとに、毎週、隔週で、半月ごとに、隔月で、半年ごと、又は一年ごとに哺乳動物に投与され得る。有効量の結合作用物質を含む投与単位を1日1回投与で投与することも、又は総一日投与量を、必要に応じて一日に投与される用量の2分割用量、3分割用量、4分割用量、若しくはそれ以上の分割用量で投与することもできる。

50

## 【 0 2 6 5 】

適切な投与手段は、医師によって選択され得る。投与経路は、非経口投与、例えば、注射による投与、経鼻投与、経肺投与、又は経皮投与であり得る。投与は、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、皮下注射による全身投与又は局所投与であり得る。幾つかの実施形態では、組成物は、非経口送達用、吸入用、又は経口等の消化管を介した送達用を選択される。投与用量及び投与方法は、被験体の体重、年齢、状態等に応じて変動し、適切に選択され得る。

## 【 0 2 6 6 】

様々な実施形態では、本明細書に記載される結合作用物質は、医薬組成物に添合され得る。本開示の結合作用物質を含む医薬組成物は、既知の方法によって製剤化され得る（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, ed. Alfonso R. Gennaro,

10

Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985)に記載されている)。様々な例では、本開示の結合作用物質を含む医薬組成物は、薬学的に許容可能な担体又は賦形剤を含むように製剤化され得る。薬学的に許容可能な担体の例としては、限定されるものではないが、生理学的に適合可能なあらゆる全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤等が挙げられる。本開示の結合作用物質を含む組成物は、薬学的に許容可能な塩、例えば、酸付加塩又は塩基付加塩を含み得る。

## 【 0 2 6 7 】

様々な実施形態では、本明細書に記載される結合作用物質を含む組成物、例えば注射用滅菌製剤は、従来の製薬慣行に従って注射用蒸留水をビヒクルとして使用して製剤化され得る。例えば、生理食塩水又はグルコース並びにD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール及び塩化ナトリウム等の他の補助剤を含む等張性溶液を、任意に適切な可溶化剤、例えば、エタノール等のアルコール及びプロピレングリコール又はポリエチレングリコール等のポリアルコール、並びにポリソルベート80（商標）、HCO-50等の非イオン性界面活性剤と組み合わせ、注射用水溶液として使用することができる。本明細書に開示されるように、結合作用物質を含む医薬組成物は、任意の形態で存在し得る。そのような形態としては、例えば、液剤（例えば、注射可能及び注入可能な液剤）、分散液剤又は懸濁液剤、錠剤、丸剤、粉末剤、リポソーム剤及び坐剤等の液体剤形、半固体剤形、及び固体剤形が挙げられる。

20

30

## 【 0 2 6 8 】

任意の形態の選択又は使用は、部分的には、意図された投与様式及び治療用途に依存し得る。例えば、全身送達又は局所送達を目的とした本開示の結合作用物質を含む組成物は、注射可能溶液又は注入可能溶液の形態で存在し得る。したがって、本開示の結合作用物質を含む組成物は、非経口様式（例えば、静脈内注射、皮下注射、腹腔内注射、又は筋肉内注射）による投与用に製剤化され得る。非経口投与は、経腸投与及び局所投与以外の、通常は注射による投与様式を指し、限定されるものではないが、静脈内、鼻腔内、眼内、肺、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、肺内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外、脳内、頭蓋内、頸動脈内及び胸骨内の注射及び注入を含む。

40

## 【 0 2 6 9 】

投与経路は、非経口投与、例えば、注射による投与、経鼻投与、経肺投与、又は経皮投与であり得る。投与は、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、皮下注射による全身投与又は局所投与であり得る。

## 【 0 2 7 0 】

様々な実施形態では、本開示の結合作用物質を含む医薬組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、分散液、リポソーム、又は高濃度での安定した貯蔵に適した他の秩序構造物として製剤化され得る。滅菌注射可能溶液は、本開示の結合作用物質を含む組成物を必要な量で適切な溶媒中に、必要に応じて上記で列挙した成分の1つ又は組合せとともに導入した後に、濾過滅菌することによって調製され得る。一般に、分散液は、本開示の結合作用

50

物質を含む組成物を、基礎となる分散媒及び上に列挙したものからの必要とされる他の成分を含有する滅菌ビヒクル中に導入することによって調製される。滅菌注射可能溶液の調製用の滅菌粉末の場合に、調製方法は、本開示の結合作用物質と任意の追加の所望の成分（以下を参照）とを含む組成物の粉末を事前に滅菌濾過されたその溶液から得る真空乾燥及び凍結乾燥を含む。溶液の適切な流動性は、例えば、レシチン等のコーティングの使用によって、分散液の場合に所望の粒子サイズの維持によって、及び界面活性剤の使用によって維持され得る。本開示の結合作用物質を含む注射可能な組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる試薬、例えば、モノステアリン酸塩及びゼラチンを本開示の結合作用物質を含む組成物中に含めることによってもたらされ得る。

#### 【0271】

10

本開示の結合作用物質を含む医薬組成物は、水又は別の薬学的に許容可能な液体中の滅菌溶液又は懸濁液を含む注射可能な製剤の形態で非経口投与され得る。例えば、本開示の結合作用物質を含む医薬組成物は、治療用分子と、滅菌水及び生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定剤、フレーバリング添加剤（flavoring excipient）、希釈剤、ビヒクル、保存剤、結合剤等の薬学的に許容可能なビヒクル又は媒体とを適切に混ぜ合わせた後に、一般的に許容される製薬慣行に必要とされる単位剤形で混合することによって製剤化され得る。医薬調剤に含まれる有効成分の量は、指定された範囲内の適切な用量が提供されるような量である。油状液体の非限定的な例としてはゴマ油及び大豆油が挙げられ、その油状液体を可溶化剤としての安息香酸ベンジル又はベンジルアルコールと組み合わせることができる。含めることができる他のものは、リン酸緩衝剤又は酢酸ナトリウム緩衝剤等の緩衝剤、塩酸プロカイン等の鎮静剤、ベンジルアルコール又はフェノール等の安定剤、及び酸化防止剤である。製剤化された注射剤は、適切なアンプル内に包装され得る。

20

#### 【0272】

幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、0 未満の温度（例えば、-20 又は -80 ）での貯蔵用に製剤化され得る。幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、2 ~ 8 （例えば、4 ）で最大2年間（例えば、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、6ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、11ヶ月、1年、1年半、又は2年）の貯蔵用に製剤化され得る。したがって、幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、2 ~ 8 （例えば、4 ）で少なくとも1年間の貯蔵で安定である。

30

#### 【0273】

幾つかの場合には、本開示の結合作用物質を含む医薬組成物は、溶液として製剤化され得る。幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、例えば、2 ~ 8 （例えば、4 ）での貯蔵用に適した、適切な濃度で緩衝された溶液として製剤化され得る。本明細書に記載される結合作用物質を含む医薬組成物は、イムノリポソーム組成物に製剤化され得る。循環時間が高められたリポソームは、例えば、米国特許第5,013,556号に開示されている。

#### 【0274】

或る特定の実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、インプラント及びマイクロカプセル化送達系を含む制御放出製剤のように、組成物が即時放出するのを防ぐ担体とともに製剤化され得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸等の生分解性で生体適合性のポリマーを使用することができる。そのような製剤を作製する多くの方法が知られている。例えば、J. R. Robinson (1978) "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems," Marcel Dekker, Inc., New Yorkを参照されたい。

40

#### 【0275】

幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、ヒト等の哺乳動物への肺内投与（例えば、吸入器又はネブライザーを介した投与）に適した組成物に製剤化され得る。そのような組成物の製剤化方法は知られている。乾燥粉末吸入用製剤及び該製剤の

50

投与に適したシステムも知られている。肺への投与は、経口及び/又は経鼻であり得る。肺送達用の医薬用デバイスの例としては、定量吸入器、乾燥粉末吸入器（DPI）、及びネブライザーが挙げられる。例えば、本開示の結合作用物質を含む組成物は、乾燥粉末吸入器を介して被験体の肺に投与され得る。これらの吸入器は、分散性で安定した乾燥粉末製剤を肺に送達する噴射剤を用いないデバイスである。乾燥粉末吸入器は知られており、限定されるものではないが、TURBOHALER（商標）（AstraZeneca；英国、ロンドン）、AIR（商標）吸入器（ALKERMES（商標）；マサチューセッツ州ケンブリッジ）、ROTALER（商標）（GlaxoSmithKline；英国、ロンドン）、及びECLIP

10

SE（商標）（Sanofi-Aventis；フランス、パリ）を含む。例えば、国際公開第04/026380号、国際公開第04/024156号、及び国際公開第01/78693号を参照されたい。DPIデバイスは、インスリン及び成長ホルモン等のポリペプチドの肺投与に使用されてきた。幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、定量吸入器によって肺内投与され得る。これらの吸入器は、個別の用量の分子を肺に送達するのに噴射剤に頼っている。追加のデバイス及び肺内投与法は、例えば、米国特許出願公開第2005/0271660号及び同第2009/0110679号（これらのそれぞれの開示は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）に示されている。

#### 【0276】

幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、例えば、薬学的に許容可能な溶液、懸濁液又は軟膏の形態で、眼への送達用に製剤化され得る。眼の治療に使用される調剤は、例えば、限定されるものではないが、保存剤、緩衝剤、張性剤、酸化防止剤、及び安定剤、非イオン性湿潤剤又は清澄剤、及び増粘剤等の追加の成分を含有する滅菌水溶液の形態で存在し得る。本明細書に記載される調剤は、治療を必要とする被験体（例えば、AMDに罹患している被験体）の眼に慣用の方法によって、例えば、点眼の形態で、又は1つ以上の組成物を含有する治療溶液中に眼を浸けることによって局所投与され得る。

20

#### 【0277】

或る特定の実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物の投与には、眼の硝子体腔に薬物を導入するための様々なデバイスが適切であり得る。例えば、米国特許出願公開第2002/0026176号は、強膜を通じて硝子体腔へと突き出るように挿入することで、硝子体腔内に医薬作用物質を送達することができる医薬含有プラグを記載している。別の例では、米国特許第5,443,505号は、眼の内部への薬物の持続放出のために上脈絡膜腔又は無血管領域へと導入するための埋め込み型デバイスを記載している。米国特許第5,773,019号及び同第6,001,386号はそれぞれ、眼の強膜表面に取り付け可能な埋め込み型薬物送達デバイスを開示している。治療作用物質を眼に送達する追加の方法及びデバイス（例えば、経強膜パッチ及びコンタクトレンズを介した送達）は、例えば、Ambati and Adamis (2002) Prog Retin Eye Res 21(2):145-151、Ranta and Urtti (2006) Adv Drug Delivery Rev 58(11):1164-1181、Barocas and Balachandran

30

40

(2008) Expert Opin Drug Delivery 5(1):1-10(10)、Gulsen and Chauhan (2004) Invest Ophthalmol Vis Sci 45:2342-2347、Kim et al. (2007) Ophthalmic Res 39:244-254、及び国際公開第04/073551号（これらの開示は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）に記載されている。

#### 【0278】

様々な実施形態では、皮下投与は、シリンジ、プレフィルドシリンジ、自己注射器（例えば、使い捨て又は再利用可能なもの）、ペン型注射器、パッチ注射器、ウェアラブル注射器、皮下注入セットを備えた携行式シリンジ注入ポンプ、又は結合作用物質薬と組み合わせるための皮下注射用の他のデバイス等のデバイスによって達成され得る。

50

## 【 0 2 7 9 】

本開示の注射システムは、米国特許第 5 , 3 0 8 , 3 4 1 号に記載される送達ペンを使用することができる。ペン型デバイスは、糖尿病を伴う患者へのインスリンの自己送達に一般的に使用される。そのようなデバイスは、少なくとも 1 つの注射針（例えば、約 5 m m ~ 8 m m の長さの 3 1 ゲージの針）を備え得て、一般に 1 つ以上の治療単位用量の治療溶液が事前に充填されており、できる限り少ない痛みで溶液を被験体に迅速に送達するのに有用である。1 つの薬剤送達ペンは、治療薬又は他の薬剤のバイアルを内部に収容することができるバイアルホルダーを備える。ペンは、完全に機械的なデバイスであり得る、又は電子回路と組み合わせて、利用者に注射される薬剤の投与量を正確に設定及び / 又は指示することができる。例えば、米国特許第 6 , 1 9 2 , 8 9 1 号を参照されたい。幾つかの実施形態では、ペン型デバイスの針は使い捨てであり、キットは 1 つ以上の使い捨ての交換用針を含む。本開示の結合作用物質を含む本発明で特徴付けられる組成物のいずれか 1 つの送達に適したペン型デバイスは、例えば米国特許第 6 , 2 7 7 , 0 9 9 号、同第 6 , 2 0 0 , 2 9 6 号、及び同第 6 , 1 4 6 , 3 6 1 号（これらのそれぞれの開示は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）にも記載されている。マイクロニードルに基づくペン型デバイスは、例えば、米国特許第 7 , 5 5 6 , 6 1 5 号（この開示は、引用することによりその全体が本明細書の一部をなす）に記載されている。高精度ペン型注射器（Precision Pen Injector）（P P I）デバイスである Scandinavian Health Ltd により製造される M O L L Y（商標）も参照されたい。

10

## 【 0 2 8 0 】

幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、血管系を介した結合作用物質の輸送が意図される標的組織又は標的部位への該輸送に頼らない局所投与によって被験体に送達され得る。例えば、本開示の結合作用物質を含む組成物は、本開示の結合作用物質を含む組成物の注射若しくは埋め込みによって、又は本開示の結合作用物質を含む組成物を収容するデバイスの注射若しくは埋め込みによって送達され得る。或る特定の実施形態では、標的組織又は標的部位の近くに局所投与した後に、本開示の結合作用物質を含む組成物、又はその 1 つ以上の成分は、投与部位ではない意図される標的組織又は標的部位に拡散し得る。

20

## 【 0 2 8 1 】

幾つかの実施形態では、本開示の結合作用物質を含む組成物は、関節に、例えば、関節に直接的に（例えば、関節空間内に）又は関節の近くで局所投与され得る。本開示の結合作用物質を含む組成物を局所投与することができる関節内関節（intraarticular joints）の例としては、例えば、股関節、膝関節、肘関節、手首関節、胸鎖関節、顎関節、手根関節、足根関節、足首関節、及び関節炎状態の対象となるあらゆる他の関節が挙げられる。本開示の結合作用物質を含む組成物はまた、例えば、肩峰滑液包、二頭筋橈骨滑液包、肘橈骨（cubitoradial）滑液包、三角筋滑液包、膝蓋下滑液包、坐骨滑液包、及び任意の他の滑液包等の滑液包に投与され得る。

30

## 【 0 2 8 2 】

幾つかの実施形態では、本明細書に示される本開示の結合作用物質を含む組成物は、自己投与に適切であり得る単位剤形で存在する。そのような単位剤形は、容器、一般に、例えば、バイアル、カートリッジ、プレフィルドシリンジ又は使い捨てペン内で提供され得る。米国特許第 6 , 3 0 2 , 8 5 5 号に記載されるドーズデバイス等のドーズを、例えば、本明細書に記載される注射システムとともに使用することもできる。

40

## 【 0 2 8 3 】

医薬溶液は、治療的有効量の本開示の結合作用物質を含む組成物を含み得る。そのような有効量は、部分的に、本開示の結合作用物質を含む投与される組成物の効果、又は 2 つ以上の作用物質が使用される場合に、本開示の結合作用物質及び 1 つ以上の追加の活性作用物質を含む組成物の組合せ効果に基づいて容易に決定され得る。本開示の結合作用物質を含む組成物の治療的有効量はまた、個体の病状、年齢、性別、及び体重、並びに組成物（及び 1 つ以上の追加の活性作用物質）が個体において所望の奏効、例えば、少なくとも

50

1つの状態パラメーターの改善、例えば、補体媒介性障害の少なくとも1つの症状の改善を引き起こす能力等の要因に従って変動し得る。例えば、治療的有効量の本開示の結合作用物質を含む組成物は、障害及び/又は障害の症状のいずれか1つを抑止(それらの重症度を軽減又はそれらの発生を排除)及び/又は予防し得る。治療的有効量はまた、治療的に有益な効果が本開示の結合作用物質を含む組成物の任意の有毒作用又は有害作用を上回る量である。

【0284】

本開示の結合作用物質を含む組成物は、固定用量として、又はミリグラム毎キログラム(mg/kg)の用量で投与され得る。幾つかの実施形態では、用量はまた、本開示の結合作用物質を含む組成物中の1つ以上の抗原結合分子に対する抗体又は他の宿主免疫応答の生成を低減又は回避するように選択され得る。決して限定することを意図するものではないが、本開示の結合作用物質を含む組成物等の結合作用物質の例示的な投与量としては、例えば、1mg/kg~1000mg/kg、1mg/kg~100mg/kg、0.5mg/kg~50mg/kg、0.1mg/kg~100mg/kg、0.5mg/kg~25mg/kg、1mg/kg~20mg/kg、及び1mg/kg~10mg/kgが挙げられる。本開示の結合作用物質を含む組成物の例示的な投与量としては、限定されるものではないが、0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、4mg/kg、8mg/kg、又は20mg/kgが挙げられる。

【0285】

本開示の結合作用物質を含む組成物のいずれかの適切なヒト用量は、例えば、第I相用量漸増研究において更に評価され得る。例えば、van Gurp et al. (2008) Am J Transplantation 8(8):1711-1718、Hanouska et al. (2007) Clin Cancer Res 13(2, part 1):523-531、及びHetherington et al. (2006) Antimicrobial Agents and Chemotherapy 50(10): 3499-3500を参照されたい。

【0286】

様々な実施形態では、医薬組成物は、本開示の核酸、例えば、ベクターを含み得る。本開示の核酸を含む医薬組成物を製剤化する方法は、例えば、Drugs and the Pharmaceutical Sciences: a Series of Textbooks and Monographs (Dekker, N.Y.)のシリーズの書籍において知られている。例えば、非経口適用、皮内適用、又は皮下適用に使用される溶液又は懸濁液は、以下の成分:注射用水、生理食塩水、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール又は他の合成溶剤等の滅菌希釈剤、ベンジルアルコール又はメチルパラベン等の抗細菌剤、アスコルビン酸又は亜硫酸水素ナトリウム等の酸化防止剤、エチレンジアミン四酢酸等のキレート剤、酢酸塩、クエン酸塩又はリン酸塩等の

緩衝剤、及び塩化ナトリウム又はデキストロース等の張性を調整する作用物質を含み得る。pHは、塩酸又は水酸化ナトリウム等の酸又は塩基を用いて調整され得る。非経口調剤は、例えば、アンプル、使い捨てシリンジ、又はガラス製若しくはプラスチック製の2つ以上の投与バイアル内に封入され得る。

【0287】

注射用に適した本開示の核酸を含む医薬組成物は、滅菌注射可能溶液又は滅菌注射可能分散液の即時調合のための滅菌水溶液又は滅菌分散液及び滅菌粉末を含み得る。静脈内投与の場合に、適切な担体は、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL(商標)(BASF、ニュージャージー州パーシッパニー)又はリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を含み得る。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール等)、及びそれらの適切な混合物を含む溶媒又は分散媒であり得る。

【0288】

効果的な治療的使用に関連する滅菌性、安定性、粘度及び他の要因が考慮され得る。流動性を維持する1つの方法は、例えば、レシチン等のコーティングの使用、所望の粒子サイズの維持、又は界面活性剤の使用を含む。幾つかの場合には、等張剤、例えば、糖類、

10

20

30

40

50

マンニトール、ソルビトール等の多価アルコール、塩化ナトリウムを組成物中に含めることが好ましいであろう。幾つかの場合には、本開示の核酸を含む注射可能な組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる作用物質、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを組成物中に含めることによってもたらされ得る。

【0289】

滅菌注射可能溶液は、抗細菌剤及び抗真菌剤（例えば、パラベン類、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサル等）等の成分の1つ又は組合せを添合することによって、及び/又は濾過滅菌によって調製され得る。幾つかの場合には、分散液は、活性分子を基礎となる分散媒及び抗細菌剤又は抗真菌剤を含有する滅菌ビヒクルに添合することによって調製される。滅菌注射可能溶液の調製用の滅菌粉末の場合に、調製方法は、事前に滅菌濾過されたその溶液からの真空乾燥及び凍結乾燥を含む。

10

【0290】

本開示の核酸を含む経口組成物は、不活性希釈剤又は可食性担体を含み得る。経口治療的投与のためには、本開示の核酸は賦形剤とともに添合され、例えば、錠剤、トローチ剤、又はカプセル剤、例えば、ゼラチンカプセル剤の形態で使用され得る。本開示の核酸を含む経口組成物を、マウスウォッシュとして使用するために液体担体を使用して調製することもできる。医薬的に適合可能な結合剤、及び/又はアジュバント材料が、組成物の一部として含まれ得る。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤等は、以下の成分：微結晶性セルロース、トラガカントガム若しくはゼラチン等の結合剤、デンプン若しくはラクトース等の賦形剤、アルギン酸、Primogel（商標）若しくはトウモロコシデンプン等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム若しくはSterotes（商標）等の滑沢剤、コロイド状二酸化ケイ素等の滑剤、スクロース若しくはサッカリン等の甘味料、又はペパーミント、サリチル酸メチル、若しくはオレンジフレーバリング等のフレーバリング剤のいずれか、又は同様の性質の分子を含有し得る。

20

【0291】

幾つかの実施形態では、核酸は、DNAワクチン等の核酸作用物質の投与に適したあらゆる方法によって投与され得る。これらの方法としては、例えば、遺伝子銃、バイオインジェクター、及び皮膚パッチ、並びに無針法、例えば米国特許第6,194,389号に開示されているマイクロ粒子DNAワクチン技術、及び米国特許第6,168,587号に開示される粉末型ワクチンによる哺乳動物の経皮無針ワクチン接種が挙げられる。さらに、例えば、Hamajima et al., (1998) Clin. Immunol. Immunopathol. 88(2), 205-10に記載されるように鼻腔内送達が可能である。リポソーム（例えば、米国特許第6,472,375号に記載される）。或る特定の場合には、マイクロカプセル化が使用され得る。さらに、（例えば、米国特許第6,471,996号に記載されるように）生分解性の標

30

的化可能なマイクロ粒子送達系を使用することができる。

【0292】

本開示の核酸を含む組成物は、アジュバント、希釈剤、結合剤、安定剤、緩衝剤、塩、親油性溶媒、保存剤、それらの混合物、又は核酸を含む治療組成物に含める任意の成分等の成分を含み得る。核酸組成物は、例えば、生理食塩水、溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤等、リン酸緩衝生理食塩溶液、水、及び水中油型エマルジョン又は油中水型エマルジョン等のエマルジョン、並びに医薬品投与と適合可能な様々な種類の湿潤剤を含み得る。本開示の核酸を含む組成物に、補足的な活性分子を添合することもできる。本開示の核酸を含む組成物は、in vivoでの使用に許容可能であることを更なる任意の条件として、安定剤及び保存剤、並びに本明細書に記載される担体のいずれかを含み得る。追加の担体、安定剤、及びアジュバントの例については、Martin REMINGTON'S PHARM. SCI., 15th Ed. (Mack Publ. Co.), Easton (1975) and

40

Williams & Williams, (1995)、及び"PHYSICIAN'S DESK REFERENCE", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (1998)を参照されたい。

50

## 【0293】

本明細書に記載される方法は、本開示の核酸を含む医薬組成物の製造及び使用を含む。本開示の核酸を含む医薬組成物は一般に、それらの意図された投与経路と適合可能であるように製剤化される。投与経路の例としては、非経口投与、例えば、静脈内投与、頭蓋内投与、皮内投与、皮下投与、経口（例えば、吸入）投与、経皮（局所）投与、経粘膜投与、及び直腸投与が挙げられる。

## 【0294】

核酸組成物は、緩衝剤又はpH調整剤を含み得る。緩衝剤は、有機酸又は有機塩基から調製された塩であり得る。本開示の緩衝剤は、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、又はフタル酸の塩等の有機酸塩、Tris、塩酸トロメタミン、及びリン酸緩衝剤を含む。追加の担体は、ポリビニルピロリドン、フィコール（高分子糖）、デキストレート（例えば、2-ヒドロキシプロピル- $\beta$ -クアドラチュア- $\beta$ -シクロデキストリン（2-hydroxypropyl- $\beta$ -quadrature- $\beta$ -cyclodextrin）等のシクロデキストリン）、ポリエチレングリコール、フレーバリング剤、抗微生物剤、甘味料、酸化防止剤、帯電防止剤、界面活性剤（例えば、TWEEN（登録商標）20及びTWEEN（登録商標）80等のポリソルベート）、脂質（例えば、リン脂質、脂肪酸）、ステロイド（例えば、コレステロール）、及びキレート剤（例えば、EDTA）等の高分子賦形剤又は添加剤を含む。

## 【0295】

本開示の核酸がベクターである或る特定の実施形態では、本開示は、遺伝子導入及び/又は遺伝子療法用の組成物、例えば、ウイルス粒子、例えば、AAV粒子及び/又はレトロウイルス粒子、例えばレンチウイルス粒子を含む組成物を含む。ウイルス力価に関して使用される「ゲノム粒子（gp）」又は「ゲノム当量」という用語は、感染性又は機能性にかかわらず、組換えウイルスゲノム、例えば、組換えAAV DNAゲノムを含むビリオンの数を指す。ベクター調製物中のゲノム粒子の数が測定され得る。ウイルス力価に関して使用される「感染ユニット（IU）」、「感染性粒子」、又は「複製ユニット」という用語は、例えば、複製中心アッセイとしても知られる感染中心アッセイによって測定され得る組換えAAVベクター粒子の感染性の又は複製能を有する組換えウイルスの数を指す。ウイルス力価に関して使用される「形質導入ユニット（TU）」という用語は、機能的な導入遺伝子産物の産生をもたらす、感染性組換えベクター粒子、例えば、組換えAAVベクター粒子の数を指す。

## 【0296】

幾つかの実施形態では、組成物は、例えば、用量当たり $2 \times 10^6$ 個 $\sim 2 \times 10^{12}$ 個、 $2 \times 10^7$ 個 $\sim 2 \times 10^{11}$ 個、又は $2 \times 10^8$ 個 $\sim 2 \times 10^{11}$ 個のDNA含有ウイルス粒子を含む。或る特定の実施形態では、単位剤形におけるベクターの濃度又は力価は、例えば、少なくとも（a）1 mL当たり $1 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $2 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $3 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $4 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $5 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $6 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $7 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $8 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $9 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $10 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $15 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $20 \times 10^{12}$ 個の粒子、1 mL当たり $25 \times 10^{12}$ 個の粒子、若しくは1 mL当たり $50 \times 10^{12}$ 個の粒子、（b） $1 \times 10^9$  TU/mL、 $2 \times 10^9$  TU/mL、 $3 \times 10^9$  TU/mL、 $4 \times 10^9$  TU/mL、 $5 \times 10^9$  TU/mL、 $6 \times 10^9$  TU/mL、 $7 \times 10^9$  TU/mL、 $8 \times 10^9$  TU/mL、 $9 \times 10^9$  TU/mL、 $10 \times 10^9$  TU/mL、 $15 \times 10^9$  TU/mL、 $20 \times 10^9$  TU/mL、 $25 \times 10^9$  TU/mL、若しくは $50 \times 10^9$  TU/mL、又は（c） $1 \times 10^{10}$  IU/mL、 $2 \times 10^{10}$  IU/mL、 $3 \times 10^{10}$  IU/mL、 $4 \times 10^{10}$  IU/mL、 $5 \times 10^{10}$  IU/mL、 $6 \times 10^{10}$  IU/mL、 $7 \times 10^{10}$  IU/mL、 $8 \times 10^{10}$  IU/mL、 $9 \times 10^{10}$  IU/mL、 $10 \times 10^{10}$  IU/mL、 $15 \times 10^{10}$  IU/mL、



/mL、 $20 \times 10^{10}$  IU/mL、 $25 \times 10^{10}$  IU/mL、若しくは $50 \times 10^{10}$  IU/mLである。そのような実施形態は、本開示により包含される単位投与量を限定せず、本開示の核酸を含む様々な組成物と一緒に使用され得る投与量の様々な尺度を限定しない。例えば、粒子の投与量、濃度、又は量は、被験体1キログラム当たりのベクターゲノム (Vg/Kg) 又はVg/用量に関して測定され得る及び/又は表現され得る。粒子の投与量、濃度、又は量を測定及び/又は表現する好ましい手段は、様々な要因、例えば、投与経路に応じて変化し得る。

【0297】

本開示は、CD20及び別の抗原、例えばCD19を同時に標的とする技術を提供する。幾つかの実施形態では、本開示は、免疫応答を開始及び/又は調節する技術を提供する。幾つかの実施形態では、本開示は、癌(例えば、表面に発現されたCD20を有する細胞(複数の場合もある))によって特徴付けられる癌)を治療する技術を提供する。

10

【0298】

本明細書は、癌を治療又は予防するための、本明細書に示される結合作用物質医薬組成物の使用を含む。本開示の別の態様は、悪性腫瘍を治療又は予防する方法であって、それを必要とする被験体に有効量の結合作用物質医薬組成物を投与することを含み、例えば、細胞が本明細書に示される少なくとも1つの抗原結合系を含む、方法を対象とする。薬学的有効量の本開示の結合作用物質医薬組成物の投与を含む本開示の方法を使用して、被験体の癌を治療し、腫瘍のサイズを減少させ、腫瘍細胞を殺傷し、腫瘍細胞増殖を防ぎ、腫瘍成長を防ぎ、患者から腫瘍を排除し、腫瘍の再燃を防ぎ、腫瘍転移を防ぎ、患者の寛解を誘導し、又はそれらの任意の組合せを行うことができる。或る特定の実施形態では、本明細書に示される方法は完全奏効を誘発する。幾つかの特定の実施形態では、本明細書に示される方法は部分奏効を誘発する。或る特定の実施形態では、結合作用物質医薬組成物は、本明細書に示される細胞、例えば本開示の少なくとも1つのCARを含む又は発現する細胞であるか、該細胞を含むか、該細胞を活性作用物質として含むか、又は該細胞を唯一の活性作用物質として含む。幾つかの実施形態では、結合作用物質医薬組成物は、抗CD20 CAR及び抗CD19 CARを含むバイシストロン性CAR系を含む、又は結合作用物質医薬組成物は、本開示の二重特異性抗CD20/抗CD19 CARを含む。

20

【0299】

様々な実施形態では、本開示は、被験体において癌に対する免疫を誘発する又は被験体に癌に対する免疫を与えるための、本明細書に示される結合作用物質医薬組成物の使用を含む。本開示は、本明細書に示される結合作用物質医薬組成物を被験体に投与することにより、被験体における癌を予防する方法を更に含む。本開示は、本明細書に示される結合作用物質医薬組成物を被験体に投与することにより、被験体における免疫応答を誘発する方法を更に含む。或る特定の実施形態では、結合作用物質医薬組成物は、本明細書に示される細胞、例えば本開示の少なくとも1つのCARを含む又は発現する細胞であるか、該細胞を含むか、該細胞を活性作用物質として含むか、又は該細胞を唯一の活性作用物質として含む。幾つかの実施形態では、結合作用物質医薬組成物は、抗CD20 CAR及び抗CD19 CARを含むバイシストロン性CAR系を含む、又は結合作用物質医薬組成物は、本開示の二重特異性抗CD20/抗CD19 CARを含む。

30

40

【0300】

或る特定の実施形態では、治療を必要とする被験体における癌を治療する方法は、被験体に本明細書に開示されるポリヌクレオチド、ベクター、抗体、又は抗原結合系を投与することを含む。一実施形態では、該方法は、抗原結合系又は抗体(例えば、抗原結合系)をコードするポリヌクレオチドを投与することを含む。別の実施形態では、該方法は、抗原結合系又は抗体をコードするポリヌクレオチドを含むベクターを投与することを含む。別の実施形態では、該方法は、抗原結合系又は抗体を被験体に投与することを含む。

【0301】

本開示の別の態様は、好適な条件下で、本明細書に開示されるポリヌクレオチドで細胞を形質導入することを含む、CAR又はTCRを発現する細胞を作製する方法に関する。

50

幾つかの実施形態では、上記方法は、本明細書に開示されるように、CAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドで細胞を形質導入することを含む。幾つかの実施形態では、上記方法は、CAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを含むベクターで細胞を形質導入することを含む。或る特定の実施形態では、本開示は、結合作用物質医薬組成物が、本開示の抗原結合作用物質（例えば、抗原結合系）をコードするポリヌクレオチド配列を含むベクターでトランスフェクション又は形質導入されたT細胞を含むT細胞療法を提供する。幾つかの実施形態では、T細胞療法で使用されるドナーT細胞は、（例えば、自家T細胞療法用に）患者から得られる。他の実施形態では、T細胞療法で使用されるドナーT細胞は、患者ではない被験体から得られる。一実施形態では、本開示のT細胞療法は、自家細胞療法（eACT（商標））である。この実施形態によれば、該方法は、患者から血液細胞を収集することを含み得る。次いで、分離された血液細胞（例えば、T細胞）は、本開示の抗原結合系を発現するように操作され得る。或る特定の実施形態では、結合作用物質は患者に投与される。幾つかの実施形態では、結合作用物質は、患者における癌を治療する又は治療することが意図される。例えば、一実施形態では、結合作用物質は腫瘍のサイズを縮小する。様々な実施形態では、本開示の細胞は、ヒト被験体から分離されたばかりの細胞、細胞培養物から分離されたばかりの細胞、又は貯蔵された、例えば凍結された細胞であり得る。

10

#### 【0302】

本開示の別の態様は、本明細書に記載されるポリヌクレオチド、本明細書に記載されるベクター、又は本明細書に記載されるCAR若しくはTCRを含む細胞を有効量、被験体に投与することを含む、腫瘍に対する免疫を誘導する方法に関する。一実施形態では、上記方法は、本明細書に開示されるCAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを含む細胞を有効量、被験体に投与することを含む。別の実施形態では、上記方法は、本明細書に開示されるCAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを含む細胞を有効量、被験体に投与することを含む。別の実施形態では、上記方法は、本明細書に開示されるポリヌクレオチドによってコードされるCAR又はTCRを含む細胞を有効量、被験体に投与することを含む。

20

#### 【0303】

本開示の別の態様は、有効量の本出願の操作された免疫細胞を投与することを含む、被験体において免疫応答を誘導する方法に関する。幾つかの実施形態では、免疫応答はT細胞媒介免疫応答である。幾つかの実施形態では、T細胞媒介免疫応答は、1以上の標的細胞に対するものである。幾つかの実施形態では、操作された免疫細胞はCAR又はTCRを含み、ここで、CAR又はTCRは、本開示に記載されるTHDを含む。幾つかの実施形態では、標的細胞は腫瘍細胞である。

30

#### 【0304】

本開示の別の態様は、悪性腫瘍を治療する又は予防する方法に関し、該方法は、有効量の少なくとも1つの免疫細胞を、それを必要とする被験体に投与することを含み、ここで、該免疫細胞は少なくとも1つのCAR又はTCRを含み、該CAR又はTCRが本明細書に開示されるscfvの1つ又は2つを含む。

#### 【0305】

本開示の別の態様は、本明細書に開示されるポリヌクレオチド、ベクター、CAR若しくはTCR、細胞、又は組成物を被験体に投与することを含む、癌の治療を、それを必要とする被験体において行う方法に関する。一実施形態では、上記方法は、CAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを投与することを含む。別の実施形態では、上記方法は、CAR又はTCRをコードするポリヌクレオチドを含むベクターを投与することを含む。別の実施形態では、上記方法は、本明細書に開示されるポリヌクレオチドによってコードされるCAR又はTCRを投与することを含む。別の実施形態では、上記方法は、CAR又はTCRをコードする、ポリヌクレオチドを含む細胞、又は該ポリヌクレオチドを含むベクターを投与することを含む。

40

#### 【0306】

50

幾つかの実施形態では、癌の治療を、それを必要とする被験体において行う方法は、T細胞療法を含む。一実施形態では、本開示のT細胞療法は操作された自己細胞療法（eACT（商標））である。この実施形態によれば、上記方法は、患者から血液細胞を収集することを含み得る。単離された血液細胞（例えばT細胞）は、その後、本開示のCAR又はTCRを発現するように操作され得る。特定の実施形態では、CAR T細胞又はTCR T細胞は患者に投与される。幾つかの実施形態では、CAR T細胞又はTCR T細胞は、患者において腫瘍又は癌を治療する。一実施形態では、CAR T細胞又はTCR T細胞は、腫瘍又は癌のサイズを減少する。

#### 【0307】

幾つかの実施形態では、T細胞療法における使用に対するドナーT細胞は、（例えば自己T細胞療法に対しては）患者から得られる。他の実施形態では、T細胞療法における使用に対するドナーT細胞は、患者でない被験体から得られる。

#### 【0308】

T細胞は治療的有効量で投与され得る。例えば、T細胞の治療的有効量は、少なくとも約 $10^4$ 個の細胞、少なくとも約 $10^5$ 個の細胞、少なくとも約 $10^6$ 個の細胞、少なくとも約 $10^7$ 個の細胞、少なくとも約 $10^8$ 個の細胞、少なくとも約 $10^9$ 個の細胞、又は少なくとも約 $10^{10}$ 個の細胞となり得る。別の実施形態では、T細胞の治療的有効量は、約 $10^4$ 個の細胞、約 $10^5$ 個の細胞、約 $10^6$ 個の細胞、約 $10^7$ 個の細胞、又は約 $10^8$ 個の細胞である。特定の一実施形態では、CAR T細胞又はTCR T細胞の治療的有効量は、約 $2 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $3 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $4 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $5 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $6 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $7 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $8 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $9 \times 10^6$ 細胞/kg、約 $1 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $2 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $3 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $4 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $5 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $6 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $7 \times 10^7$ 細胞/kg、約 $8 \times 10^7$ 細胞/kg、又は約 $9 \times 10^7$ 細胞/kgである。

#### 【0309】

本開示の方法は、被験体において癌を治療するため、腫瘍のサイズを減少させるため、腫瘍細胞を死滅させるため、腫瘍細胞増殖を予防するため、腫瘍の成長を予防するため、患者から腫瘍を排除するため、腫瘍の再燃を予防するため、腫瘍転移を予防するため、患者において寛解を誘導するため、又はそれらの任意の組合せに使用され得る。或る特定の実施形態では、上記方法は完全奏功を誘導する。他の実施形態では、上記方法は部分奏功を誘導する。

#### 【0310】

或る特定の実施形態では、癌は、例えば細胞表面上にCD19を発現する細胞を含む。或る特定の実施形態では、癌は、例えば細胞表面上にCD20を発現する細胞を含む。或る特定の実施形態では、癌は、例えば細胞表面上にCD19及びCD20の両方をそれぞれ個別に発現する細胞を含む。

#### 【0311】

治療され得る癌は、血管新生化されていない、まだ実質的に血管新生化されていない、又は血管新生化された腫瘍を含む。また、癌は固形腫瘍又は非固形腫瘍を含み得る。幾つかの実施形態では、癌は血液の癌である。幾つかの実施形態では、癌は白血球の癌である。他の実施形態では、癌は形質細胞の癌である。幾つかの実施形態では、癌は白血病、リンパ腫又は骨髄腫である。或る特定の実施形態では、上記癌は、急性リンパ芽球性白血病（ALL）（非T細胞ALLを含む）、急性リンパ性白血病（ALL）、及び血球貪食リンパ組織球増多症（HLH）、B細胞前リンパ球性白血病、B細胞急性リンパ性白血病（「BALL」）、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、パーキットリンパ腫、慢性リンパ球性白血病（CLL）、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性骨髄白血病（CML）、慢性若しくは急性の肉芽腫性疾患、慢性若しくは急性の白血病、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫（DLBCL）、濾胞性リンパ腫、濾胞性リンパ腫（FL）、有毛細胞性白血病、血球貪食症候群（マクロファージ活性化症候群（M

A S ) )、ホジキン病、大細胞肉芽腫 (large cell granuloma)、白血球接着不全症、悪性リンパ増殖性状態、MALTリンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、意義不明の単クローン性 グロブリン血症 (MGUS)、多発性骨髄腫、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群 (MDS)、限定されるものではないが急性骨髄白血病 (AML) を含む骨髄疾患、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、形質細胞増殖性障害 (例えば、無症候性骨髄腫 (くすぶり型多発性骨髄腫又は無痛性骨髄腫))、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞新生物、形質細胞腫 (例えば、形質細胞異常増殖症; 孤立性骨髄腫; 孤立性形質細胞腫; 髄外性形質細胞腫; 及び多発性形質細胞腫)、POEMS症候群 (Crow-Fukase症候群、高月病、及びPEP症候群)、縦隔原発大細胞型B細胞リンパ腫 (PMBC)、小細胞若しくは大細胞濾胞性リンパ腫、脾辺縁帯リンパ腫 (SMZL)、全身性アミロイド軽鎖アミロイドーシス、T細胞急性リンパ性白血病 (「TALL」)、T細胞リンパ腫、形質転換後濾胞性リンパ腫、ワルデンストレームマクログロブリン血症、又はそれらの組合せである。一実施形態では、癌は骨髄腫である。特定の一実施形態では、癌は多発性骨髄腫である。別の実施形態では、癌は白血病である。一実施形態では、癌は急性骨髄白血病である。

10

#### 【0312】

様々な場合には、癌を治療するために、本明細書に示される結合作用物質医薬組成物を使用する方法は自家細胞療法である。様々な場合には、癌を治療するために、本明細書に示される結合作用物質医薬組成物を使用する方法は同種異系細胞療法である。

#### 【0313】

本明細書に示される結合作用物質医薬組成物を使用する或る特定の方法は、被験体から血液細胞を収集することを含む。次いで、分離された被験体の血液細胞 (例えば、T細胞) は、例えば、本開示の抗原結合系を発現するように操作され得る。幾つかの実施形態では、結合作用物質は被験体に投与される。幾つかの実施形態では、結合作用物質は被験体における癌を治療する。一実施形態では、結合作用物質は腫瘍のサイズを縮小する。

20

#### 【0314】

様々な実施形態では、本開示で使用される本明細書に示される細胞治療薬は、本明細書に示される細胞治療薬ではない1つ以上の追加の治療作用物質又は治療薬の投与を更に含む治療過程において被験体に投与され得る。或る特定の実施形態では、本開示は、治療が、本明細書に示される結合作用物質が与えられる及び/又は該結合作用物質を必要とする被験体に抗癌剤を投与することを含む、癌の治療用の併用療法を提供する。

30

#### 【0315】

或る特定の実施形態では、本明細書に示される結合作用物質の投与は、追加の抗癌療法を事前に受けた被験体、追加の抗癌療法を受ける予定の被験体、又は追加の抗癌療法を含む治療レジメンの過程にある被験体に対するものであり得る。様々な実施形態では、本明細書に記載されるように本明細書に示される結合作用物質と組み合わせて投与される追加の作用物質又は治療薬は、本明細書に示される結合作用物質と同時に、本明細書に示される結合作用物質と同じ日に、又は本明細書に示される結合作用物質と同じ週に投与され得る。様々な実施形態では、本明細書に記載されるように本明細書に示される結合作用物質と組み合わせて投与される追加の作用物質又は治療薬は、本明細書に示される結合作用物質及び追加の作用物質又は治療薬の投与が本明細書に示される結合作用物質の投与の前後で1時間以上、その前後で1日以上、その前後で1週間以上、又はその前後で1ヶ月以上離れるように投与され得る。様々な実施形態では、1つ以上の追加の作用物質の投与頻度は、本明細書に示される結合作用物質の投与頻度と同じであっても、類似していても、又は異なってもよい。

40

#### 【0316】

本明細書に示される結合作用物質と組み合わせて使用される作用物質又は治療薬は、本明細書に示される結合作用物質と一緒に単一の治療組成物若しくは用量で、別個の組成物の形の本明細書に示される結合作用物質と同時に、又は本明細書に示される結合作用物質の投与とは時間的に異なるように投与され得る。本明細書に示される結合作用物質が追加

50

の作用物質と組み合わせて使用される場合に、本明細書に示される結合作用物質は、追加の作用物質とともに同時製剤化され得るか、又は本明細書に示される結合作用物質は、追加の作用物質製剤とは別個に製剤化され得る。

【0317】

幾つかの実施形態では、上記方法は化学療法剤を投与することを更に含む。或る特定の実施形態では、選択される化学療法剤は、リンパ枯渇 (lymphodepleting) (プレコ

ンディシヨニング) 化学療法剤である。有益なプレコンディシヨニング治療のレジメンは、相関的な有益なバイオマーカーと共に、米国仮特許出願第 62 / 262 , 143 号及び同第 62 / 167 , 750 号に記載され、それらの全体が引用することにより本明細書の一部をなす。これらは、例えば、指定される有益な用量のシクロホスファミド (200 mg / m<sup>2</sup> / 日 ~ 2000 mg / m<sup>2</sup> / 日) 及び指定される用量のフルダラビン (20 mg / m<sup>2</sup> / 日 ~ 900 mg / m<sup>2</sup> / 日) を患者に投与することを含む T 細胞療法を必要とする患者をコンディシヨニングする方法を記載する。或る一つのかかる投薬レジメンは、治療的有効量の操作された T 細胞の患者への投与の 3 日前に、約 500 mg / m<sup>2</sup> / 日のシクロホスファミド及び約 60 mg / m<sup>2</sup> / 日のフルダラビンを毎日患者に投与することを含む、患者を治療することを含む。他の実施形態では、抗原結合分子、形質導入された (或いは操作された) 細胞 (CAR 又は TCR 等)、及び化学療法剤は、各々、被験体における疾患又は状態を治療するのに有効な量で投与される。

【0318】

或る特定の実施形態では、本明細書に開示される CAR 又は TCR を発現する免疫エフェクター細胞を含む組成物は、任意の数の化学療法剤と併せて投与され得る。化学療法剤の例としては、チオテパ及びシクロホスファミド (CYTOXAN (商標)) 等のアルキル化剤; プスルファン、インプロスルファン及びピボスルファン等のアルキルスルホン酸塩; ベンゾドーパ (benzodopa)、カルボコン、メツレドーパ (meturedopa)、及びウレ

ドーパ (uredopa) 等のアジリジン; アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド (triethylenethiophosphoramide)

、及びトリメチロロメラミン (trimethylolomelamine) のレジメ (resume) を含む、エチレンイミン及びメチラメラミン (methylamelamines); クロラムブチル、クロルナファジン、コロホスファミド (cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベムビチン (novembichin)

)、フェネステリン (phenesterine)、プレドニムスチン (prednimustine)、トロホス

ファミド (trofosfamide)、ウラシルマスタード等のナイトロジェンマスタード; カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムスチン (ranimustine) 等のニトロソウレア; アクラシノマイシン (aclacinomysins)、アクチノマ

イシン、アントラマイシン (authramycin)、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマ

イシン、カリチアマイシン、カラビシン (carabycin)、カルミノマイシン、カルジオリピン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン (detorubicin)

n)、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、ドキシソルビシン、エピルビシン、エソルビシン (esorubicin)、イダルビシン、マルセロマイシン (marcellomycin)、マイ

トマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン (potfiromycin)、ピューロマイシン、ケラマイシン (quelamycin)

10

20

30

40

50

n)、ロドルビシン (rodorubicin)、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン (zorubicin) 等の抗生物質；メトトレキセート及び5-フルオロウラシル (5-FU) 等の代謝拮抗薬；デノプテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトトレキセート等の葉酸類縁体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン (thiamiprine)、チオグアニン等のプリン類縁体；アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、5-FU等のピリミジン類縁体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン等のアンドロゲン；アミノグルテチミド、マイトテイン、トリロスタタン等の抗副腎剤；フロリン酸 (frolinic acid) 等の葉酸補液；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル (bestrabucil)；ビスアントレン；エダトラキサート (edatraxate)；デフォファミン (defofamine)；デメコルチン；ジアジコン；エルフォルミチン (elformithine)；酢酸エリブチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキウレア；レンティナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン (nitracrine)；ペントスタチン；フェナメット (phenamet)；ピラルビシン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK (商標)；ラゾキサニル；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン (gacytosine)；アラビノシッド (「Ara-C」)；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えばパクリタキセル (TAXOL (商標)、Bristol-Myers Squibb) 及びドセタキセル (TAXOTER (商標)、Rhone-Poulenc Rorer)；クロラムブチル；ゲムシタピン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキセート；シスプラチン及びカルボプラチン等の白金類縁体；ピンブラスチン；白金；エトポシド (VP-16)；イホスファミド；マイトマイシンC；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルピン；ナベルピン；ノバントロン；テニポシド；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロン酸；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオミチン (DMFO)；Targretin (商標) (ベキサロテン)、Panretin (商標) (アリトレチノイン) 等のレチノイン酸誘導体；ONTAK (商標) (デニロイキンジフチトクス)；エスペラミシン；カペシタピン；並びに上記のいずれかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体が挙げられる。幾つかの実施形態では、本明細書に開示されるCAR及び/又はTCRを発現する免疫エフェクター細胞を含む組成物は、腫瘍に対するホルモンの作用を調節又は阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害4(5)-イミダゾール、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン (keoxifene)、LY117018、オナプリストン、及びトレミフェン (フェアストン) を含む抗エストロゲン薬；並びにフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、リュープロリド及びゴセレリン等の抗アンドロゲン薬；並びに上記のいずれかの薬学的に許容可能な塩、酸又は誘導体と併せて投与され得る。また適切な場合には、限定されるものではないが、CHOP、すなわち、シクロホスファミド (Cytosan (商標))、ドキシソルビシン (ヒドロキシドキシソルビシン)、ピンクリスチン (Oncovin (商標)) 及びプレドニゾンを含む化学療法剤の組合せが投与される。

#### 【0319】

幾つかの実施形態では、化学療法剤は、操作された細胞又は核酸の投与と同時に又は投与の1週以内に投与される。他の実施形態では、化学療法剤は、操作された細胞又は核酸の投与の後、1週間～4週間、すなわち1週間～1ヶ月、1週間～2ヶ月、1週間～3ヶ月

月、1週間～6ヶ月、1週間～9ヶ月、又は1週間～12ヶ月投与される。幾つかの実施形態では、化学療法剤は、細胞又は核酸を投与する少なくとも1ヶ月前に投与される。幾つかの実施形態では、上記方法は、2以上の化学療法剤を投与することを更に含む。

### 【0320】

様々な追加の治療剤が、本明細書に記載される組成物と併せて使用され得る。例えば、有用な可能性がある追加の治療剤としては、ニボルマブ(OPDIVO(商標))、ペンブロリズマブ(KEYTRUDA(商標))、ペンブロリズマブ、ピディリズマブ(Cur eTech)、及びアテゾリズマブ(Roche)等のPD-1阻害剤が挙げられる。本開示との併

用に適している追加の治療剤としては、限定されないが、イブルチニブ(IMBRUVI  
CA(商標))、オフアツムマブ(ARZERRA(商標))、リツキシマブ(RITU  
XAN(商標))、ベバシズマブ(AVASTIN(商標))、トラスツズマブ(HER  
CEPTIN(商標))、トラスツズマブエムタンシン(KADCYLA(商標))、イ  
マチニブ(GLEEVEC(商標))、セツキシマブ(ERBITUX(商標))、パニ  
ツムマブ(VECTIBIX(商標))、カツマキソマブ、イブリツモマブ、オフアツム  
マブ、トシツモマブ、ブレンツキシマブ、アレムツズマブ、ゲムツズマブ、エルロチニブ  
、ゲフィチニブ、バンダタニブ、アフアチニブ、ラパチニブ、ネラチニブ、アキシチニブ  
、マシチニブ、パゾパニブ、スニチニブ、ソラフェニブ、トセラニブ、レスタウルチニブ  
、アキシチニブ、セジラニブ、レンパチニブ、ニンテダニブ、パゾパニブ、レゴラフェニ  
ブ、セマクサニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、チボザニブ、トセラニブ、バンダタニブ  
、アントレクチニブ、カボザンチニブ、イマチニブ、ダサチニブ、ニロチニブ、ポナチニ  
ブ、ラドチニブ(radotinib)、ポストニブ、レスタウルチニブ、ルキシリチニブ、バク  
リチニブ、コビメチニブ、セルメチニブ、トラメチニブ、ビニメチニブ、アレクチニブ、  
セリチニブ、クリゾチニブ、アフリベルセプト、アジポチド、デニロイキンジフチトクス  
、エベロリムス及びテムシロリムス等のmTOR阻害剤、ソニデギブ及びビスモデギブ等  
のヘッジホッグ阻害剤、CDK阻害剤(パルボシクリブ)等のCDK阻害剤が挙げられる  
。

### 【0321】

追加の実施形態では、CAR及び/又はTCRを含む免疫を備える組成物は、抗炎症剤  
と共に投与される。抗炎症剤又は抗炎症薬としては、限定されるものではないが、ステロ  
イド及びグルココルチコイド(ベタメタゾン、ブデソニド、デキサメタゾン、酢酸ヒドロ  
コルチゾン、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾ  
ロン、プレドニゾン、トリアムシノロンを含む)、アスピリン、イブプロフェン、ナプロ  
キセン、メトトレキセート、スルファサラジン、レフルノミド、抗TNF薬、シクロホス  
ファミド、及びミコフェノール酸(mycophenolate)を含む非ステロイド系抗炎症薬  
(N

SAID)が挙げられ得る。例示的なNSAIDとしては、イブプロフェン、ナプロキセ  
ン、ナプロキセンナトリウム、Cox-2阻害剤、及びシアリレート(sialylates)が  
挙げられる。例示的な鎮痛剤としては、アセトアミノフェン、オキシコドン、塩酸プロボ  
キシフェンのトラマドールが挙げられる。例示的なグルココルチコイドとしては、コルチ  
ゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、又  
はプレドニゾンが挙げられる。例示的な生物学的応答修飾物質としては、細胞表面マーカ  
ー(例えばCD4、CD5等)に対する分子、サイトカイン阻害剤(例えば、TNFアン  
タゴニスト(例えば、エタネルセプト(ENBREL(商標))、アダリムマブ(HUM  
IRA(商標))及びインフリキシマブ(REMICADE(商標)))、ケモカイン阻  
害剤、及び接着分子阻害剤が挙げられる。生物学的応答修飾物質は、分子の組換え形態と  
並んで、モノクローナル抗体も含む。例示的なDMARDとしては、アザチオプリン、シ  
クロホスファミド、シクロスポリン、メトトレキセート、ペニシラミン、レフルノミド、  
スルファサラジン、ヒドロキシクロロキン、金(経口(オーラノフィン)及び筋肉内)、  
及びミノサイクリンが挙げられる。

10

20

30

40

50

## 【0322】

或る特定の実施形態では、本明細書に記載される組成物は、サイトカインと併せて投与される。本明細書で使用される「サイトカイン」は、細胞間メディエーターとして別の細胞に対して作用する、1つの細胞集団によって放出されるタンパク質を指すことを意味する。サイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン及び従来のポリペプチドホルモンである。サイトカインの中でも、ヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン及びウシ成長ホルモン等の成長ホルモン；副甲状腺ホルモン；チロキシン；インスリン；プロインスリン；リラキシン；プロリラキシン；卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)及び黄体形成ホルモン(LH)等の糖タンパク質ホルモン；肝臓増殖因子(HGF)；線維芽細胞成長因子(FGF)；プロラクチン；胎盤性ラクトゲン；ミューラー阻害物質；マウス性腺刺激ホルモン関連ペプチド；インヒピン；アクチピン；血管内皮細胞増殖因子；インテグリン；トロンボポイエチン(TPO)；NGF-等の神経成長因子(NGF)；血小板増殖因子；TGF-及びTGF-等のトランスフォーミング増殖因子(TGF)；インスリン様増殖因子I及びII；エリスロポエチン(EPO)；骨誘導因子；インターフェロン-、及び等のインターフェロン；マクロファージ-CSF(M-CSF)；顆粒球マクロファージ-CSF(GM-CSF)；及び顆粒球-CSF(G-CSF)等のコロニー刺激因子(CSF)；IL-1、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12；IL-15等のインターロイキン(IL)、TNF-又はTNF-等の腫瘍壊死因子；並びにLIF及びkitリガンド(KL)を含む他のポリペプチド因子が挙げられる。本明細書で使用されるサイトカインの用語は、天然起源の又は組換え細胞培養物由来のタンパク質、及び本来の配列のサイトカインの生物学的に活性な等価物を含む。様々な実施形態では、本開示で使用される本明細書に示される結合作用物質は、抗炎症剤の投与を更に含む治療過程において被験体に投与され得る。抗炎症剤としては、限定されるものではないが、ステロイド及びグルココルチコイド(ベタメタゾン、ブデソニド、デキサメタゾン、酢酸ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、トリアムシノロンを含む)、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、メトトレキセート、スルファサラジン、レフルノミド、抗TNF薬、シクロホスファミド、及びミコフェノール酸(mycophenolate)を含む非ステロイド系抗炎症薬(NSAID)が挙げられ得る。例示的

なNSAIDとしては、イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、Cox-2阻害剤、及びシアリレート(sialylates)が挙げられる。例示的な鎮痛剤としては、アセトアミノフェン、オキシコドン、塩酸プロボキシフェンのトラマドールが挙げられる。例示的なグルココルチコイドとしては、コルチゾン、デキサメタゾン、ヒドロコルチゾン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、又はプレドニゾンが挙げられる。例示的な生物学的応答修飾物質としては、細胞表面マーカー(例えばCD4、CD5等)に対する分子、サイトカイン阻害剤(例えば、TNFアンタゴニスト(例えば、エタネルセプト(ENBREL(商標))、アダリムマブ(HUMIRA(商標))及びインフリキシマブ(REMICADE(商標)))、ケモカイン阻害剤、及び接着分子阻害剤が挙げられる。生物学的応答修飾物質は、分子の組換え形態と並んで、モノクローナル抗体も含む。例示的なDMARDとしては、アザチオプリン、シクロホスファミド、シクロスポリン、メトトレキセート、ペニシラミン、レフルノミド、スルファサラジン、ヒドロキシクロロキン、金(経口(オーラノフィン)及び筋肉内)、及びミノサイクリンが挙げられる。

## 【0323】

様々な実施形態では、本開示で使用される本明細書に示される結合作用物質は、CHOPの投与を更に含む治療過程において被験体に投与され得る。CHOPは、DNAに結合して架橋の形成を引き起こすことによりDNAに損傷を与えるアルキル化剤であるシクロホスファミド((C)cyclophosphamide)、DNA塩基の間に自身が挿入することによりDNAに損傷を与えるインターカレート剤であるヒドロキシダウノルビシン((H)hydrox



ydaunorubicin) (ドキシソルピシン又はアドリアマイシンとも呼ばれる)、タンパク質チューブリンに結合することにより細胞の複製を抑えるオンコピン((O)ncovin) (ピンクリスチン)、及びコルチコステロイドであるプレドニゾン((P)redonisone)又はプレドニゾロン((P)rednisolone)からなる。

## 【0324】

追加の例示的な実施形態。本開示は、限定されるものではないが、以下の例示的な実施形態を含む：

## 【0325】

実施形態1. (i) 抗原結合分子と、(ii) 共刺激ドメインと、(iii) 活性化ドメインとを含むキメラ抗原受容体(CAR)又はT細胞受容体(TCR)をコードする単離されたポリヌクレオチドであって、該共刺激ドメインは、細胞外ドメインと、膜貫通ドメインと、細胞内ドメインとを含み、該細胞外ドメインは、(i) 配列番号232、配列番号221、配列番号56、配列番号45、配列番号155、配列番号144、配列番号177、配列番号78、及び配列番号67に記載されるコンストラクトのいずれかのアミノ酸配列に対して少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、又は約100%同一のアミノ酸配列から実質的になる又は該アミノ酸配列からなる抗原結合分子を含む、単離されたポリヌクレオチド。

## 【0326】

実施形態2. 膜貫通ドメインは、4-1BB/CD137、T細胞受容体の鎖、T細胞受容体の鎖、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD19、CD22、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154若しくはT細胞受容体の鎖の膜貫通ドメイン又はそれらの任意の組合せである、実施形態1のポリヌクレオチド。

## 【0327】

実施形態3. 細胞内ドメインは、4-1BB/CD137のシグナル伝達領域、活性化NK細胞受容体、B7-H3、BAFFR、BLAME(SLAMF8)、BTLA、CD100(SEMA4D)、CD103、CD160(BY55)、CD18、CD19、CD19a、CD2、CD247、CD27、CD276(B7-H3)、CD29、CD3、CD3、CD3、CD30、CD4、CD40、CD49a、CD49D、CD49f、CD69、CD7、CD84、CD8、CD8、CD96(Tactile)、CD11a、CD11b、CD11c、CD11d、CDS、CEACAM1、CRTAM、サイトカイン受容体、DAP-10、DNAM1(CD226)、Fc受容体、GADS、GITR、HVEM(LIGHTR)、IA4、ICAM-1、ICAM-1、Ig(CD79a)、IL2R、IL2R、IL7R、免疫グロブリン様タンパク質、誘導性T細胞共刺激因子(ICOS)、インテグリン、ITGA4、ITGA4、ITGA6、ITGAD、ITGAE、ITGAL、ITGAM、ITGAX、ITGB2、ITGB7、ITGB1、KIRDS2、LAT、LFA-1、LFA-1、CD83と特異的に結合するリガンド、LIGHT、LIGHT(腫瘍壊死因子スーパーファミリーメンバー14; TNFSF14)、LTBR、Ly9(CD229)、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1(CD11a/CD18))、MHCクラスI分子、NKG2C、NKG2D、Nkp30、Nkp44、Nkp46、Nkp80(KLRF1)、OX-40、PAG/Cbp、プログラム死-1(PD-1)、PSGL1、SELP(LG(CD162))、シグナル伝達リンパ球活性化分子(SLAMタンパク質)、SLAM(SLAMF1; CD150; IPO-3)、SLAMF4(CD244; 2B4)、SLAMF6(NTB-A; Ly108)、SLAMF7、SLP-76、TNF受容体タンパク質、TNFR2、Tollリガンド受容体、TRANCE/RANKL、VLA1若しくはVLA-6、又はそれらの組合せを含む、実施形態1又は2のポリヌク

10

20

30

40

50

レオチド。

【0328】

実施形態4．抗原結合分子の少なくとも1つは、5T4、フェトプロテイン、B細胞成熟抗原(BCMA)、CA-125、癌胎児性抗原、CD19、CD20、CD22、CD23、CD30、CD33、CD56、CD123、CD138、c-Met、CSPG4、C型レクチン様分子1(CLL-1)、EGFRvIII、上皮性腫瘍抗原、ERBB2、FLT3、葉酸結合タンパク質、GD2、GD3、HER1-HER2の組合せ、HER2-HER3の組合せ、HER2/Neu、HERV-K、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp120、IL-11R、鎖、鎖、メラノーマ関連抗原、メソテリン、MUC-1、突然変異p53、突然変異ras、前立腺特異抗原、ROR1、若しくはVEGFR2、又はそれらの組合せからなる群から選択される抗原に特異的に結合する、実施形態1～3のポリヌクレオチド。

10

【0329】

実施形態5．ポリヌクレオチドは、配列番号232、配列番号221、配列番号56、配列番号45、配列番号155、配列番号144、配列番号177、配列番号78、及び配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、実施形態1～4のいずれかのポリヌクレオチド。

【0330】

実施形態6．実施形態1～5のいずれか1つのポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチド。

20

【0331】

実施形態7．配列番号232、配列番号221、配列番号56、配列番号45、配列番号155、配列番号144、配列番号177、配列番号78、及び配列番号67に示されるアミノ酸配列を含むポリペプチド。

【0332】

実施形態8．実施形態1～5のいずれか1つのポリヌクレオチドを含むベクター。

【0333】

実施形態9．ベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクター、DNAベクター、レンチウイルスベクター、プラスミド、レトロウイルスベクター、若しくはRNAベクター、又はそれらの任意の組合せである、実施形態7のベクター。

30

【0334】

実施形態10．実施形態1～5のいずれか1つのポリヌクレオチド、請求項6若しくは7のポリペプチド、請求項8若しくは9のベクター、又はそれらの任意の組合せを含む細胞。

【0335】

実施形態11．実施形態1～5のいずれか1つのポリヌクレオチド、請求項6若しくは7のポリペプチド、請求項8若しくは9のベクター、請求項10の細胞、又はそれらの任意の組合せを含む組成物。

【0336】

実施形態12．請求項1～5のいずれか1つのポリヌクレオチド、実施形態6若しくは7のポリペプチド、請求項8若しくは9のベクター、又はそれらの任意の組合せを含む細胞の作製方法。

40

【0337】

実施形態13．腫瘍に対する免疫を誘発する方法であって、被験体に有効量の請求項1～5のいずれか1つのポリヌクレオチド、実施形態6若しくは7のポリペプチド、実施形態8若しくは9のベクター、実施形態10の細胞、実施形態11の組成物、又はそれらの任意の組合せを投与することを含む、方法。

【0338】

実施形態14．治療を必要とする被験体における癌の治療用の医薬の製造のための、実施

50

形態 1 ~ 5 のいずれか 1 つのポリヌクレオチド、実施形態 6 若しくは 7 のポリペプチド、実施形態 8 若しくは 9 のベクター、実施形態 11 の細胞、又は実施形態 12 の組成物の使用。

【0339】

実施形態 15 . 上記癌は、急性リンパ芽球性白血病 (ALL) (非 T 細胞 ALL を含む)、急性骨髄白血病、B 細胞前リンパ球性白血病、B 細胞急性リンパ性白血病 (「BALL」)、芽球性形質細胞様樹状細胞新生物、パーキットリンパ腫、慢性リンパ性白血病 (CLL)、慢性骨髄腫性白血病 (CML)、慢性骨髄白血病、慢性白血病若しくは急性白血病、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL)、濾胞性リンパ腫 (FL)、有毛細胞性白血病、ホジキン病、悪性リンパ増殖性状態、MALT リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、意義不明の単クローン性 グロブリン血症 (MGUS)、多発性骨髄腫、脊髄形成異常及び骨髄異形成症候群、非ホジキンリンパ腫 (NHL)、形質細胞増殖性障害 (無症候性骨髄腫 (くすぶり型多発性骨髄腫又は無痛性骨髄腫) を含む)、形質芽球性リンパ腫、形質細胞様樹状細胞新生物、形質細胞腫 (形質細胞異常増殖症、孤立性骨髄腫、孤立性形質細胞腫、髄外性形質細胞腫及び多発性形質細胞腫を含む)、POEMS 症候群 (Crow-Fukase 症候群、高月病及び PEP 症候群としても知られる)、原発性縦隔大細胞型 B 細胞リンパ腫 (PMBC)、小細胞若しくは大細胞濾胞性リンパ腫、脾辺縁帯リンパ腫 (SMZL)、全身性アミロイド軽鎖アミロイドーシス、T 細胞急性リンパ性白血病 (「TALL」)、T 細胞リンパ腫、形質転換後濾胞性リンパ腫若しくはワルデンストレームマクログロブリン血症、又はそれらの組合せである、実施形態 15 の使用。

10

20

【0340】

本明細書で言及される全ての出版物、特許、及び特許出願は、個々の出版物、特許又は特許出願が各々、具体的かつ個別に引用することにより本明細書の一部をなすことが指示されるのと同じ程度に、引用することにより本明細書の一部をなす。しかしながら、本明細書における参照文献の引用は、かかる参照文献が本開示に対する先行技術の認識として解釈されるべきではない。引用することにより本明細書の一部をなす参照文献に提供される定義又は用語のいずれかが本明細書に提供される用語及び考察とは異なる場合は、本開示の用語及び定義を優先する。本出願全体を通して引用される全ての参照文献の内容は、引用することにより明らかに本明細書の一部をなす。

30

【実施例】

【0341】

実施例 1

本実施例は、例示的な生産された抗 CD20 重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン、並びにそれらの組合せを提供する。例示的な抗 CD20 重鎖可変ドメイン及び抗 CD20 軽鎖可変ドメインの CDR 配列、並びにそれによる HCDR 及び LCDR の例示的な組合せも、以下の表 4 ~ 表 13 に示されている。表 4 ~ 表 13 は、例示的な可変ドメインをコードする例示的な核酸配列を含む (したがって、例示的な可変ドメインの特定された CDR をコードする例示的な核酸配列も提供する)。

【0342】

本開示の例示的な重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインによる細胞結合を決定するために、精製された IgG をフローサイトメトリーによって 10 nM の濃度での細胞結合について特性評価した。抗体を、CD20 を過剰発現する CHO-S 細胞、Raji、及び Namalwa の CD20 + 細胞系統、並びに EoL-1 及び CHO-S の CD20 - 細胞系統とともにインキュベートした。FITC-LC を使用して IgG を検出した。ネガティブコントロールに対する結合の比率を各抗体について計算した。選択された抗 CD20 抗体による例示的な細胞結合を表 15 に示す。

40

【0343】

50

表 1 5

抗体	CHO-CD20の細胞結合のFOB (バックグラウンドに対する倍率)	Rajiの細胞結合のFON (ネガティブに対する倍率)	Namalwaの細胞結合のFON (ネガティブに対する倍率)	EOL-1の細胞結合のFON (ネガティブに対する倍率)
Ab 1	813	266	12	1
Ab 2	2790	101	3	1
Ab 3	2002	316	16	1
Ab 4	3617	479	19	1
Ab 5	2480	185	17	1
Ab 6	2525	13	2	1
Ab 7	4083	549	11	1
Ab 8	3831	562	10	1
Ab 9	3618	562	11	1
Ab 10	3159	186	4	1

10

## 【0344】

## 実施例 2

本実施例は、バイシストロン性CAR及び二重特異性CARを提供する。バイシストロン性CAR及び二重特異性CARは、2つの結合モチーフを含む(それぞれ2つのCAR分子で、又は単一のCAR分子に)。第1の結合モチーフはCD20に結合し、第2の結合モチーフはCD19に結合する。CD19に結合し、及び/又はCD19に結合する結合モチーフ、抗体、及び抗原結合系の構築に有用な抗体配列は知られている。本実施例は、本明細書で抗体Ab 11と呼ばれる抗CD19結合作用物質の抗体配列を使用し、これらは表14に示されている。

20

## 【0345】

本実施例の二重特異性CARを、以下のドメイン：第1の結合モチーフと、第2の結合モチーフと、ヒンジと、膜貫通ドメインと、共刺激ドメイン及び活性化ドメインを含む細胞内ドメインとを含むように作製した。本実施例において、各二重特異性CARは、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含む第1の結合モチーフを含み、これらの重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、実施例1の例示的な抗体配列の単一の組からの重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインである(すなわち、両方は、Ab 1~Ab 10に対応する表4~表13の同じ表からのものである)。したがって、結合モチーフは、元となる抗体又は元となる表を参照することによって特定することができ、対応する表に示される元となる抗体の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを有する結合モチーフを指す。本実施例において、各二重特異性CARは、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含む第2の結合モチーフを含み、これらの重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインは、抗体Ab 11の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン(すなわち、配列番号221及び配列番号232)である。本実施例の二重特異性CARは、ヒンジドメイン及び膜貫通ドメインを含む28T(CD28)ドメインを含んでいた。本実施例の二重特異性CARは、CD28共刺激ドメインを含んでいた。本実施例の二重特異性CARは、CD3z活性化ドメインを含んでいた。

30

40

## 【0346】

本実施例は、Bic-2、Bic-8、Bic-9、及びBic-14として特定される4つのバイシストロン性CARを含む。4つのバイシストロン性CARのそれぞれは、以下の表16に記載される実施例1の重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインのペアを含む抗CD20結合モチーフを含む第1のCARコンストラクトと、抗CD19結合モチーフを含む第2のCARコンストラクトとを含んでいた。

## 【0347】

50

表 16 : バイシストロン性CARの抗CD20結合モチーフ配列

CAR	結合モチーフ	VHの配列番号	VLの配列番号
B i c - 2	A b 3	4 5	5 6
B i c - 8	A b 8	1 5 5	1 6 6
B i c - 9	A b 9	1 7 7	1 8 8
B i c - 1 4	A b 4	6 7	7 8

## 【 0 3 4 8 】

## 実施例 3

CD4<sup>+</sup>T細胞及びCD8<sup>+</sup>T細胞を、健康なドナー由来のアフェレーシス材料からポジティブセレクションによって分離し、これらを使用して抗CD20一価CAR T細胞産物又は抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR T細胞産物を作製した。T細胞を、結合された抗CD3抗体及び可溶性CD28抗体で活性化し、CARコンストラクトをコードするレンチウイルスベクターで形質導入した。コントロールとして、非形質導入(NTD)T細胞を、同じドナーT細胞から並行して作製した。採取日(製造の8日目~10日目)に、CAR T細胞産物を染色し、フローサイトメトリーによって分析して形質導入効率を評価し、共培養アッセイで使用した。一価CARをコードするベクター及びバイシストロン性CARをコードするベクターによるT細胞の形質導入効率をモニタリングした。

10

## 【 0 3 4 9 】

一価CARをコードするベクターのT細胞形質導入効率を決定するために、CAR-T産物を、固定可能な生存率色素の存在下で一連の抗体(抗CD3抗体、抗CD4抗体、抗CD8抗体、及び抗リンカー抗体)で染色し、フローサイトメトリーによって分析して、生存しているCAR陽性細胞のパーセンテージを評価した(抗リンカー抗体に関して、引用することにより本明細書の一部をなすWO/US2017/041534号を参照されたい)。抗リンカー抗体は、抗CD20 CARの結合モチーフの重鎖と軽鎖との間のリンカーに結合する抗体であり、形質導入効率を測定するのに使用される。コントロールは、非形質導入細胞(NTD)、コントロール抗CD19結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、及びコントロール抗CD20結合作用物質(Ab12結合モチーフ)で形質導入された細胞を含んでいた。

20

30

## 【 0 3 5 0 】

バイシストロン性CARをコードするベクターのT細胞形質導入効率を決定するために、CAR-T産物を、固定可能な生存率色素の存在下で一連の抗体(抗CD3抗体、抗CD4抗体、抗CD8抗体、抗イディオタイプ抗体、及び抗リンカー抗体を含む)で染色し、フローサイトメトリーによって分析して、生存しているCAR陽性細胞のパーセンテージを評価した。抗イディオタイプ抗体は、抗CD19結合モチーフであるAb11の結合モチーフに結合する。したがって、抗イディオタイプ抗体は、抗CD19 CARに結合する。抗イディオタイプ抗体を使用して、抗CD19 CARの形質導入効率を測定する。抗リンカー抗体を使用して、抗CD20 CARの形質導入効率を測定する。コントロールは、非形質導入細胞(NTD)、コントロール抗CD19結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、及びコントロール抗CD20/抗CD19二重特異性CAR(Ab13/Ab14二重特異性、Ab11/Ab12二重特異性)で形質導入された細胞を含んでいた。

40

## 【 0 3 5 1 】

50

表 1 7 A : 抗 CD 2 0 一価 CAR の形質導入効率

結合モチーフ番号	形質導入効率 (% CD 2 0 CAR +)
A b 3	6 5 . 6
A b 5	6 0 . 9
A b 6	7 0 . 7
A b 1 0	5 1 . 1
A b 7	5 2 . 8
A b 8	4 0 . 6
A b 9	3 3
A b 1	4 4 . 4
A b 4	6 2 . 6
A b 2	3 5 . 8
NTD	0 . 2 5
A b 1 1	4 7 . 8
A b 1 2	6 0 . 7

10

## 【 0 3 5 2 】

表 1 7 B : 抗 CD 2 0 / 抗 CD 1 9 バイシストロン性 CAR の形質導入効率

バイシストロン性結合モチーフ番号	抗 CD 2 0 結合モチーフ	形質導入効率 (%)	
		% CD 1 9 CAR +	% CD 2 0 CAR +
B i c - 2	A b 3	5 2 . 7 2	4 6 . 4 2
B i c - 8	A b 8	5 0 . 2	4 5 . 5 7
B i c - 9	A b 9	4 4 . 7 2	4 1 . 3 6
B i c - 1 4	A b 4	4 0 . 2 8	3 7 . 0 4
NTD	N / A	0 . 5 6	0 . 0 9
A b 1 1	N / A	5 9 . 5 2	6 9 . 3
A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性	N / A	5 6 . 7 7	6 0 . 9 9
A b 1 1 / A b 1 2 二重特異性	N / A	4 7 . 5 4	4 9 . 3 3

20

30

## 【 0 3 5 3 】

## 実施例 4

本実施例は、とりわけ、CAR-T細胞を、CAR-T標的抗原を発現する細胞と共培養する例示的な方法を提供する。培養物中のT細胞の追跡を容易にするために、CAR-T細胞をCellTrace (商標) Violet (CTV) 試薬で製造業者の指示に従って標識し、引き続きR-10%培地で洗浄した。CAR-T標的抗原を発現する細胞(「標的細胞」)の追跡を容易にするために、ルシフェラーゼを発現するように標的細胞を操作した。ルシフェラーゼを発現する標的細胞は、両者ともCD19及びCD20の両方の抗原を発現するNalm6及びRajiを含んでいた。さらに、CD19又はCD20を発現しないNalm6細胞及びRaji細胞(ノックアウト細胞、すなわちKO)を作製した。これらのCD19KO及びCD20KO細胞を、Nalm6親細胞及びRaji親細胞からクローン選択した。これらのCD19KO及びCD20KO細胞は、それぞれCD20を発現するがCD19を発現しないか、又はCD19を発現するがCD20を発現しない。CD19KO及びCD20KO株を作製し、これらをコントロールとして使用して、バイシストロン性抗CD20/抗CD19 CARを発現する細胞の各CARの抗原結合を機能的に評価した。

40

50

## 【0354】

ルシフェラーゼを発現する標的細胞を、CTV標識されたCAR-T細胞と一緒にR-10%培地において様々な比率でプレATINGした(共培養の0日目)。この比率は、エフェクター(CAR-T)細胞対標的細胞の比率(エフェクター:標的、すなわちE:T)と呼称され得る。細胞を所望の比率でプレATINGするために、1ウェル当たりの標的細胞の数を25000個の細胞で一定に保ちながら、CAR-T細胞を2倍~3倍に段階希釈した。共培養物を37で16時間(h)又は4日間インキュベートし、以下に記載されるように機能的評価を行った。

## 【0355】

## 実施例5

この実施例では、実施例4に記載されるように、T細胞を標的細胞と共培養した。T細胞媒介細胞傷害性は、単独でプレATINGされた標的細胞によって発されたシグナルと比較した共培養ウェルにおける標的ルシフェラーゼシグナルの減少の関数として測定された。共培養開始後の4日目に、D-ルシフェリン基質を0.14mg/mLの最終濃度で共培養ウェルに添加し、プレートを37で暗所にて10分間インキュベートした。発光シグナルを、直後にVarioskan(商標)LUX又はVarioskan(商標)Flashマルチモードマイクロプレートリーダーで読み取った。T細胞媒介細胞傷害性は、以下のように計算した: %細胞傷害性 = [1 - (対象となる試料/標的単独のコントロール)のルシフェラーゼシグナル] × 100。

## 【0356】

コントロールは、ネガティブコントロールとしての非形質導入(NTD)T細胞(すなわち、CARを発現しないT細胞)、コントロール抗CD19結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、コントロール抗CD20結合作用物質で形質導入された細胞、コントロール抗CD20/抗CD19二重特異性CAR(Ab13/Ab14二重特異性、Ab15/Ab16二重特異性)で形質導入された細胞を含んでいた。

## 【0357】

10

20

30

40

50

表18：4日後の共培養における抗CD20 CAR-Tのパーセント細胞傷害性（Na1m6野生型細胞）

結合モチーフ番号	抗体番号	様々なE:T比率でのNa1m6野生型細胞								
		3対1			1対1			1対3		
2	A b 3	9 2	9 1	9 2	7 2	7 3	7 7	6 4	6 2	5 3
3	A b 5	9 7	9 6	9 7	6 5	7 4	7 7	6 8	6 7	6 0
5	A b 6	1 2	2 1	2 3	- 1 1	- 1 0	- 1 3	- 1 2	- 2 0	- 2 2
6	A b 1 0	3 7	4 6	5 5	1 1	4	6	- 4	- 8	- 8
7	A b 7	9 8	9 8	9 8	8 9	9 1	9 0	7 9	7 6	7 5
8	A b 8	9 9	9 9	9 9	8 6	9 1	9 3	8 9	8 6	9 0
9	A b 9	7 0	6 8	6 6	7 1	7 2	7 2	9 1	9 0	9 2
1 0	A b 1	2 3	2 3	2 7	7	4	5	- 8	- 6	- 1 7
1 4	A b 4	1 0 0	1 0 0	1 0 0	5 2	7 0	6 8	6 5	7 0	7 0
1 6	A b 2	2 2	2 0	2 7	- 1 3	- 7	- 1 3	- 2 0	- 2 3	- 3 0
NTD	N / A	1 7	2 0	2 4	- 7	0	4	- 4	- 2	- 1 8
A b 1 1	N / A	1 0 0	1 0 0	1 0 0	9 3	9 5	9 6	9 6	9 4	9 6
A b 1 2	N / A	1 0 0	1 0 0	1 0 0	8 2	9 0	8 8	8 3	8 6	8 3
結合モチーフ番号	抗体番号	1対9			1対2 7					
2	A b 3	1 9	2 1	2 0	1 3	4	2			
3	A b 5	2 1	1 8	2 2	2 1	1 2	7			
5	A b 6	- 8	- 1 2	- 3	- 9	- 2 1	- 2 1			
6	A b 1 0	- 7	- 8	- 1	- 2	- 1 5	- 1 8			
7	A b 7	3 2	3 4	4 0	2 8	2 4	2 1			
8	A b 8	6 6	6 3	5 9	6 3	5 8	5 9			
9	A b 9	8 8	8 4	7 8	9 9	1 0 0	9 9			
1 0	A b 1	- 1 6	- 9	3	- 8	3	- 9			
1 4	A b 4	3 6	3 7	4 0	6 5	6 4	5 9			
1 6	A b 2	- 9	- 8	0	- 1 8	- 4	- 9			

10

20

30

40

NTD	N / A	0	- 2	1	- 4	1	- 3			
A b 1 1	N / A	7 3	6 5	6 8	8 4	7 9	7 6			
A b 1 2	N / A	4 5	4 3	4 1	5 8	6 2	5 6			

【 0 3 5 8 】

50



表 19 : 4日後の共培養における抗CD20 CAR-Tのパーセント細胞傷害性 (Raji 野生型細胞)

結合モチーフ 番号	抗体番号	様々なE:T比率でのRaji野生型細胞								
		3対1			1対1			1対3		
2	Ab3	100	100	100	61	75	82	58	53	50
3	Ab5	100	100	100	61	55	59	55	60	57
5	Ab6	33	40	46	5	2	5	-7	-9	-8
6	Ab10	99	99	99	57	62	71	36	34	30
7	Ab7	100	100	100	65	70	78	55	44	43
8	Ab8	100	100	100	70	68	57	67	62	65
9	Ab9	100	100	100	63	60	63	73	72	61
10	Ab1	18	17	23	-15	-28	-25	-24	-12	-10
14	Ab4	100	100	100	17	-1	5	31	36	31
16	Ab2	60	63	69	2	-6	-6	-6	-2	-8
NTD	N/A	29	24	27	-8	4	5	11	18	3
Ab11	N/A	100	100	100	47	42	43	61	64	58
Ab12	N/A	100	100	100	40	30	27	47	52	40
結合モチーフ 番号	抗体番号	1対9			1対27					
2	Ab3	15	16	29	10	6	0			
3	Ab5	12	14	28	10	4	-6			
5	Ab6	2	2	8	-16	-15	-29			
6	Ab10	9	7	21	2	-3	-16			
7	Ab7	9	21	32	6	7	0			
8	Ab8	40	30	40	39	30	24			
9	Ab9	33	37	55	37	33	21			
10	Ab1	0	-1	7	-13	-10	1			
14	Ab4	6	19	28	24	35	26			
16	Ab2	15	13	12	11	7	2			
NTD	N/A	9	16	13	0	12	7			
Ab11	N/A	10	18	29	40	40	31			
Ab12	N/A	12	22	29	25	26	15			

10

20

30

40

【0359】

50

表 20 : 4日後の共培養における抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR-Tのパーセント細胞傷害性 (Na1m6野生型細胞)

バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	様々なE:T比率でのNa1m6野生型細胞					
		3対1		1対1		1対3	
Bic-2	Ab3	100 .11	100 .05	100 .08	100 .02	99. 54	98. 84
Bic-8	Ab8	100 .2	100 .18	100 .19	100 .13	100 .06	99. 54
Bic-9	Ab9	100 .21	100 .19	100 .19	100 .17	99. 45	96. 37
Bic-14	Ab4	100 .21	100 .18	100 .17	100 .13	99. 86	99. 69
NTD	N/A	8.9 2	-1.2 .24	-1.7 .23	-2.9 .28	-1.7 .13	-3.0 .68
Ab11	N/A	100 .21	100 .17	100 .19	100 .16	99. 79	99. 01
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	100 .17	100 .06	99. 91	99. 48	93. 02	83. 24
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	100 .05	100 .06	99. 89	99. 89	98. 89	96. 03
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	1対9		1対27		1対81	
Bic-2	Ab3	77. 98	72. 64	46. 65	33. 58	20. 07	9. 87
Bic-8	Ab8	97. 6	87. 64	67. 03	51. 79	28. 36	12. 92
Bic-9	Ab9	91. 03	77. 15	53. 63	32. 1	21. 94	2. 87
Bic-14	Ab4	99. 5	99. 49	84. 68	76. 42	48. 83	38. 37
NTD	N/A	-1.0 .7	-1.9 .68	-3. 76	-1.1 .49	0. 2	-8. 9
Ab11	N/A	89. 83	87. 75	55. 83	43. 85	22. 23	0. 48
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	77. 28	50. 19	22. 73	11. 85	11. 58	-2. 9
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	66. 63	40. 98	25. 75	10. 27	5. 6	-9. 98

10

20

30

40

【0360】

50

表 21 : 4日後の共培養における抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR-Tのパーセント細胞傷害性 (Raji野生型細胞)

バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	様々なE:T比率でのRaji野生型細胞					
		3対1		1対1		1対3	
Bic-2	Ab3	99. 96	100 .01	88. 29	85. 71	53. 5	42. 14
Bic-8	Ab8	100 .02	100 .05	70. 5	74. 72	53. 41	56. 52
Bic-9	Ab9	100 .06	100 .06	77. 3	64. 45	27. 42	43. 62
Bic-14	Ab4	100 .09	100 .11	99. 58	99. 47	78. 71	90. 26
NTD	N/A		14. 29		7.6 1		-20 .48
Ab11	N/A	100 .1	100 .11	96. 49	98. 25	71. 1	70. 95
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	99. 96	100 .07	96. 49	97. 86	33. 42	34. 31
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	99. 6	99. 08	85. 33	89. 26	29. 88	32. 49
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	1対9		1対27		1対81	
Bic-2	Ab3	24. 84	34. 73	-14 .98	-2. 59	-25 .65	3.8 9
Bic-8	Ab8	20. 34	8.7 8	-1. 02	4.3 3	-0. 83	7.6 6
Bic-9	Ab9	18. 64	18. 79	-6. 64	1.0 3	-11 .66	-5. 01
Bic-14	Ab4	40. 22	30. 49	14. 88	15. 82	-0. 97	4.5 9
NTD	N/A		-6. 05		-4. 56		-8. 23
Ab11	N/A	23. 88	14. 55	11. 65	5.8 9	-8. 43	-0. 33
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	10. 08	30. 72	12. 69	10. 41	-7. 6	-7. 03
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	5.8 3	9.1 7	-8. 37	8.8 5	-18 .35	-7. 06

10

20

30

40

【0361】

50

表 2 2 : 4 日後の共培養における抗 CD 2 0 / 抗 CD 1 9 バイシストロン性 CAR-T のパーセント細胞傷害性 (Na1m6 CD19KO細胞)

		様々な E : T 比率での Na1m6 CD19KO細胞					
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	3 対 1		1 対 1		1 対 3	
		B i c - 2	A b 3	4 1 . 9 4	4 7 . 1 6	2 2 . 6 8	2 1 . 2 6
B i c - 8	A b 8	4 3 . 7 5	4 0 . 8	1 6 . 7 9	1 . 8 9	- 2 2 . 7 7	- 1 1 . 3 7
B i c - 9	A b 9	4 3 . 7 1	3 9 . 9 2	0 . 9 8	- 4 . 5 4	- 1 7 . 3 3	- 2 0 . 5 2
B i c - 1 4	A b 4	7 5 . 1	7 4 . 8 8	3 9 . 0 7	2 6 . 6 9	1 0 . 6	3 1 . 4 7
NTD	N / A	- 1 6 . 7 3	- 5 . 3 5	- 3 1 . 9 4	- 3 0 . 4 8	- 2 3 . 7 5	- 3 6 . 7 2
A b 1 1	N / A	3 1 . 9 3	3 6 . 3 2	- 8 . 5 7	- 7 . 7 7	- 2 6 . 5 8	- 2 3 . 6 1
A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性	N / A	8 1 . 7 1	8 5 . 0 4	7 2 . 0 6	5 1 . 9	3 9 . 5 2	3 8 . 1 6
A b 1 5 / A b 1 6 二重特異性	N / A	6 7 . 9 5	7 3 . 6 7	4 7 . 2 6	5 4 . 2 1	2 0	3 2 . 6 1
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	1 対 9		1 対 2 7		1 対 8 1	
		B i c - 2	A b 3	- 2 2 . 5 8	- 8 . 6 5	- 2 6 . 2	- 2 2 . 1 7
B i c - 8	A b 8	- 2 8 . 8 1	- 2 1 . 8 1	- 3 4 . 0 6	- 2 8 . 6 8	- 2 9 . 4 5	- 2 0 . 2 3
B i c - 9	A b 9	- 2 6 . 3 9	- 2 2 . 9 8	- 4 1 . 1 5	- 3 2 . 2	- 3 4 . 0 2	- 2 9 . 9 6
B i c - 1 4	A b 4	2 . 6	4 . 8 7	- 1 2 . 9 2	- 1 2 . 2 2	- 2 6 . 6 9	- 1 0 . 4 9
NTD	N / A	- 2 7 . 1 8	- 1 4 . 7 9	- 1 5 . 7 1	- 2 2 . 7 6	- 1 5 . 3 7	- 1 7 . 7 3
A b 1 1	N / A	- 3 0 . 0 2	- 2 4 . 2 3	- 3 7 . 3 4	- 2 5 . 7 7	- 2 8 . 0 9	- 1 5 . 9 6
A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性	N / A	7 . 0 5	7 . 2 2	- 1 6 . 3 5	- 2 3 . 2	- 2 5 . 8 6	- 2 5 . 6 3
A b 1 5 / A b 1 6 二重特異性	N / A	9 . 1 3	- 6 . 8 5	- 2 2 . 8 4	- 1 5 . 8 5	- 3 3 . 5 6	- 1 8 . 8 3

10

20

30

40

【 0 3 6 2 】

50

表 23 : 4日後の共培養における抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR-Tのパーセント細胞傷害性 (Na1m6 CD20KO細胞)

		様々なE:T比率でのNa1m6 CD20KO細胞					
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	3対1		1対1		1対3	
		Bic-2	Ab3	100 .01	100 .06	100 .02	100 .05
Bic-8	Ab8	100 .14	100 .17	100	100 .12	95. 96	94. 9
Bic-9	Ab9	100 .15	100 .19	100 .13	100 .13	84. 99	81. 09
Bic-14	Ab4	100 .15	100 .2	100 .11	100 .13	99. 31	99. 01
NTD	N/A	13. 47	20. 49	-5. 54	4. 4	5 .02	-1 62
Ab11	N/A	100 .14	100 .15	100 .11	100 .16	89. 94	90. 48
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	100 .13	100 .12	99. 25	99. 19	72. 92	79. 13
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	100 .01	100 .06	99. 54	99. 63	90. 53	87. 4
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	1対9		1対27		1対81	
		Bic-2	Ab3	75. 37	74. 98	30. 97	14. 79
Bic-8	Ab8	59. 25	71. 18	16. 46	24. 12	3. 7	6 4
Bic-9	Ab9	43. 28	48. 23	11. 87	13. 08	-0. 46	5. 6
Bic-14	Ab4	96. 4	96. 13	58. 68	58. 6	17. 97	20. 79
NTD	N/A	-6. 55	2. 6	9 3	2. 3	6 1	11
Ab11	N/A	82. 02	74. 55	12. 37	7. 2	5 48	-1. 93
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	38. 53	30. 15	-5. 74	1. 4	3 .63	-1 .22
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	34. 92	32. 63	0. 2	9. 2	-5. 64	1. 8

10

20

30

40

【0363】

50

表 24 : 4日後の共培養における抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR-Tのパーセント細胞傷害性 (Raji CD19KO細胞)

バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	様々なE:T比率でのRaji CD19KO細胞					
		3対1		1対1		1対3	
Bic-2	Ab3	100.02	100.1	91.85	89.69	55.92	52.39
Bic-8	Ab8	100.14	100.16	68.63	67.49	57.76	55.82
Bic-9	Ab9	100.09	100.16	91.11	83.72	33.32	45.71
Bic-14	Ab4	100.03	100.05	97.97	97.47	64.86	69.55
NTD	N/A		40.71		15.06		3.97
Ab11	N/A	33.35	27.24	12.88	16.32	-8.36	3.73
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	100.03	100.01	76.44	82.17	56.77	55.08
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	99.84	99.92	92.45	90.15	42.9	52.01
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	1対9		1対27		1対81	
Bic-2	Ab3	24.24	44.1	-3.13	21.88	-7.78	15.73
Bic-8	Ab8	30.49	32.83	23.56	33.43	6.7	19.54
Bic-9	Ab9	20.8	32.03	12.07	17.72	-4.15	14.19
Bic-14	Ab4	47.46	54.56	33.42	36.33	9.45	22.34
NTD	N/A		6.28		-1.56		-2.01
Ab11	N/A	-15.98	0.93	-6.53	-6.94	-3.47	-2.64
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	26.72	35.95	11.49	25.38	20.53	19.5
Ab15/Ab16二重特異性	N/A	33.1	35.35	12.34	22.23	-0.75	5.69

10

20

30

40

【0364】

50

表 25 : 4日後の共培養における抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR-Tのパーセント細胞傷害性 (Raji CD20KO細胞)

バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	様々なE:T比率でのRaji CD20KO細胞					
		3対1		1対1		1対3	
Bic-2	Ab3	100 .04	100 .1	95	90. 48	67. 63	74. 09
Bic-8	Ab8	100 .15	100 .18	84. 19	84. 25	81. 09	80. 16
Bic-9	Ab9	100 .19	100 .18	97. 38	93. 04	63. 87	58. 26
Bic-14	Ab4	100 .18	100 .19	98. 61	97. 05	85. 53	82. 29
NTD	N/A		56. 92		28. 9		16. 55
Ab11	N/A	100 .19	100 .16	99. 93	99. 39	81. 15	76. 78
Ab13/Ab14 二重特異性	N/A	99. 24	99. 36	86. 31	86. 76	77. 15	75. 46
Ab15/Ab16 二重特異性	N/A	99. 16	99. 74	87. 16	79. 93	67. 07	67. 48
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	1対9		1対27		1対81	
Bic-2	Ab3	60. 58	60. 16	31. 83	46. 37	0.1 5	39. 97
Bic-8	Ab8	65. 44	64. 02	48. 52	51. 56	23. 53	35. 21
Bic-9	Ab9	49. 76	54. 83	25. 93	30. 53	20. 54	23. 32
Bic-14	Ab4	73. 45	74	55. 92	57. 01	31. 8	36. 38
NTD	N/A		8.0 6		-2. 8		-5. 43
Ab11	N/A	60. 19	62. 53	47. 63	39. 67	10. 91	15. 16
Ab13/Ab14 二重特異性	N/A	58. 77	52. 6	32. 16	39. 92	15. 56	20. 28
Ab15/Ab16 二重特異性	N/A	49. 49	54. 48	18. 17	19. 02	-3. 47	-3. 58

10

20

30

40

## 【0365】

## 実施例6

この実施例では、実施例4に記載されるように、T細胞を標的細胞と共培養した。共培養で16時間後に、上清を収集し、Meso Scale Discovery V-PLX炎症誘発性パネル1ヒトキット (Proinflammatory Panel 1 human kit) を製造業

者の指示に従って使用して、サイトカインレベルについて分析した。抗原を発現する標的細胞と一緒に1:1のE:T比率でプレティングされたT細胞産物の共培養物からの上清を、抗原結合により媒介されるインターフェロン (IFN-)、IL-2、腫瘍壊死因子 (TNF-)、及びIL-10の分泌のレベルについて分析した。全ての試料

50

を検出範囲内となるように希釈した。各サイトカインのレベルを pg/mLとして報告し、各アッセイの定量下限及び定量上限を報告する。

【0366】

コントロールは、ネガティブコントロールとしての非形質導入（NTD）T細胞（すなわち、CARを発現しないT細胞）、コントロール抗CD19結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、コントロール抗CD20結合作用物質で形質導入された細胞、コントロール二重特異性抗原結合系（Ab13/Ab14二重特異性）で形質導入された細胞、及び二重特異性抗原結合系（Ab15/Ab16二重特異性）で形質導入された細胞を含んでいた。

【0367】

表26：抗CD20 CAR-TとNa1m6野生型細胞との16時間の共培養におけるサイトカイン産生（pg/mL）

		Na1m6野生型と共培養した際のサイトカイン（pg/mL）					
結合モチーフ番号	抗体番号	IL-10			IL-2		
		2	Ab3	2.886	2.251	3.438	110.474
3	Ab5	4.305	4.194	3.125	163.198	174.192	167.524
5	Ab6	0.277	0.147	0.327	1.39082	1.08314	2.446
6	Ab10	0.769	0.772	0.832	2.70375	6.86764	4.13888
7	Ab7	3.170	4.423	6.179	209.604	272.439	233.01
8	Ab8	5.736	4.562	5.283	314.496	273.505	259.131
9	Ab9	7.970	8.754	6.446	455.254	445.985	408.829
10	Ab11	0.321	0.573	0.296	1.25038	2.8819	0.3113
14	Ab4	5.948	5.325	3.942	383.166	351.627	364.473
16	Ab2	0.276	0.312	0.191	1.52526	1.84837	0.5235
NTD	N/A	0.157	0.348	0.451	4.83766	2.43654	5.10316
Ab11	N/A	19.959	13.241	16.798	860.093	843.101	690.879
Ab12	N/A	7.613	6.145	5.710	750.441	802.013	704.947
	LL OQ	1.360			1.78		
	UL OQ	466.000			1876		
結合モチーフ番号	抗体番号	TNF-a			IFN-g		
		2	Ab3	87.1829	70.8648	71.7046	5669.7
3	Ab5	154.755	143.572	142.014	9479.79	8824.55	9192.87
5	Ab6	1.1906	1.2789	1.53004	67.7508	61.6543	75.6417
6	Ab10	5.08074	6.14829	5.80572	172.603	188.02	229.674
7	Ab7	112.546	143.963	137.234	5556.7	7514.95	6939.41
8	Ab8	249.849	201.326	194.1	1245.2.8	1211.7.7	1095.6.6
9	Ab9	263.572	286.889	267.453	1268.9.3	1271.6.4	1084.7.6
10	Ab11	2.51653	2.46732	1.80637	134.553	103.288	90.2425

10

20

30

40

50



1 4	A b 4	3 1 4 . 4 0 2	2 4 0 . 4 8 6	2 5 1 . 3 6 3	1 7 1 1 3 . 1	1 4 1 2 3 . 9	1 3 7 5 4 . 6
1 6	A b 2	2 . 0 5 4 3 1	2 . 6 3 5 2 9	2 . 1 9 8 0 5	1 0 7 . 3 3 4	1 3 6 . 2 3 9	1 0 0 . 0 7 3
NTD	N / A	1 . 7 2 6 1 4	1 . 6 8 8 2 6	1 . 3 1 4 1	8 3 . 4 9 8 3	1 0 6 . 5 5 9	7 7 . 1 9 0 5
A b 1 1	N / A	3 9 2 . 4 2 6	3 9 5 . 2 2 9	3 4 7 . 6 6 5	3 8 6 7 4 . 9	3 7 9 6 9 . 3	3 2 9 6 2 . 3
A b 1 2	N / A	3 8 1 . 9 6 9	3 8 7 . 5 4	3 0 7 . 4 1 8	2 0 0 2 3 . 6	1 8 1 1 8 . 9	1 5 6 5 9 . 7
	L L O Q	1 . 3 8			1 4 9 . 4		
	U L O Q	4 9 6			1 8 7 6 0		

10

【 0 3 6 8 】

20

30

40

50

表 27 : 抗 CD20 CAR-T と Raji 野生型細胞との 16 時間の共培養におけるサイトカイン産生 (pg/mL)

		Raji 野生型と共培養した際のサイトカイン (pg/mL)					
結合モチーフ番号	抗体番号	IL-10			IL-2		
		2	Ab3	4.22 791	4.06 553	4.09 989	1470 .48
3	Ab5	4.71 127	4.54 175	5.42 819	1098 .24	959 202	1242 .67
5	Ab6	2.94 802	3.02 925	3.27 569	48.5 778	46.0 853	36.4 492
6	Ab10	4.12 995	6.20 356	4.34 137	532 235	638 548	477 869
7	Ab7	6.22 517	4.41 875	5.68 705	1632 .41	1256 .81	1629 .67
8	Ab8	6.82 197	5.50 928	5.61 023	1406 .26	1167 .16	1552 .86
9	Ab9	8.04 39	6.16 812	8.28 169	1493 .89	1541 .38	1341 .7
10	Ab11	2.57 139	2.58 163	2.76 773	1.61 246	1.07 776	2.95 043
14	Ab4	3.83 274	4.91 531	4.91 929	559 513	846 005	1004 .86
16	Ab2	4.33 862	4.97 592	5.16 57	44.1 423	63.8 978	75.5 54
NTD	N/A	3.54 859	3.26 674	3.67 311	4.17 588	5.40 813	2.67 597
Ab11	N/A	8.76 434	7.89 571	10.5 552	562 35	531 706	574 047
Ab12	N/A	5.66 881	4.89 856	4.90 972	1309 .6	1156 .2	1335 .23
	LOQ	0.600			17.8		
	ULOQ	466.000			18760		
結合モチーフ番号	抗体番号	TNF-a			IFN-g		
		2	Ab3	355. 825	330. 247	415. 31	3493 4.1
3	Ab5	299. 426	287. 003	372. 212	3586 8.4	2977 4.6	4292 2.3
5	Ab6	49.2 653	47.2 393	44.2 108	1325 .8	2259 .4	1672 .66
6	Ab10	230. 666	295. 155	213. 26	1711 4.2	2413 9.8	1885 2.1
7	Ab7	385. 919	272. 502	371. 498	3056 9.3	2140 4.7	3046 4.6
8	Ab8	400. 397	322. 357	409. 831	3057 6.4	2384 2.2	3871 8.6
9	Ab9	379. 925	424. 475	338. 892	3463 0.1	3957 2.9	3514 3.5
10	Ab11	10.2 538	11.2 538	10.4 61	64.3 593	84.5 05	87.5 275

10

20

30

40

50

1 4	A b 4	1 8 9 . 6 5 2	2 7 6 . 9 2 2	3 1 3 . 6 1 8	1 5 4 6 4 . 9	2 2 8 7 0 . 4	2 6 8 2 3 . 3
1 6	A b 2	7 6 . 1 2 3 7	8 1 . 5 2 5 3	9 2 . 8 3 8	1 7 5 5 . 3 7	2 7 8 2 . 5 9	3 4 6 1 . 0 8
NTD	N / A	8 . 1 1 1 0 5	6 . 9 9 5 9 5	7 . 4 0 4 7 4	5 2 . 2 0 4 9	4 2 . 1 5 2 4	5 1 . 0 8 9 8
A b 1 1	N / A	2 1 6 . 8 5 1	2 0 9 . 7 8 3	2 1 1 . 5 1 4	3 5 4 9 6 . 6	3 3 9 8 0 . 6	3 2 8 5 8 . 6
A b 1 2	N / A	3 5 4 . 5 2 8	3 5 0 . 4 3 1	3 2 8 . 9 0 4	3 0 8 5 2 . 3	2 6 0 3 3	2 8 8 5 0 . 7
	L L O Q	1 3 . 8			3 5 2		
	U L O Q	4 9 6 0			1 8 7 6 0 0		

10

【 0 3 6 9 】

20

30

40

50

表 28 : 抗 CD20 / 抗 CD19 バイシストロン性 CAR-T と Na1m6 野生型細胞との 16 時間の共培養におけるサイトカイン産生 (pg/mL)

		Na1m6 野生型			
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	IL-10		IL-2	
Bic-2	Ab3	319.96	148.07	3841.67	997.02
Bic-8	Ab8	340.60	198.04	4787.34	2351.16
Bic-9	Ab9	339.47	228.56	4472.49	3070.04
Bic-14	Ab4	310.71	306.43	3456.34	2075.77
NTD	N/A	22.11	26.07	47.13	57.14
Ab11	N/A	156.72	129.75	5898.60	5164.57
Ab13 / Ab14 二重特異性	N/A	175.34	137.17	466.18	462.89
Ab15 / Ab16 二重特異性	N/A	220.27	184.11	914.97	609.44
	LL OQ	13.60		17.80	
	UL OQ	4660.00		18760.00	
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	TNF-a		IFN-g	
Bic-2	Ab3	1162.13	547.11	31344.55	17704.04
Bic-8	Ab8	1326.76	943.35	41201.40	26645.47
Bic-9	Ab9	1297.88	1123.15	44205.89	30919.65
Bic-14	Ab4	1314.55	1092.37	41473.90	32712.72
NTD	N/A	15.38	17.73	127.03	310.15
Ab11	N/A	1765.65	1481.87	50877.54	46996.98
Ab13 / Ab14 二重特異性	N/A	716.26	700.12	33318.42	26294.09
Ab15 / Ab16 二重特異性	N/A	845.64	801.45	44585.96	36507.97
	LL OQ	13.80		1494.00	
	UL OQ	4960.00		187600.00	

10

20

30

40

【 0 3 7 0 】

50

表 29 : 抗 CD20 / 抗 CD19 バイシストロン性 CAR-T と Raji 野生型細胞との  
16 時間の共培養におけるサイトカイン産生 (pg/mL)

		Raji 野生型			
バイシストロン性結合 モチーフ番号	抗体 番号	IL-10		IL-2	
Bic-2	Ab 3	249. 61	302. 79	5716. 65	6324. 53
Bic-8	Ab 8	286. 93	375. 44	5657. 78	6398. 44
Bic-9	Ab 9	199. 97	364. 30	5311. 75	6221. 35
Bic-14	Ab 4	289. 02	441. 49	4524. 40	5178. 06
NTD	N / A	20. 08	31. 64	52. 78	68. 18
Ab11	N / A	158. 93	168. 48	6913. 98	6266. 77
Ab13 / Ab14 二 重特異性	N / A	104. 07	120. 62	7388. 26	7908. 03
Ab15 / Ab16 二 重特異性	N / A	152. 99	196. 19	6620. 35	7598. 18
	LL OQ	13.60		17.80	
	UL OQ	4660.00		18760.00	
バイシストロン性結合 モチーフ番号	抗体 番号	TNF-a		IFN-g	
Bic-2	Ab 3	1276. .98	1348. .49	46275. .13	39485. 80
Bic-8	Ab 8	1248. .22	1538. .31	44611. .85	52535. 86
Bic-9	Ab 9	1329. .21	1649. .67	37559. .20	49128. 37
Bic-14	Ab 4	1500. .30	1815. .74	50827. .49	65974. 91
NTD	N / A	24. 5	31. 7	132. 7	290. 37
Ab11	N / A	1833. .09	1748. .65	43391. .37	47478. 31
Ab13 / Ab14 二 重特異性	N / A	2599. .76	2726. .70	84185. .42	118333. .60
Ab15 / Ab16 二 重特異性	N / A	2270. .58	2434. .51	62974. .89	85048. 84
	LL OQ	13.80		1494.00	
	UL OQ	4960.00		187600.00	

10

20

30

40

【 0 3 7 1 】

50

表30：抗CD20／抗CD19バイシストロン性CAR-TとNa1m6 CD19KO細胞との16時間の共培養におけるサイトカイン産生（pg/mL）

		Na1m6 CD19KO			
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	IL-10		IL-2	
Bic-2	Ab3	20.85	21.32	415.03	397.66
Bic-8	Ab8	25.07	23.96	371.09	419.08
Bic-9	Ab9	17.46	16.68	315.63	308.79
Bic-14	Ab4	27.34	37.57	239.42	263.16
NTD	N/A	12.07	12.33	13.90	5.93
Ab11	N/A	11.94	10.61	7.24	8.06
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	22.57	25.85	1373.50	1344.97
Ab11/Ab12二重特異性	N/A	19.22	27.92	758.03	769.46
	LLOQ	3.4		4.45	
	ULOQ	1165		4690	
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	TNF-a		IFN-g	
Bic-2	Ab3	317.89	371.73	33687.05	41534.70
Bic-8	Ab8	414.53	293.49	33669.96	46572.37
Bic-9	Ab9	386.27	293.61	41476.85	32400.90
Bic-14	Ab4	418.64	307.18	44847.72	41189.26
NTD	N/A	21.43	30.02	2183.86	1360.11
Ab11	N/A	33.88	28.23	1707.39	2083.68
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	836.78	842.73	113383.20	130673.40
Ab11/Ab12二重特異性	N/A	720.37	614.86	98809.63	79846.05
	LLOQ	17.25		933.75	
	ULOQ	13700		117250	

10

20

30

40

【0372】

50

表 31 : 抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR-TとNa1m6 CD20K O細胞との16時間の共培養におけるサイトカイン産生 (pg/mL)

		Na1m6 CD20KO			
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	IL-10		IL-2	
		Bic-2	Ab3	12.82183	8.967694
Bic-8	Ab8	3.530049	4.734808	158.655	112.5326
Bic-9	Ab9	13.69715	12.26638	464.8549	435.2715
Bic-14	Ab4	27.21842	23.67642	238.8009	202.8983
NTD	N/A	3.795072	3.924667	5.336147	10.97881
Ab11	N/A	13.97866	10.62249	170.2153	136.2659
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	5.964617	6.354307	192.2036	214.7087
Ab15/Ab16二重特異性	N/A		25.07804		389.0046
	LLOQ	1.36		1.78	
	ULOQ	466		1876	
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	TNF-a		IFN-g	
		Bic-2	Ab3	208.4781	184.026
Bic-8	Ab8	173.3662	143.7201	17698.8	14222.19
Bic-9	Ab9	302.2407	268.2183	174.1232	143.1469
Bic-14	Ab4	295.3972	261.3406	46810.13	41911.35
NTD	N/A	7.415782	7.415782	108.3741	3143.67
Ab11	N/A	448.6204	337.0853	81984.54	65671.96
Ab13/Ab14二重特異性	N/A	182.4278	144.6086	23278.19	20362.21
Ab15/Ab16二重特異性	N/A		419.7012		81159.51
	LLOQ	13.8		1494	

10

20

30

40

	ULOQ	4960	187600
	Q		

## 【0373】

## 実施例7

実施例4に記載されるように、T細胞を標的細胞と共培養した。16時間の共培養後に、抗原陽性の標的細胞と一緒に指定されたE:T比率でプレティングされたT細胞産物を採取し、一連の抗体-蛍光体で染色して、T細胞(CD3、CD4、CD8)及び活性

50

化マーカーの4-1BBを特定し、フローサイトメトリーによって分析した。固定可能な生存率色素により、生細胞の分析が可能であった。事象を、生細胞（生存率色素陰性）、リンパ球（前方散乱 [ F S C ] 面積対側方散乱 [ S S C ] 面積プロットを使用する）、単一細胞（ F S C 面積対 F S C 高さプロットを使用する）、そして次に T 細胞（ C D 3 + ）に対して系統的にゲーティングした。次いで、 T 細胞を活性化のレベル（すなわち、4-1BB + 細胞のパーセンテージ）について分析した。NTDコントロール T 細胞によって発現されるレベルに基づいて、4-1BBゲーティング閾値を設定した。

## 【 0 3 7 4 】

コントロールは、ネガティブコントロールとしての非形質導入（NTD） T 細胞（すなわち、CARを発現しない T 細胞）、コントロール抗 C D 1 9 結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、コントロール抗 C D 2 0 結合作用物質で形質導入された細胞、コントロール二重特異性抗原結合系（ A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性）で形質導入された細胞、及び二重特異性抗原結合系で形質導入された細胞を含んでいた。

10

## 【 0 3 7 5 】

表 3 2 : N a 1 m 6 野生型細胞及び R a j i 野生型細胞との 1 6 時間の共培養における抗 C D 2 0 CAR-T細胞の活性化

		標的細胞との 1 6 時間の共培養に際しての 4 - 1 B B の %	
結合モチーフ番号	抗体番号	N a 1 m 6	R a j i
2	A b 3	3 2 . 5 4	3 6 . 8 5
3	A b 5	3 5 . 7 2	3 8 . 8 9
5	A b 6	8 . 9 9	1 6 . 8 1
6	A b 1 0	1 4 . 6 2	3 3 . 1 9
7	A b 7	3 6 . 2 8	3 5 . 6 5
8	A b 8	4 6 . 6 6	5 8 . 4 6
9	A b 9	5 6 . 8 8	6 1 . 4 4
1 0	A b 1	6 . 4 8	8 . 6 6
1 4	A b 4	3 9 . 4 9	3 6 . 6 6
1 6	A b 2	8 . 2 9	3 2 . 3 1
NTD	N / A	5 . 6	6 . 0 8
A b 1 1	N / A	5 7 . 6 8	4 5 . 0 9
A b 1 2	N / A	5 0 . 2 6	4 0 . 1

20

30

## 【 0 3 7 6 】

40

50



表 3 3 : N a 1 m 6 野生型細胞、N a 1 m 6 C D 2 0 K O 細胞、及び N a 1 m 6 C D 1 9 K O 細胞との 1 6 時間の共培養における抗 C D 2 0 / 抗 C D 1 9 バイシストロン性 C A R - T 細胞の活性化

結合モチーフ番号	抗体番号	標的細胞との 1 6 時間の共培養に際しての 4 - 1 B B の %					
		N a 1 m 6 野生型		N a 1 m 6 C D 1 9 K O		N a 1 m 6 C D 2 0 K O	
B i c - 2	A b 3	3 1 . 9 3	3 3 . 7 5	4 2 . 8 4	3 1 . 4 6	2 8 . 5 7	2 2 . 8 2
B i c - 8	A b 8	2 5 . 2 3	2 7 . 7 1	3 9 . 2	4 0 . 0 4	2 5 . 5 7	2 7 . 1
B i c - 9	A b 9	2 4 . 3 5	3 2 . 5 4	2 5 . 9 5	2 6 . 9 9	1 8 . 8 7	2 1 . 6 6
B i c - 1 4	A b 4	2 8 . 3 3	2 7 . 0 5	2 7 . 8 1	2 8 . 2 1	1 8 . 6 5	2 2 . 4
N T D	N / A	1 . 3 1	1 . 5 1	5 . 0 1	6 . 1	2 . 6 6	2 . 2 3
A b 1 1	N / A	2 3 . 6 3	2 0 . 6	5 . 3 9	5 . 5 8	2 4 . 3 3	1 9 . 0 5
A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性	N / A	1 7 . 5 6	1 9 . 2 5	1 8 . 8 5	1 9 . 0 6	1 5 . 2 2	1 3 . 3 1
A b 1 1 / A b 1 2 二重特異性	N / A	2 5 . 8 9	2 2 . 7 1	2 2 . 2 4	2 2 . 9 3	1 9 . 8 2	1 5 . 4 6

10

20

## 【 0 3 7 7 】

## 実施例 8

実施例 4 に記載されるように、T 細胞を標的細胞と共培養した。T 細胞産物の増殖能を、抗原を発現する標的細胞に対する応答における、N T D コントロール T 細胞と比較した C T V 色素の細胞分裂に主導される希釈のフローサイトメトリー分析によって決定した。共培養開始後の 4 日目に、抗原を発現する標的細胞と一緒に 3 : 1 の E : T 比率でプレ

30

## 【 0 3 7 8 】

コントロールは、ネガティブコントロールとしての非形質導入 ( N T D ) T 細胞 ( すなわち、C A R を発現しない T 細胞 )、コントロール抗 C D 1 9 結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、コントロール抗 C D 2 0 結合作用物質で形質導入された細胞、コントロール二重特異性抗原結合系 ( A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性 ) で形質導入

40

## 【 0 3 7 9 】

50

表 3 4 : N a l m 6 野生型細胞及びR a j i 野生型細胞との 4 日間の共培養における抗C D 2 0 C A R - T 細胞の蛍光

結合モチーフ番号	抗体番号	N a l m 6 野生型		R a j i 野生型	
		C T V	M F I	C T V	M F I
2	A b 3	4 9 0 2 .	5 6	3 1 0 0 .	8
3	A b 5	3 4 2 6 .	8 3	2 6 4 0 .	1 4
5	A b 6	6 3 9 6 .	8 7	3 0 4 1 .	4 6
6	A b 1 0	5 6 4 5 .	6 2	2 1 7 7 .	0 5
7	A b 7	4 6 9 8 .	9 4	2 4 8 3 .	3 1
8	A b 8	4 9 0 5 .	7	2 0 6 8 .	9 7
9	A b 9	5 0 3 9 .	6 4	2 0 3 3 .	5 9
1 0	A b 1	1 0 3 1 6 .	8 9	5 6 5 3 .	5 6
1 4	A b 4	4 6 4 0 .	4 9	2 2 0 0 .	1
1 6	A b 2	9 1 2 9 .	9	3 0 9 7 .	4 9
N T D	N / A	7 7 3 9 .	3 7	4 8 1 6 .	3 2
A b 1 1	N / A	3 5 4 8 .	7 2	2 1 1 3 .	7 2
A b 1 2	N / A	2 9 0 9 .	9 6	2 4 9 8 .	5 4

10

## 【 0 3 8 0 】

20

表 3 4 : N a l m 6 野生型細胞及びR a j i 野生型細胞との 4 日間の共培養における抗C D 2 0 C A R - T 細胞のパーセント増殖

結合モチーフ番号	抗体番号	N a l m 6 野生型		R a j i 野生型	
		%増殖		%増殖	
2	A b 3	6 8 .	7 7	7 4 .	9 5
3	A b 5	8 1 .	2 1	7 8 .	3 5
5	A b 6	4 0 .	4 3	7 8 .	6 8
6	A b 1 0	5 2 .	3 1	8 7 .	5 3
7	A b 7	7 6 .	2 3	7 8 .	4 8
8	A b 8	7 6 .	6	8 4 .	7 9
9	A b 9	7 5 .	9 1	8 7 .	4 2
1 0	A b 1	3 3 .	9 4	5 3 .	6 1
1 4	A b 4	7 6 .	1	8 0 .	6
1 6	A b 2	3 8 .	1 6	8 5 .	0 5
N T D	N / A	3 7 .	3 8	4 8 .	1 5
A b 1 1	N / A	7 4 .	9 6	8 6 .	9 8
A b 1 2	N / A	8 6 .	3 2	7 2 .	9

30

## 【 0 3 8 1 】

40

50

表 35 : N a l m 6 野生型細胞、N a l m 6 C D 1 9 K O 細胞、R a j i 野生型細胞、  
及びR a j i C D 1 9 K O 細胞との4日間の共培養における抗C D 2 0 / 抗C D 1 9  
バイシストロン性C A R - T 細胞の蛍光

		C e l l T r a c e V i o l e t (M F I)			
バイシストロン性結合モ チーフ番号	抗 体 番号	N a l m 6 野生型		N a l m 6 C D 1 9 K O	
		B i c - 2	A b 3	1 1 9 6 . 9 9	1 1 9 1 . 6 9
B i c - 8	A b 8	1 2 6 6 . 2 7	1 2 9 7 . 7 8	1 5 0 3 . 0 7	1 4 8 6 . 2 8
B i c - 9	A b 9	1 5 3 3 . 0 9	1 5 0 3 . 4 8	1 7 4 7 . 2 7	1 8 1 5 . 8 7
B i c - 1 4	A b 4	1 2 4 2 . 6 8	1 2 4 1 . 0 4	1 4 2 1 . 5 7	1 4 0 5 . 6 4
N T D	N / A	2 8 2 3 . 5 7	2 7 7 5 . 7 6	2 2 6 9 . 1 1	2 5 0 0 . 3
A b 1 1	N / A	1 3 0 7 . 5 2	1 2 7 3 . 5 1	2 3 9 2 . 6 3	2 3 5 0 . 3 7
A b 1 3 / A b 1 4 二重 特異性	N / A	1 4 3 4 . 1 9	1 4 0 6 . 8 1	1 4 0 9 . 4 2	1 6 1 4 . 7 1
A b 1 1 / A b 1 2 二重 特異性	N / A	1 2 0 7 . 6 7	1 3 5 8 . 1 5	1 3 1 9 . 4 5	1 4 4 8 . 7 5
バイシストロン性結合モ チーフ番号	抗 体 番号	R a j i 野生型		R a j i C D 1 9 K O	
		B i c - 2	A b 3	1 1 6 6 . 6 8	1 2 7 7 . 0 3
B i c - 8	A b 8	1 2 8 6 . 2 9	1 4 2 6 . 1 4	1 2 8 5 . 5 6	1 2 7 1 . 6 5
B i c - 9	A b 9	1 6 1 3 . 5 1	1 4 7 4 . 9 2	1 4 5 3 . 1 3	1 4 5 6 . 3 3
B i c - 1 4	A b 4	1 7 6 7 . 7 5	1 8 2 0 . 7 9	1 1 1 5 . 5 5	1 1 1 3 . 9 5
N T D	N / A	2 1 5 0 . 6 2	2 0 6 5 . 6 9	2 0 5 0 . 3 8	2 0 1 6 . 2 5
A b 1 1	N / A	1 5 7 5 . 1 7	1 4 3 8 . 1 2	2 0 1 1 . 8 5	1 7 9 3 . 8 7
A b 1 3 / A b 1 4 二重 特異性	N / A	1 3 3 0 . 3 9	1 7 0 8 . 9 5	1 4 0 7 . 7	1 6 2 8 . 6 2
A b 1 1 / A b 1 2 二重 特異性	N / A	1 6 3 6 . 5 6	1 7 7 3 . 5 6	1 3 4 7 . 7 5	1 4 2 6 . 6 1

10

20

30

40

【 0 3 8 2 】

50

表 36 : N a l m 6 野生型細胞、N a l m 6 C D 1 9 K O 細胞、R a j i 野生型細胞、及び R a j i C D 1 9 K O 細胞との 4 日間の共培養における抗 C D 2 0 / 抗 C D 1 9 バイシストロン性 C A R - T 細胞のパーセント増殖

バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	%増殖			
		N a l m 6 野生型		N a l m 6 C D 1 9 K O	
B i c - 2	A b 3	9 1 . 5 9	9 2 . 6 5	8 7 . 0 3	8 7 . 5 1
B i c - 8	A b 8	9 0 . 6 1	9 0 . 4 3	8 1 . 4 4	8 1 . 9 1
B i c - 9	A b 9	8 6 . 9 7	8 6 . 6	7 8 . 0 9	7 9 . 8 6
B i c - 1 4	A b 4	9 0 . 5 6	8 8 . 5 5	8 4 . 1 4	8 3 . 7 4
N T D	N / A	3 2 . 7 8	3 5 . 8 1	5 5 . 5 7	5 0 . 6 2
A b 1 1	N / A	9 0 . 4	9 0 . 3 7	4 3 . 6	4 6 . 5 6
A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性	N / A	8 7 . 3 7	8 6 . 4 2	8 9 . 0 6	8 0 . 1 9
A b 1 1 / A b 1 2 二重特異性	N / A	9 1 . 9 2	8 9 . 5 3	8 9 . 2 9	8 6 . 6
バイシストロン性結合モチーフ番号	抗体番号	R a j i 野生型		R a j i C D 1 9 K O	
B i c - 2	A b 3	9 2 . 7 8	8 9 . 5 8	9 2 . 5 2	9 2 . 7 7
B i c - 8	A b 8	8 4 . 6 5	8 7 . 6 3	8 8 . 8 9	9 0 . 1 1
B i c - 9	A b 9	8 5 . 0 6	7 7 . 6 9	8 7 . 2	8 7 . 8 1
B i c - 1 4	A b 4	8 3 . 4 3	8 8 . 9	9 1 . 9 6	9 1 . 3 8
N T D	N / A	6 4 . 5	6 5 . 0 9	6 1 . 8 1	6 0 . 5 7
A b 1 1	N / A	9 2 . 0 1	8 8 . 4 6	5 7 . 5 1	5 6 . 5 5
A b 1 3 / A b 1 4 二重特異性	N / A	9 2 . 5 6	7 7 . 4 2	9 0 . 3 8	8 1 . 8
A b 1 1 / A b 1 2 二重特異性	N / A	8 9 . 1 6	8 7 . 2 3	9 1 . 4 8	8 8 . 6

10

20

30

40

## 【 0 3 8 3 】

## 実施例 9

本実施例は、抗 C D 2 0 抗原結合系で使用されるヒンジに関連するデータを提供する。本実施例の C A R - T 細胞は一価の抗 C D 2 0 C A R を含む。本実施例は、N S G マウスにおいて播種性ルシフェラーゼ発現 R a j i ヒト B 細胞リンパ腫モデルに対して C A R - T コンストラクトを試験している。毎週の血液試料を C A R - T の存続についてモニタリングした。生物発光イメージング ( B L I ) 及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。7 日目、1 3 日目、2 0 日目、2 7 日目、3 4 日目、及び 4 1 日目に分析のために全血を採取した。5 日目、1 2 日目、1 9 日目、2 6 日目、3 3 日目、及び 4 7 日目

50

に B L I を実施した。55 日目に研究を終了した。

【0384】

この研究の C A R - T 細胞を以下の表 3 7 に示す。表 3 7 の C A R - T 細胞型のそれぞれを 6 匹のマウスに投与した。表 3 7 はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。全ての C A R - T 細胞を  $2 \times 10^7$  個の細胞 / m L の用量で静脈内投与 ( Q D  $\times$  1 ) した。さらに、全てのマウスに  $36 \mu$  g の投与量のヒト I L - 2 を与えた ( ( Q 1 2 H  $\times$  2 ) Q D  $\times$  3 ) 。ヒト I L - 2 は C A R - T の存続及び生存を促進する。表 3 7 の群 4、群 5、及び群 7 ~ 群 10 として特定される C A R - T 細胞のコンストラクトは 4 1 B B 共刺激ドメインを含んでいた。表 3 7 の群 6 として特定される C A R - T 細胞は C D 2 8 共刺激ドメインを含んでいた。

10

【0385】

表 3 7 :

1	P B S コントロール
2	モックの C A R - T 細胞コントロール (非形質導入 T 細胞)
3	抗 C D 1 9 コントロール C A R を含む C A R - T 細胞
4	C D 8 ヒンジ ( 8 k ) を有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞
5	I g G 4 ヒンジを有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞
6	2 8 T ( C D 2 8 ) ヒンジを有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞
7	2 8 T ( C D 2 8 ) ヒンジを有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞
8	G 4 s $\times$ 1 リンカーを有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞
9	G 4 s $\times$ 2 リンカーを有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞
10	G 4 s $\times$ 3 リンカーを有する抗 C D 2 0 C A R 及び抗 C D 1 9 C A R ( バイシストロン性 C A R ) を含む C A R - T 細胞

20

30

【0386】

全ての C A R - T 細胞治療は、研究マウスによって十分に許容された。各群内で、治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷 ( % T / C ) の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント ( % P R ) 、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント ( % C R ) 、腫瘍のない生存者のパーセント ( % T F S ) 、及び寿命延長のパーセントを含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表 3 8 に示す。データは 55 日目の実験終了までのモニタリングを表すことに留意されたい。

【0387】

40

50

表 3 8

群番号	治療関連体重変化 (%)	治療関連死 (%)	腫瘍増殖遅延の中央値 (日)	% T / C の中央値 (12日目)	% P R	% C R	% T F S	寿命延長の%
1	-6.5	0	0	100	0	0	0	0.0
2	-15.9	0	0.4	73.8	0	0	0	9.1
3	5.6	0	>37.3	2.5	0	83	83	>345.5
4	-6	0	>37.3	2.1	0	100	100	>345.5
5	5.5	0	>37.3	2.4	0	100	83	>345.5
6	-2.7	0	15.5	4.6	0	0	0	131.8
7	4	0	>37.3	2.4	0	100	33	>345.5
8	1.3	0	35.6	3.8	0	33	0	331.8
9	3	0	23.3	2.3	0	100	0	186.4
10	-3.1	0	18.3	2.8	0	67	17	200.0

10

20

## 【0388】

## 実施例 10

本実施例は、抗CD19 CAR及び抗CD20 CARを含むバイシストロン性CARを含み、抗CD20 CARが様々な抗CD20結合モチーフ及び/又はヒンジを含むCAR-T細胞の抗腫瘍効力に関連するデータを提供する。

30

## 【0389】

バイシストロン性抗CD20/抗CD19 CAR-T細胞を、NSGマウスにおいて播種性ルシフェラーゼ発現Raji CD19KO B細胞リンパ腫瘍に対して試験した。毎週の血液試料をCAR-Tの存続についてモニタリングした。生物発光イメージング(BLI)及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。7日目、13日目、20日目、27日目、34日目、及び41日目に分析のために全血を採取した。5日目、12日目、19日目、26日目、33日目、40日目、及び48日目にBLIを実施した。55日目に研究を終了した。以下の表39の5行目~14行目に示されるこの研究のCAR-T細胞は、表39に示される抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR(28T(CD28)ヒンジ及びCD28共刺激ドメインを含むAb11 CAR)を含むバイシストロン性CAR-T細胞である。表39はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。CAR-T細胞を6匹のマウスに投与した(但し、4匹のマウスには非形質導入T細胞(表39の2行目)を与えた)。全てのCAR-T細胞を $1 \times 10^7$ 個の細胞/mL(2行目~7行目、9行目、11行目、及び13行目)又は $4 \times 10^6$ 個の細胞/mL(8行目、10行目、12行目、及び14行目)の用量で静脈内投与(QD x 1)した。さらに、全てのマウスに36 µgの投与量のヒトIL-2を与えた((Q12H x 2) QD x 3)。

40

## 【0390】

50

表 3 9

1	PBSコントロール	
2	モックのCAR-T細胞コントロール（非形質導入T細胞）	
3	抗CD20コントロールCAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）を含むCAR-T細胞	
4	抗CD20コントロールCARを含むCAR-T細胞	
5	抗CD20コントロールCAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CARを含むCAR-T細胞	
6	結合モチーフ番号9を含む抗CD20 CAR（CD28ヒンジ、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	10
7	結合モチーフ番号2を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	
8	結合モチーフ番号2を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	
9	結合モチーフ番号8を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	20
10	結合モチーフ番号8を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	
11	結合モチーフ番号9を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	
12	結合モチーフ番号9を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	
13	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	30
14	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR（CD8ヒンジ（8k）、41BB共刺激ドメイン）及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞	

## 【0391】

治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷（%T/C）の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント（%PR）、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント（%CR）、腫瘍のない生存者のパーセント（%TFS）、及び寿命延長のパーセント（ILS%）を含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表40に示す。データは55日目の実験終了までのモニタリングを表すことに留意されたい。

## 【0392】

全てのCAR-T細胞治療は、研究マウスによって十分に許容された。試験された全てのCAR-T細胞治療は抗腫瘍応答を誘発した。全ての治療レジメンで、30.2日を超える腫瘍増殖遅延の中央値、及び226.7%を超える寿命延長（ILS）が得られた。非形質導入（NTD）細胞での治療（24%）を除き、全ての治療レジメンで0%の19日目の%T/Cの中央値が得られた。

## 【0393】

10

20

30

40

50

表 4 0

群番号	治療関連 体重変化 (%)	治療関連 死 (%)	腫瘍増殖 遅延の中 央値 (日 )	%T/C の中央値 (19日 目)	%P R	%C R	%T FS	寿命延長 (ILS ) の%
1	-18.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	-2.1	0.0	>30.2	23.8	0.0	0.0	0.0	>226.7
3	-5.2	0.0	>30.2	0.0	0.0	10.0	10.0	>226.7
4	1.1	16.7	>30.2	0.0	0.0	10.0	10.0	>226.7
5	-1.0	0.0	>30.2	0.0	16.7	66.7	66.7	>226.7
6	2.0	0.0	>30.2	0.0	50.0	50.0	16.7	>226.7
7	-4.4	0.0	>30.2	0.0	0.0	66.7	66.7	>226.7
8	-2.4	0.0	>30.2	0.0	0.0	10.0	33.3	>226.7
9	-3.0	0.0	>30.2	0.0	33.3	66.7	50.0	>226.7
10	2.5	0.0	>30.2	0.0	0.0	83.3	33.3	>226.7
11	-2.7	0.0	>30.2	0.0	0.0	10.0	50.0	>226.7
12	4.6	0.0	>30.2	0.0	0.0	66.7	33.3	>226.7
13	4.0	0.0	>30.2	0.0	16.7	83.3	66.7	>226.7
14	5.4	0.0	>30.2	0.0	0.0	10.0	66.7	>226.7

10

20

30

## 【0394】

## 実施例 1 1

本実施例は、抗CD19結合モチーフ及び抗CD20結合モチーフを含む二重特異性CARを含むCAR-T細胞の抗腫瘍効力に関連するデータを提供する。二重特異性抗CD20/抗CD19 CAR-T細胞を、NSGマウスにおいて播種性ルシフェラーゼ発現Raji B細胞リンパ腫瘍に対して試験した。毎週の血液試料をCAR-Tの存続についてモニタリングした。生物発光イメージング(BLI)及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。7日目、13日目、20日目、27日目、32日目、及び41日目に分析のために全血を採取した。5日目、12日目、19日目、26日目、33日目、40日目、及び47日目にBLIを実施した。54日目に研究を終了した。

40

## 【0395】

以下の表41の4行目～8行目に示されるこの研究のCAR-T細胞は抗CD19結合モチーフ及び抗CD20結合モチーフを含み、抗CD19結合モチーフがAb11である

50



二重特異性CAR-T細胞である。表41はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。CAR-T細胞を、表41に示される用量でそこに示される匹数のマウスに投与した。全てのCAR-T細胞を静脈内投与(QD×1)した。さらに、全てのマウスに36μgの投与量のヒトIL-2を与えた((Q12H×2)QD×3)。

【0396】

表41

1	PBSコントロール(6匹のマウス)
2	モックのCAR-T細胞コントロール(非形質導入T細胞)( $1.5 \times 10^7$ 個の細胞、6匹のマウス)
3	抗CD19コントロールCARを含むCAR-T細胞( $1.2 \times 10^7$ 個の細胞、6匹のマウス)
4	単一特異性抗CD19 CAR( $1.5 \times 10^7$ 個の細胞、6匹のマウス)
5	抗CD20結合モチーフ番号2を含む抗CD20/抗CD19二重特異性CARを含むCAR-T細胞( $1.5 \times 10^7$ 個の細胞、5匹のマウス)
6	抗CD20結合モチーフ番号2を含む抗CD20/抗CD19二重特異性CARを含むCAR-T細胞( $1.0 \times 10^7$ 個の細胞、4匹のマウス)
7	抗CD20結合モチーフ番号8を含む抗CD20/抗CD19二重特異性CARを含むCAR-T細胞( $7.0 \times 10^6$ 個の細胞、6匹のマウス)
8	抗CD20結合モチーフ番号8を含む抗CD20/抗CD19二重特異性CARを含むCAR-T細胞( $1.5 \times 10^7$ 個の細胞、6匹のマウス)

10

20

【0397】

治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷(%T/C)の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント(%PR)、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント(%CR)、腫瘍のない生存者のパーセント(%TFS)、及び寿命延長のパーセント(ILS%)を含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表42に示す。抗腫瘍効力を観察した。

【0398】

表42

群番号	治療関連体重変化(%)	治療関連死(%)	腫瘍増殖遅延の中央値(日)	%T/Cの中央値(12日目)	%PR	%CR	%TFS	寿命延長(ILS%)の%
1	-10.2	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	-15.7	0.0	1.3	58.7	0.0	0.0	0.0	21.7
3	-4.1	0.0	25.5	6.0	0.0	83.3	0.0	295.7
4	-8.8	0.0	7.2	13.2	0.0	0.0	0.0	73.9
5	-3.5	0.0	11.7	12.2	0.0	0.0	0.0	113.0
6	0.2	0.0	10.4	9.6	0.0	0.0	0.0	160.9
7	1.9	50.0	>25.5	5.4	0.0	100.0	0.0	195.7
8	1.3	17.0	15.0	7.1	0.0	0.0	0.0	126.1

30

40

【0399】

50

実施例 1 2

本実施例は、( i ) 抗 CD 1 9 CAR 及び抗 CD 2 0 CAR を含むバイシストロン性 CAR、並びに ( i i ) 抗 CD 1 9 結合モチーフ及び抗 CD 2 0 結合モチーフを含む二重特異性 CAR を含む CAR - T 細胞の抗腫瘍効力に関連するデータを提供する。バイシストロン性及び二重特異性抗 CD 2 0 / 抗 CD 1 9 CAR - T 細胞を、NSG マウスにおいて播種性ルシフェラーゼ発現 Raji B 細胞リンパ腫瘍に対して試験した。毎週の血液試料を CAR - T の存続についてモニタリングした。生物発光イメージング ( B L I ) 及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。7 日目、1 3 日目、2 0 日目、2 7 日目、3 4 日目、及び 4 0 日目に分析のために全血を採取した。5 日目、1 2 日目、1 9 日目、2 6 日目、3 3 日目、及び 4 0 日目に B L I を実施した。4 8 日目に研究を終了した。

10

【 0 4 0 0 】

以下の表 4 3 に示されるこの研究の CAR - T 細胞は、抗 CD 2 0 結合モチーフ及び抗 CD 1 9 結合モチーフ ( A b 1 1 ) を含むバイシストロン性又は二重特異性の CAR - T 細胞である。表 4 3 はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。CAR - T 細胞を  $6.0 \times 10^6$  個の用量で投与した。CAR - T 細胞型のそれぞれを 6 匹のマウスに投与した。全ての CAR - T 細胞を静脈内投与 ( Q D x 1 ) した。さらに、全てのマウスに  $36 \mu g$  の投与量のヒト I L - 2 を腹腔内で与えた ( ( Q 1 2 H x 2 ) Q D x 3 ) 。

20

【 0 4 0 1 】

表 4 3

1	PBS コントロール
2	モックの CAR - T 細胞コントロール (非形質導入 T 細胞) ( $60.0 \times 10^6$ 個の細胞)
3	抗 CD 1 9 コントロール CAR を含む CAR - T 細胞 ( $2.6 \times 10^6$ 個の細胞)
4	配列番号 2 4 7 によるリンカーを有する抗 CD 1 9 CAR を含む CAR - T 細胞
5	G 4 S リンカーを有する抗 CD 1 9 CAR を含む CAR - T 細胞
6	結合モチーフ番号 2 を含むバイシストロン性 CAR を含む CAR - T 細胞
7	結合モチーフ番号 9 を含むバイシストロン性 CAR を含む CAR - T 細胞
8	結合モチーフ番号 1 4 を含むバイシストロン性 CAR を含む CAR - T 細胞
9	結合モチーフ番号 2 を含む二重特異性 CAR を含む CAR - T 細胞
1 0	結合モチーフ番号 9 を含む二重特異性 CAR を含む CAR - T 細胞
1 1	結合モチーフ番号 1 4 を含む二重特異性 CAR を含む CAR - T 細胞
1 2	コントロール二重特異性抗 CD 2 0 / 抗 CD 1 9 CAR を含む CAR - T 細胞
1 3	コントロール二重特異性抗 CD 2 0 / 抗 CD 1 9 CAR を含む CAR - T 細胞

30

【 0 4 0 2 】

治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷 ( % T / C ) の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント ( % P R )、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント ( % C R )、腫瘍のない生存者のパーセント ( % T F S )、及び寿命延長のパーセント ( I L S % ) を含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表 4 4 に示す。データは 4 8 日目の実験終了までのモニタリングを表すことに留意されたい。

40

【 0 4 0 3 】

全ての治療は許容された。非形質導入細胞及び L G 細胞を除く全ての治療レジメンで、少なくとも 2 1 日を超える腫瘍増殖遅延の中央値、2 2 3 % を超える寿命延長 ( I L S )、およそ 0 % の 1 2 日目の % T / C の中央値が得られ、多くで部分的な腫瘍退縮及び / 又は完全な腫瘍退縮が得られた。

50

## 【 0 4 0 4 】

表 4 4

群番号	治療関連体重変化 (%)	治療関連死 (%)	腫瘍増殖遅延の中央値 (日)	% T / C の中央値 (12日目)	% P R	% C R	% T F S	寿命延長 ( I L S ) の%
1	- 2 1 . 8	0 . 0	0 . 0	1 0 0 . 0	0 . 0	0 . 0	0 . 0	0 . 0
2	- 2 2 . 2	0 . 0	- 0 . 1	1 0 8 . 3	0 . 0	0 . 0	0 . 0	0 . 0
3	- 7	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 1	5 0 . 0	3 3 . 3	0 . 0	> 2 2 3 . 1
4	- 6 . 8	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 2	3 3 . 3	6 6 . 6	5 0 . 0	> 2 2 3 . 1
5	- 4 . 8	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 3	6 7 . 0	3 3 . 3	0 . 0	> 2 2 3 . 1
6	- 5 . 8	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 4	1 6 . 6	6 6 . 6	0 . 0	> 2 2 3 . 1
7	- 5 . 4	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 6	5 0 . 0	1 6 . 6	0 . 0	> 2 2 3 . 1
8	- 3 . 3	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 1	3 3 . 3	6 6 . 6	0 . 0	> 2 2 3 . 1
9	- 5 . 1	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 7	1 6 . 6	0 . 0	0 . 0	> 2 2 3 . 1
1 0	- 4 . 6	0 . 0	2 5 . 2	0 . 5	0 . 0	0 . 0	0 . 0	> 2 2 3 . 1
1 1	- 4 . 4	0 . 0	> 2 8 . 5	0 . 2	1 6 . 6	3 3 . 3	0 . 0	> 2 2 3 . 1
1 2	- 8 . 6	0 . 0	3 . 8	2 6 . 7	0 . 0	0 . 0	0 . 0	6 1 . 5
1 3	- 3 . 3	0 . 0	2 0 . 8	3 . 2	1 6 . 6	0 . 0	0 . 0	> 2 2 3 . 1

10

20

30

## 【 0 4 0 5 】

## 実施例 1 3

本実施例は、一価の抗 CD 2 0 CAR を含む CAR - T 細胞の抗腫瘍効力に関連するデータを提供する。抗 CD 2 0 CAR - T 細胞を、NSG マウスにおいて播種性ルシフェラーゼ発現 Raji B 細胞リンパ腫瘍 ( CD 1 9 WT ) に対して試験した。毎週の血液試料を CAR - T の存続についてモニタリングした。生物発光イメージング ( BLI ) 及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。5 日目、12 日目、21 日目、28 日目、33 日目、40 日目、及び 47 日目に BLI を実施した。55 日目に研究を終了した。以下の表 4 5 に示されるこの研究の CAR - T 細胞を、表 4 5 に示される投与量でそこに示される匹数のマウスに投与した。表 4 5 はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。全ての CAR - T 細胞を静脈内投与 ( Q D × 1 ) した。全てのマウスに 3 6 μ g の投与量の ヒト IL - 2 を与えた ( ( Q 1 2 H × 2 ) Q D × 3 ) 。

40

## 【 0 4 0 6 】

50

表 4 5

1	PBS コントロール (6 匹のマウス)	
2	モックの CAR-T 細胞コントロール (非形質導入 T 細胞) ( $1.5 \times 10^7$ 個の細胞) (6 匹のマウス)	
3	抗 CD19 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $6.58 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入 T 細胞 ( $8.39 \times 10^6$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	
4	抗 CD19 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $1.32 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入 T 細胞 ( $1.37 \times 10^7$ 個の細胞) (6 匹のマウス)	
5	抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $1.1 \times 10^7$ 個の細胞) + 非形質導入 T 細胞 ( $4.1 \times 10^6$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	10
6	抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $2.2 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入 T 細胞 ( $1.3 \times 10^7$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	
7	結合モチーフ番号 8 を含む抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $1.5 \times 10^7$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	
8	結合モチーフ番号 8 を含む抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $3.0 \times 10^6$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	
9	結合モチーフ番号 9 を含む抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $1.1 \times 10^7$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	
10	結合モチーフ番号 9 を含む抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $1.3 \times 10^6$ 個の細胞) (4 匹のマウス)	20
11	結合モチーフ番号 14 を含む抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $1.1 \times 10^7$ 個の細胞) + 非形質導入 T 細胞 ( $4.0 \times 10^6$ 個の細胞) (6 匹のマウス)	
12	結合モチーフ番号 14 を含む抗 CD20 CAR を含む CAR-T 細胞 ( $2.2 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入 T 細胞 ( $1.3 \times 10^7$ 個の細胞) (5 匹のマウス)	

## 【 0 4 0 7 】

治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷 (% T / C) の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント (% PR)、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント (% CR)、腫瘍のない生存者のパーセント (% TFS)、及び寿命延長のパーセント (ILS%) を含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表 4 6 に示す。

## 【 0 4 0 8 】

10

20

30

40

50

表 4 6

群番号	治療関連体重変化 (%)	寿命延長 (%)	12日目の%T/Cの中央値	腫瘍増殖遅延 (日)	%CR	%PR	%TFS
1	-17.1	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	-23.6	27.3	61.7	0.9	0.0	0.0	0.0
3	-4.9	218.2	3.7	20.5	0.0	0.0	0.0
4	-9.4	118.2	26.6	4.1	0.0	0.0	0.0
5	-8.4	>290.9	36.3	>35.9	60.0	0.0	0.0
6	-10.3	>290.9	59.2	29.5	0.0	0.0	0.0
7	-8.7	>290.9	4.3	>35.9	0.0	0.0	0.0
8	-5.1	>290.9	42.7	5.7	0.0	0.0	0.0
9	-10.2	>290.9	3.3	>35.9	40.0	0.0	40.0
10	-11.2	263.6	58.0	4.4	0.0	0.0	0.0
11	-5.9	227.3	24.0	18.7	0.0	0.0	0.0
12	-10.0	254.5	50.7	2.9	0.0	0.0	0.0

10

## 【0409】

20

## 実施例 14

本実施例は、抗CD19 CAR及び抗CD20 CARを含むバイシストロン性CARを含むCAR-T細胞の抗腫瘍効力、並びに一価の抗CD20 CARを含むCAR-T細胞の抗腫瘍効力に関連するデータを提供する。CAR-T細胞を、NSGマウスにおいて播種性ルシフェラーゼ発現Raji B細胞リンパ腫瘍に対して試験した。毎週の血液試料をCAR-Tの存続についてモニタリングした。生物発光イメージング(BLI)及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。5日目、12日目、19日目、26日目、33日目、及び40日目にBLIを実施した。

## 【0410】

30

この研究のCAR-T細胞を以下の表47に示す。表47はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。群1~群10はコントロール及び単一特異性CAR-T細胞のみを含むのに対して、群11~群16はバイシストロン性CAR-T細胞を含む。バイシストロン性CAR-T細胞は、表39に示される抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR(Ab11 CAR)を含む。表47に示される各条件は6匹のマウスを含んでいた。全てのCAR-T細胞を示される用量で静脈内投与(QD×1)した。さらに、全てのマウスに36µgの投与量のヒトIL-2を腹腔内で与えた((Q12H×2)QD×3)。

## 【0411】

40

50

表 4 7

1	PBSコントロール	
2	モックのCAR-T細胞コントロール（非形質導入T細胞）（ $9.0 \times 10^6$ 個の細胞）	
3	モックのCAR-T細胞コントロール（非形質導入T細胞）（ $1.4 \times 10^7$ 個の細胞）	
4	Ab11結合モチーフを含む抗CD19コントロールCARを含むCAR-T細胞（ $1.40 \times 10^7$ 個の細胞）	
5	Ab11結合モチーフを含む抗CD19コントロールCARを含むCAR-T細胞（ $7.0 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $2.00 \times 10^6$ 個の細胞）	10
6	Ab11結合モチーフを含む抗CD19コントロールCARを含むCAR-T細胞（ $1.40 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $7.60 \times 10^6$ 個の細胞）	
7	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CARを含むCAR-T細胞（ $6.80 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $2.20 \times 10^6$ 個の細胞）	
8	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CARを含むCAR-T細胞（ $1.40 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $7.60 \times 10^6$ 個の細胞）	
9	コントロール抗CD20 CARを含むCAR-T細胞（ $7.0 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $2.00 \times 10^6$ 個の細胞）	20
10	コントロール抗CD20 CARを含むCAR-T細胞（ $1.40 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $7.60 \times 10^6$ 個の細胞）	
11	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞（ $7.50 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $1.40 \times 10^6$ 個の細胞）	
12	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞（ $1.50 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $7.50 \times 10^6$ 個の細胞）	
13	抗CD20 CARコントロール及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞（ $8.0 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $9.50 \times 10^6$ 個の細胞）	30
14	抗CD20 CARコントロール及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞（ $1.60 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $7.40 \times 10^6$ 個の細胞）	
15	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞（ $9.0 \times 10^6$ 個の細胞）	
16	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR（バイシストロン性CAR）を含むCAR-T細胞（ $1.80 \times 10^6$ 個の細胞）＋非形質導入T細胞（ $7.20 \times 10^6$ 個の細胞）	40

## 【0412】

治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷（%T/C）の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント（%PR）、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント（%CR）、腫瘍のない生存者のパーセント（%TFS）、及び寿命延長のパーセント（ILS%）を含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表48に示す。全てのCAR-T細胞治療は、研究マウスによって十分に許容された。

## 【0413】

表 4 8

群番号	治療関連 体重変化 (%)	治療関連 死 (%)	寿命延長 (%)	12日 目のΔ T/Δ Cの中 央値	腫瘍増 殖遅延 (日)	%C R	%P R	%T F S
1	-16.5	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	-23.9	0.0	28.0	67.3	0.9	0.0	0.0	0.0
3	-23.0	0.0	28.0	84.8	0.3	0.0	0.0	0.0
4	-10.8	0.0	>188.0	4.6	>28.3	33.3	0.0	0.0
5	-2.6	0.0	>188.0	5.6	>28.3	0.0	0.0	0.0
6	-4.2	0.0	164.0	6.9	20.4	0.0	0.0	0.0
7	-9.0	0.0	>188.0	4.9	>28.3	16.6	0.0	16.6
8	-4.4	0.0	>188.0	9.0	>28.3	0.0	0.0	0.0
9	-9.1	0.0	>188.0	4.5	>28.3	0.0	0.0	0.0
10	-0.5	0.0	188.0	9.0	24.5	0.0	0.0	0.0
11	-7.3	0.0	>188.0	4.8	>28.3	0.0	0.0	0.0
12	-2.9	0.0	>188.0	7.6	24.5	0.0	0.0	0.0
13	-4.6	0.0	>188.0	4.4	>28.3	0.0	0.0	0.0
14	-0.8	0.0	>188.0	7.2	>28.3	0.0	0.0	0.0
15	-6.2	0.0	>188.0	5.0	>28.3	0.0	0.0	0.0
16	-4.9	0.0	>188.0	5.0	>28.3	0.0	0.0	0.0

10

20

30

40

50

## 【0414】

## 実施例15

本実施例は、抗CD19 CAR及び抗CD20 CARを含むバイシストロン性CARを含むCAR-T細胞の抗腫瘍効力、並びに一価の抗CD20 CARを含むCAR-T細胞の抗腫瘍効力に関連するデータを提供する。CAR-T細胞を、NSGマウスにおいてルシフェラーゼ発現NALM6ヒト急性リンパ芽球性白血病モデルに対して試験した。血液試料をCAR-Tの存続についてモニタリングした。生物発光イメージング(BLI)及び生存エンドポイントに基づいて応答を評価した。4日目、11日目、20日目、25日目、32日目、及び39日目に分析のために全血を採取した。3日目、10日目、18日目、24日目、31日目、38日目、及び45日目にBLIを実施した。48日目に研究を終了した。

## 【 0 4 1 5 】

この研究のCAR-T細胞を以下の表49に示す。表49はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。群1～群8はコントロール及び単一特異性CAR-T細胞のみを含むのに対して、群9～群12はバイシストロン性CAR-T細胞を含む。バイシストロン性CAR-T細胞は、表49に示される抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR (Ab11 CAR)を含む。表49に示される各条件は6匹のマウスを含んでいた。全てのCAR-T細胞を示される用量で静脈内投与(QD×1)した。

## 【 0 4 1 6 】

表49

1	PBSコントロール	10
2	モックのCAR-T細胞コントロール(非形質導入T細胞)( $1.1 \times 10^7$ 個の細胞)	
3	Ab11結合モチーフを含む抗CD19コントロールCARを含むCAR-T細胞( $9.70 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $8.90 \times 10^5$ 個の細胞)	
4	Ab11結合モチーフを含む抗CD19コントロールCARを含むCAR-T細胞( $1.90 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $8.70 \times 10^6$ 個の細胞)	
5	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CARを含むCAR-T細胞( $6.50 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $4.10 \times 10^6$ 個の細胞)	20
6	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CARを含むCAR-T細胞( $1.30 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $9.30 \times 10^6$ 個の細胞)	
7	コントロール抗CD20 CARを含むCAR-T細胞( $7.00 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $3.60 \times 10^6$ 個の細胞)	
8	コントロール抗CD20 CARを含むCAR-T細胞( $1.40 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $9.20 \times 10^6$ 個の細胞)	
9	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR (バイシストロン性CAR)を含むCAR-T細胞( $1.10 \times 10^7$ 個の細胞)	
10	結合モチーフ番号14を含む抗CD20 CAR及び抗CD19 CAR (バイシストロン性CAR)を含むCAR-T細胞( $2.10 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $8.50 \times 10^6$ 個の細胞)	30
11	抗CD20 CARコントロール及び抗CD19 CAR (バイシストロン性CAR)を含むCAR-T細胞( $8.4 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $2.30 \times 10^6$ 個の細胞)	
12	抗CD20 CARコントロール及び抗CD19 CAR (バイシストロン性CAR)を含むCAR-T細胞( $1.70 \times 10^6$ 個の細胞) + 非形質導入T細胞( $9.00 \times 10^6$ 個の細胞)	

## 【 0 4 1 7 】

治療関連体重変化、治療関連死、腫瘍増殖遅延の中央値、コントロールと比較した腫瘍負荷(%T/C)の中央値、部分的な腫瘍退縮を示す動物のパーセント(%PR)、完全な腫瘍退縮を示す動物のパーセント(%CR)、腫瘍のない生存者のパーセント(%TFS)、及び寿命延長のパーセント(ILS%)を含む幾つかの指標をモニタリングした。結果を以下の表50に示す。全てのCAR-T細胞治療は、研究マウスによって許容された。

## 【 0 4 1 8 】

10

20

30

40

50



表 5 0

群番号	治療関連 体重変化 (%)	治療関連 死 (%)	寿命延長 ( I L S ) (%)	腫瘍増 殖遅延 の中央 値 (日)	% T / C の中央値 ( 1 8 日 目)	% P R	% C R	% T F S
1	2. 8	0. 0	0. 0	0. 0	1 0 0. 0	0. 0	0. 0	0. 0
2	3. 8	0. 0	0. 0	0. 0	1 2 1. 6	0. 0	0. 0	0. 0
3	- 2. 2	0. 0	> 1 5 0 . 0	2 7. 0	0. 0	5 0 . 0	5 0 . 0	1 6 . 6
4	3. 9	0. 0	7 2. 2	1 3. 0	0. 2	3 3 . 3	0. 0	0. 0
5	- 8. 7	0. 0	> 1 5 0 . 0	2 7. 0	0. 0	6 6 . 6	0. 0	0. 0
6	- 2. 2	0. 0	8 6. 1	1 5. 5	1 3. 5	0. 0	0. 0	0. 0
7	- 5. 4	0. 0	1 0 5. 6	1 9. 0	1. 5	0	0. 0	0. 0
8	- 2. 4	0. 0	9 7. 2	1 7. 5	3 9. 4	0. 0	0. 0	0. 0
9	- 2. 2	0. 0	> 1 5 0 . 0	2 7. 0	0. 0	8 3 . 3	1 6 . 6	1 6 . 6
1 0	- 2. 2	0. 0	> 1 5 0 . 0	2 7. 0	0. 1	1 0 0. 0	0. 0	0. 0
1 1	6. 5	0. 0	> 1 5 0 . 0	2 7. 0	0. 0	1 0 0. 0	0. 0	0. 0
1 2	1 0. 3	0. 0	1 1 1. 1	2 0. 0	0. 2	1 6 . 6	0. 0	0. 0

10

20

30

## 【 0 4 1 9 】

## 実施例 1 6

本実施例は、CARの構成要素として使用される配列に関連するデータを提供する。4つの抗CD20結合モチーフを、4つのヒンジ(CD8ヒンジ(8k)、短縮されたCD28ヒンジ(28T)、G4Sリンカーを有する短縮されたCD28ヒンジ、及びIgG4ヒンジ(I4))と組み合わせて試験する。全ての二重特異性CAR及びバイシストロン性CARは、Ab11抗CD19結合モチーフを含む。CD4<sup>+</sup>T細胞及びCD8<sup>+</sup>T細胞を、健康なドナー由来のアフェレーシス材料からポジティブセレクションによって分離し、これらを使用して抗CD20一価CAR T細胞産物又は抗CD20/抗CD19バイシストロン性CAR T細胞産物を作製した。T細胞を結合された抗CD3抗体及び可溶性CD28抗体で活性化し、CARコンストラクトをコードするレンチウイルスベクターで形質導入した。コントロールとして、非形質導入(NTD)T細胞を同じドナーT細胞から並行して作製した。採取日(製造の8日目~10日目)に、CAR T細胞産物を染色し、フローサイトメトリーによって分析して形質導入効率を評価し、共培養アッセイで使用した。一価CARをコードするベクター及びバイシストロン性CARをコードするベクターによるT細胞の形質導入効率をモニタリングした。

40

## 【 0 4 2 0 】

50

一価のCARをコードするベクターのT細胞形質導入効率を決定するために、CAR-T産物を、固定可能な生存率色素の存在下で一連の抗体（抗CD3、抗CD4、抗CD8、及び抗リンカー）で染色し、フローサイトメトリーによって分析して、生存しているCAR陽性細胞のパーセンテージを評価した。抗リンカー抗体は、抗CD20 CARの結合モチーフの重鎖と軽鎖との間のリンカーに結合する抗体であり、形質導入効率を測定するのに使用される。コントロールは、非形質導入細胞（NTD）、コントロール抗CD19結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、及びコントロール抗CD20結合作用物質（Ab12結合モチーフ）で形質導入された細胞を含んでいた。

#### 【0421】

バイシストロン性CARをコードするベクターのT細胞形質導入効率を決定するために、CAR-T産物を固定可能な生存率色素の存在下で一連の抗体（抗CD3、抗CD4、抗CD8、抗イディオタイプ、及び抗リンカーを含む）で染色し、フローサイトメトリーによって分析して、生存しているCAR陽性細胞のパーセンテージを評価した。抗イディオタイプ抗体は、抗CD19結合モチーフであるAb11の結合モチーフに結合する。したがって、抗イディオタイプ抗体は抗CD19 CARに結合する。抗イディオタイプ抗体を使用して、抗CD19 CARの形質導入効率を測定する。抗リンカー抗体を使用して、抗CD20 CARの形質導入効率を測定する。コントロールは、非形質導入細胞（NTD）、コントロール抗CD19結合作用物質を含むレトロウイルスで形質導入された細胞、及びコントロール抗CD20/抗CD19二重特異性CAR（Ab13/Ab14二重特異性、Ab11/Ab12二重特異性）で形質導入された細胞を含んでいた。

#### 【0422】

培養物中のT細胞の追跡を容易にするために、CAR-T細胞をCellTrace（商標）Violet（CTV）試薬で製造業者の指示に従って標識し、引き続きR-10%培地で洗浄した。CAR-T標的抗原を発現する細胞（「標的細胞」）の追跡を容易にするために、ルシフェラーゼを発現するように標的細胞を操作した。ルシフェラーゼを発現する標的細胞は、両者ともCD19及びCD20の両方の抗原を発現するNa1m6及びRajiを含んでいた。さらに、CD19又はCD20を発現しないNa1m6細胞及びRaji細胞（ノックアウト細胞、すなわちKO）を作製した。これらのCD19KO及びCD20KO細胞をNa1m6親細胞及びRaji親細胞からクローン選択した。これらのCD19KO及びCD20KO細胞は、それぞれCD20を発現するがCD19を発現しないか、又はCD19を発現するがCD20を発現しない。CD19KO及びCD20KO株を作製し、これらをコントロールとして使用して、バイシストロン性抗CD20/抗CD19 CARを発現する細胞の各CARの抗原結合を機能的に評価した。

#### 【0423】

ルシフェラーゼを発現する標的細胞を、CTV標識されたCAR-T細胞と一緒にR-10%培地において様々な比率でプレティングした（共培養の0日目）。この比率は、エフェクター（CAR-T）細胞対標的細胞の比率（エフェクター：標的、すなわちE:T）と呼称され得る。細胞を所望の比率でプレティングするために、1ウェル当たりの標的細胞の数を25000個の細胞で一定に保ちながら、CAR-T細胞を2倍～3倍に段階希釈した。共培養物を37℃で16時間（h）又は4日間インキュベートし、以下に記載されるように機能的評価を行った。

#### 【0424】

T細胞媒介細胞傷害性は、単独でプレティングされた標的細胞によって発されたシグナルと比較した共培養ウェルにおける標的ルシフェラーゼシグナルの減少の関数として測定された。共培養開始後の4日目に、D-ルシフェリン基質を0.14mg/mLの最終濃度で共培養ウェルに添加し、プレートを37℃で暗所にて10分間インキュベートした。発光シグナルを、直後にVarioskan（商標）LUX又はVarioskan（商標）Flashマルチモードマイクロプレートリーダーで読み取った。T細胞媒介細胞傷害性は、以下のように計算した： $\%細胞傷害性 = [1 - (対象となる試料 / 標的単独のコントロール)] \times 100$ 。

10

20

30

40

50

## 【0425】

サイトカイン産生を共培養で16時間後に測定した。その時点で上清を収集し、Mes o Scale Discovery V-PLEX炎症誘発性パネル1ヒトキットを製造業者の指示に従って使用して、サイトカインレベルについて分析した。抗原を発現する標的細胞と一緒に1:1のE:T比率でプレATINGされたT細胞産物の共培養物からの上清を、抗原結合により媒介されるインターフェロン(IFN-)、IL-2、腫瘍壊死因子(TNF-)、及びIL-10の分泌のレベルについて分析した。全ての試料を検出範囲内となるように希釈した。各サイトカインのレベルをpg/mLとして報告し、各アッセイの定量下限及び定量上限を報告する。

## 【0426】

16時間の共培養後にT細胞活性化を測定するために、抗原陽性の標的細胞と一緒に指定されたE:T比率でプレATINGされたT細胞産物を採取し、一連の抗体-蛍光体で染色して、T細胞(CD3、CD4、CD8)及び活性化マーカーの4-1BBを特定し、フローサイトメトリーによって分析した。固定可能な生存率色素により、生細胞の分析が可能であった。事象を、生細胞(生存率色素陰性)、リンパ球(前方散乱[FS C]面積対側方散乱[SS C]面積プロットを使用する)、単一細胞(FS C面積対FS C高さプロットを使用する)、そして次にT細胞(CD3+)に対して系統的にゲーティングした。次いで、T細胞を活性化のレベル(すなわち、4-1BB+細胞のパーセンテージ)について分析した。NTDコントロールT細胞によって発現されるレベルに基づいて、4-1BBゲーティング閾値を設定した。

## 【0427】

T細胞産物の増殖能を、抗原を発現する標的細胞に対する応答における、NTDコントロールT細胞と比較したCTV色素の細胞分裂に主導される希釈のフローサイトメトリー分析によって決定した。共培養開始後の4日目に、抗原を発現する標的細胞と一緒に3:1のE:T比率でプレATINGされたT細胞産物を採取し、固定可能な生存率色素の存在下で一連の抗体-蛍光体(CD3、CD4、CD8)で染色して、生存しているT細胞を特定し、フローサイトメトリーによって分析した。増殖している細胞のパーセンテージ及びCTVシグナルの平均蛍光強度(MFI)を報告する。CTVのMFIの減少は、産物が経た細胞分裂のラウンド数に比例する。

## 【0428】

この実施例で使用されるCAR-T細胞は、以下の表51で特定されるCARを含んでいた。表51はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。形質導入効率を表52に示す。Nalm6(CD19+、CD20low)、Nalm6 CD19KO(CD19-、CD20+)、Raji(CD19+、CD20+)、及びRaji CD19KO(CD19-、CD20+)における4日目の細胞傷害性を、表53A~表53Dに示す。Nalm6 CD19KO標的細胞における1:3のE:T比率での共培養14時間後のサイトカイン産生を、pg/mLで測定して表54A~表54Dに示す(条件ごとに2回反復)。共培養16時間後の4-1BBの上方調節によって測定されるT細胞活性化(4-1BB+生T細胞のパーセント)を表55A~表55Dに示す(条件ごとに2回反復)。共培養後4日目のT細胞の増殖を表56に示す(増殖しているCD3+のパーセント、条件ごとに2回反復)。

## 【0429】

10

20

30

40

50

表 5 1

	タイプ (例えば、バイシストロン性対二重特異性)	
1	非形質導入コントロール	
2	G 4 S リンカーを含む単一特異性抗 CD 19 CAR	
3	G 4 S リンカーを含む単一特異性抗 CD 19 CAR	
4	G 4 S リンカーを含む単一特異性抗 CD 19 CAR	
5	CD 8 ヒンジ (8 k) を含む単一特異性抗 CD 20 CAR	
6	抗 CD 20 CAR が CD 8 ヒンジ (8 k) を含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
7	抗 CD 20 CAR が I g G 4 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	10
8	バイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
9	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 2 及び CD 8 ヒンジ (8 k) を含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
10	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 8 及び CD 8 ヒンジ (8 k) を含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
11	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 9 及び CD 8 ヒンジ (8 k) を含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
12	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 14 及び CD 8 ヒンジ (8 k) を含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
13	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 2 及び CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	20
14	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 8 及び CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
15	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 9 及び CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
16	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 14 及び CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
17	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 2 及び G 4 S リンカーを有する CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
18	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 8 及び CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
19	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 9 及び G 4 S リンカーを有する CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	30
20	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 14 及び G 4 S リンカーを有する CD 28 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
21	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 2 及び I g G 4 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
22	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 8 及び I g G 4 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
23	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 9 及び I g G 4 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	
24	抗 CD 20 CAR が結合モチーフ番号 14 及び I g G 4 ヒンジを含むバイシストロン性抗 CD 20 / 抗 CD 19 CAR	40

【 0 4 3 0 】

表 5 2

群		1	2	5	6	7	8
CD 1 9 CAR + 生 T 細胞の%		0. 5 6	5 9. 5 2	2. 3 5	4 7. 5 4	2 9. 0 5	5 6. 7 7
CD 2 0 CAR + 生 T 細胞の%		0. 0 9	6 9. 3	7 5. 7 6	4 9. 3 3	4 0. 1 3	6 0. 9 9
群		9	1 0	1 1	1 2	1 3	1 4
CD 1 9 CAR + 生 T 細胞の%		5 2. 7 2	5 0. 2	4 4. 7 2	4 0. 2 8	3 8. 9 9	3 4. 1 2
CD 2 0 CAR + 生 T 細胞の%		4 6. 4 2	4 5. 5 7	4 1. 3 6	3 7. 0 4	3 7. 1 5	3 4. 7
群		1 5	1 6	1 7	1 8	1 9	2 0
CD 1 9 CAR + 生 T 細胞の%		3 4. 8 7	5 1. 3 2	2 8. 8 9	4 1. 6 9	4 1. 3 4	3 6. 2 2
CD 2 0 CAR + 生 T 細胞の%		3 3. 7 8	4 7. 9 7	2 8. 8 7	4 1. 8 2	4 1. 9 5	3 5. 1 4
群		2 1	2 2	2 3	2 4		
CD 1 9 CAR + 生 T 細胞の%		3 7. 0 7	3 0. 6 2	3 2. 1 8	3 9. 9 3		
CD 2 0 CAR + 生 T 細胞の%		3 8. 6 9	4 1	4 1. 2 3	4 6. 4 3		

10

20

【 0 4 3 1 】

30

40

50

表 5 3 A

N a l m 6 野生型	群							
	1		2		3		4	
E : T 比率	3 0 .	2 1 .	- 2 2	- 1 1	- 0 .	- 1 2	- 1 3	- 1 1
1 対 2 4 3	2	9	. 9	. 5	5	. 1	. 8	. 7
1 対 8 1	- 0 .	- 7 .	- 2 0	- 1 6	- 8 .	- 1 0	- 2 7	- 1 1
	8	5	. 9	. 4	1	. 2	. 6	. 9
1 対 2 7	- 1 9	- 3 7	- 5 .	- 1 7	- 1 3	- 1 5	- 2 .	- 1 3
	. 5	. 2	7	. 2	. 3	. 9	1	. 2
1 対 9	- 1 3	- 2 0	1 4 .	- 1 .	8 . 7	- 5 .	1 3 .	1 . 2
	. 6	. 2	9	5		9	4	
1 対 3	- 7 .	- 2 8	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0
	1	. 9			. 1	. 1	. 1	. 1
3 対 1	1 6	4 . 6	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0
			. 4	. 1	. 5	. 1	. 5	. 1
E : T 比率	5		6		7		8	
1 対 2 4 3	- 1 4	- 1 2	- 4	- 1 0	- 7 .	- 1 1	- 9 .	- 9 .
	. 6	. 6		. 2	3	. 6	8	9
1 対 8 1	5 . 2	- 2 0	- 6 .	- 2 0	- 5 .	- 1 5	- 2 .	- 7
		. 1	2	. 5	7		2	
1 対 2 7	- 8	- 2 1	3 . 2	- 1 0	6	- 5 .	- 8 .	- 8 .
		. 2		. 9		5	1	9
1 対 9	- 1 .	0 . 6	1 9 .	1 6 .	1 9	1 . 7	1 8 .	1 1
	8		4	1			7	
1 対 3	1 0 0	9 9 .	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	9 9 .
	. 1	9	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	9
3 対 1	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0
	. 5	. 1	. 5	. 1	. 5	. 1	. 4	
E : T 比率	9		1 0		1 1		1 2	
1 対 2 4 3	4 3 .	4 8 .	- 1 6	0 . 7	- 8 .	- 1 4	- 3 .	- 1 9
	6	1			3	. 3	1	. 9
1 対 8 1	9 . 5	2 0 .	- 7 .	- 2 .	- 1 0	- 2 2	- 1 0	- 1 4
		1	5	4	. 7	. 4	. 2	. 2
1 対 2 7	- 8 .	0 . 9	- 8 .	- 1 .	- 1 2	- 9 .	3	- 1 3
	2		9	6	. 8	7		
1 対 9	6 . 5	1 0 .	0 . 3	5	- 2 .	- 1 0	- 0 .	- 1 6
		3			3	. 9	4	. 9
1 対 3	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0
		. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1
3 対 1	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0
	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1
E : T 比率	1 3		1 4		1 5		1 6	
1 対 2 4 3	- 1 1	- 2 1	- 1 3	- 2 1	- 9	- 1 6	- 2 .	- 1 2
	. 6	. 9	. 8	. 2		. 6	9	. 6
1 対 8 1	- 1 1	- 3 1	- 2 0	- 2 5	- 1 5	- 2 0	- 6 .	- 8
		. 6	. 8		. 7	. 6	3	
1 対 2 7	- 1 3	- 1 0	- 2 2	- 4 .	- 1 5	- 1 1	0 . 9	3 . 2
	. 6	. 1	. 3	6	. 4	. 1		
1 対 9	- 6 .	- 2 0	- 7 .	- 7 .	- 1 3	- 1 7	1 4 .	1 7 .
	5	. 4	1	5	. 3	. 6	1	3
1 対 3	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	1 0 0	9 9 .
	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	. 1	1 0 0	9

10

20

30

40

50

3 対 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0	1 0 0
E : T 比率	1 7		1 8		1 9		2 0	
1 対 2 4 3	3 0. 4	3 2. 6	- 1. 9	- 6. 4	- 2. 2	- 1 6	- 1 8 . 5	- 1 3
1 対 8 1	8 . 7	9 . 1	- 8 . 1	- 5 . 6	- 2 0 . 8	- 1 9 . 4	- 3 1 . 6	- 2 6 . 6
1 対 2 7	1 . 5	- 3 . 7	- 0 . 9	- 6	- 4 . 1	- 7	- 1 5 . 6	- 1 0 . 9
1 対 9	6 . 5	0	- 4 . 7	- 1 . 4	- 0 . 6	1 1 . 7	- 2 2	- 4 . 2
1 対 3	1 0 0 . 1	1 0 0	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0
3 対 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5
E : T 比率	2 1		2 2		2 3		2 4	
1 対 2 4 3	- 1 1 . 2	- 1 2 . 1	- 9 . 4	- 3 2 . 5	- 1 0 . 9	- 2 9 . 1	- 1 7 . 9	- 1 9 . 8
1 対 8 1	- 2 2 . 6	- 1 7 . 9	- 2 0 . 9	- 2 6 . 9	- 1 7 . 6	- 2 4 . 6	- 1 7 . 4	- 1 9 . 2
1 対 2 7	- 5 . 1	- 8 . 3	6 . 1	- 7 . 6	- 2 . 2	- 9 . 4	3 . 6	- 2 . 6
1 対 9	- 8 . 6	- 2 . 4	0 . 4	1 4 . 4	2 2 . 5	- 3 . 5	1 9 . 5	5 . 3
1 対 3	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0	9 9 . 9
3 対 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5	1 0 0 . 1	1 0 0 . 5	1 0 0	1 0 0 . 4

10

20

【 0 4 3 2 】

30

40

50

表 5 3 B

N a l m 6 C D 1 9 K O	群							
E : T 比率	1		2		3		4	
1 対 2 4 3	-10 .2	-10 .7	-14 .4	-14 .8	-7. 3	-11 .3	-15 .8	-14 .1
1 対 8 1	-8. 7	-21 .5	-5	-14 .6	-5. 8	-16 .6	-7. 8	-12 .2
1 対 2 7	3. 8	-18 .2	-2. 3	-13 .6	-4. 7	-21 .8	-1	-18 .8
1 対 9	-0. 2	-11 .2	-3. 5	-10 .3	-3. 8	-13 .7	-4. 8	-3. 6
1 対 3	39. 2	30. 5	33. 6	19. 8	33. 2	24. 5	33. 9	26. 7
3 対 1	56. 2	41. 9	39. 4	32. 6	43. 8	40. 7	38	32. 9
E : T 比率	5		6		7		8	
1 対 2 4 3	-9	-15 .4	-8. 2	-13 .9	-12 .9	-11 .9	-11 .1	-9. 2
1 対 8 1	6. 3	-4. 5	-1. 9	-9. 9	-3. 6	-13 .4	5. 3	5. 3
1 対 2 7	13. 6	16. 5	18. 8	5. 5	10	-0. 6	23. 1	19. 3
1 対 9	40. 5	33. 2	45. 3	44. 7	35. 7	20. 2	59. 2	46. 4
1 対 3	100 .1	99. 9	100 .3	100 .1	99. 8	99. 7	100 .1	99. 8
3 対 1	100 .9	101 .1	101 .1	101 .2	101 .1	101 .2	101	101
E : T 比率	9		10		11		12	
1 対 2 4 3	-6	-8	-6	-11 .4	-8. 2	-7. 6	-7. 8	-4. 3
1 対 8 1	4. 4	10. 8	-1. 5	-0. 1	2. 3	0. 3	8. 5	10. 4
1 対 2 7	-2. 7	6. 1	12	-5. 9	4. 5	21. 5	38. 2	21. 7
1 対 9	32. 2	34. 6	17. 6	14. 1	17. 3	11. 4	30. 8	22. 7
1 対 3	100 .2	100 .8	100 .1	100 .9	100 .2	100 .8	100 .1	100 .8
3 対 1	101	101 .4	101	101 .4	101	101 .5	101	101 .4
E : T 比率	13		14		15		16	
1 対 2 4 3	-5. 3	-7. 2	-8. 6	5. 8	-5. 3	18. 7	-7. 4	8. 1
1 対 8 1	5	0. 5	-2. 5	9. 6	-1. 7	5. 8	7. 1	13
1 対 2 7	13. 6	18. 6	10. 4	40. 6	11. 9	27. 8	27. 8	28. 2
1 対 9	8. 4	3. 1	31. 3	20. 3	2. 2	7. 9	32. 3	42. 4
1 対 3	98. 2	99. 8	100 .2	100 .8	100 .1	100 .8	100	100 .6

10

20

30

40

50



3 対 1	9 9 . 6	1 0 0 . 1	1 0 1 . 1	1 0 1 . 4	1 0 1 . 1	1 0 1 . 3	1 0 1	1 0 1 . 3
E : T 比率	1 7		1 8		1 9		2 0	
1 対 2 4 3	- 1 . 9	- 5	- 8 . 5	- 1 2 . 4	- 9	- 7 . 7	- 1 2 . 7	- 1 4 . 3
1 対 8 1	- 5 . 9	- 1 0 . 3	- 1 0 . 6	- 1 0 . 5	- 4 . 8	- 1 1	- 1 1 . 2	- 1 5 . 9
1 対 2 7	- 5 . 6	- 2 . 8	1 . 4	- 0 . 4	1 6 . 1	1 4 . 8	- 0 . 7	2 . 4
1 対 9	2 1 . 5	4 . 9	8 . 9	3 . 7	2 0 . 6	3 5 . 4	1 . 3	7
1 対 3	9 7	9 4 . 4	1 0 0 . 2	1 0 0	1 0 0 . 3	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2	9 9 . 3
3 対 1	9 9 . 6	1 0 1 . 3	1 0 0 . 2	1 0 1 . 9	1 0 0 . 2	1 0 1 . 9	1 0 0 . 2	1 0 1 . 9
E : T 比率	2 1		2 2		2 3		2 4	
1 対 2 4 3	- 5 . 8	0 . 2	- 4 . 2	- 9 . 4	7	- 1 2 . 5	- 2	- 1 0 . 2
1 対 8 1	- 0 . 5	- 5 . 4	8 . 3	- 4 . 3	4 . 1	- 1 0 . 1	6 . 2	2 . 1
1 対 2 7	3 2 . 9	1 3 . 9	4 1 . 7	2 7 . 8	3 4 . 2	1 4 . 4	3 5 . 6	2 6 . 8
1 対 9	2 2 . 9	3 2 . 9	3 8 . 3	4 6	4 4 . 5	1 9 . 7	4 3 . 5	2 5 . 5
1 対 3	1 0 0 . 3	1 0 0 . 1	1 0 0 . 3	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2	1 0 0	1 0 0 . 2	1 0 0
3 対 1	1 0 0 . 2	1 0 1 . 9	1 0 0 . 2	1 0 1 . 8	1 0 0 . 1	1 0 1 . 7	1 0 0	1 0 1 . 7

10

20

【 0 4 3 3 】

30

40

50

表 5 3 C

R a j i 野 生型	群							
E : T 比率	1		2		3		4	
1 対 2 4 3	2. 2	- 3 3 . 8	- 1 2 . 6	- 2 3	- 1 9 . 4	- 3 0 . 3	- 8. 1	- 2 2 . 8
1 対 8 1	1 6. 3	- 2 9 . 4	- 2. 5	- 1 5	- 2. 8	- 1 6 . 3	- 6. 4	- 1 7 . 7
1 対 2 7	- 9. 2	- 4 8 . 8	1. 6	- 3 3 . 1	- 2	- 2 9 . 4	2. 7	- 2 5 . 3
1 対 9	- 6. 5	- 3 5 . 9	1 3. 5	- 9. 7	1 4	- 1 0 . 5	1 1. 6	- 5. 5
1 対 3	8. 9	- 1 7 . 9	9 9. 8	9 9. 9	9 9. 9	9 9. 9	1 0 0 . 1	1 0 0
3 対 1	1 9. 5	5. 9	1 0 3 . 8	1 0 0 . 1	1 0 3 . 9	1 0 0 . 2	1 0 3 . 9	1 0 0 . 2
E : T 比率	5		6		7		8	
1 対 2 4 3	- 1 1	- 2 1 . 7	- 7. 9	- 2 5 . 1	- 6. 5	- 1 8 . 8	- 5. 1	- 1 4 . 7
1 対 8 1	- 4. 6	- 1 4 . 9	- 0. 5	- 1 9 . 2	0. 4	- 2	- 0. 1	- 0. 1
1 対 2 7	- 0. 1	- 1 4 . 1	8. 6	- 2 0 . 6	7. 9	- 6. 6	1 0. 4	- 8. 8
1 対 9	1 3. 6	- 2. 6	1 6. 5	5. 1	2 2. 2	- 3. 3	2 3. 8	- 0. 5
1 対 3	1 0 0 . 2	9 9. 9	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0 . 1	1 0 0	9 9. 9	9 9. 8
3 対 1	1 0 4	1 0 0 . 2	1 0 3 . 9	1 0 0 . 2	1 0 3 . 9	1 0 0 . 1	1 0 3 . 8	1 0 0
E : T 比率	9		1 0		1 1		1 2	
1 対 2 4 3	- 3 0 . 8	- 2 4 . 1	- 3 0 . 9	- 1 2 . 5	- 1 7 . 6	- 1 4 . 4	- 2 3 . 9	- 6. 8
1 対 8 1	- 2 6 . 7	- 1 5 . 7	- 9. 8	- 1 4 . 6	- 6. 9	- 6	- 6. 5	- 1 3 . 2
1 対 2 7	- 2 0 . 6	- 2 2 . 8	- 6. 5	- 3. 3	- 4. 1	- 4	0. 3	2. 3
1 対 9	- 7. 4	- 1 5 . 1	- 1. 5	- 1 4 . 6	- 2. 5	- 1 2 . 8	9. 3	- 3. 7
1 対 3	1 0 4 . 4	1 0 4 . 6	1 0 4 . 4	1 0 4 . 6	1 0 4 . 4	1 0 4 . 5	1 0 4 . 5	1 0 4 . 5
3 対 1	1 0 8	1 0 5 . 9	1 0 8 . 1	1 0 5 . 9	1 0 8 . 1	1 0 5 . 8	1 0 8 . 1	1 0 5 . 9
E : T 比率	1 3		1 4		1 5		1 6	
1 対 2 4 3	- 2 8 . 5	- 8. 4	- 1 7 . 4	- 1 1 . 5	- 1 1 . 1	- 1 1	- 9. 9	- 5. 6
1 対 8 1	- 1 1 . 4	- 7. 2	- 1 6 . 4	- 1 3 . 8	- 9. 9	- 1 0 . 4	4. 7	1. 7
1 対 2 7	1	0. 7	- 1. 6	5. 2	6. 9	- 3. 3	1 0. 2	1 3. 5
1 対 9	3. 3	- 1 2	7. 7	- 1 1	4	- 2. 3	1 4. 4	9. 9
1 対 3	1 0 4 . 4	1 0 4 . 6	1 0 4 . 4	1 0 4 . 5	1 0 4 . 4	1 0 4 . 5	1 0 4 . 3	1 0 4 . 4

10

20

30

40

50

3 対 1	1 0 8 . 1	1 0 5 . 9	1 0 8	1 0 5 . 9	1 0 8	1 0 5 . 8	1 0 7 . 8	1 0 5 . 7
E : T 比率	1 7		1 8		1 9		2 0	
1 対 2 4 3	- 2 8 . 3	- 2 1	- 2 2 . 1	- 1 6 . 4	- 1 1 . 4	- 1 1 . 8	- 1 0 . 6	- 1 1 . 1
1 対 8 1	- 1 8 . 5	- 2 2 . 7	- 1 4 . 6	- 2 6 . 2	- 1 1 . 4	- 3 4 . 7	- 1 2 . 6	- 2 8 . 9
1 対 2 7	- 2 3	- 2 1 . 7	- 1 4 . 5	- 2 6 . 5	8 . 2	- 5 . 9	- 5 . 3	- 1 4 . 9
1 対 9	- 9 . 5	- 3 4 . 2	- 1 1 . 2	- 3 9 . 6	- 6 . 9	- 1 5 . 5	- 1 7 . 8	- 2 7 . 7
1 対 3	1 0 0	1 0 0 . 2	1 0 0	1 0 0 . 2	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2
3 対 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1
E : T 比率	2 1		2 2		2 3		2 4	
1 対 2 4 3	- 7	- 4 . 1	- 9 . 6	- 6 . 3	- 8 . 1	- 1 1 . 1	- 7 . 5	- 1 . 1
1 対 8 1	- 5 . 8	- 1 4 . 4	- 2 . 6	- 1 9 . 2	9	- 1 9 . 9	1 9 . 2	- 4 . 6
1 対 2 7	5 . 3	- 6 . 3	- 5 . 1	2 . 4	4 . 9	0 . 7	1 3 . 3	5 . 4
1 対 9	- 6 . 7	- 1 4 . 2	- 7 . 4	- 6 . 1	9 . 6	- 1 6 . 6	1 5 . 3	- 9
1 対 3	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2	1 0 0 . 1	1 0 0 . 2	9 9 . 9	1 0 0 . 1
3 対 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1	1 0 1 . 2	1 2 0 . 1	1 0 1	1 1 9 . 9

10

20

【 0 4 3 4 】

30

40

50

表 5 3 D

R a j i C 群								
D 1 9 K O								
E : T 比率	1		2		3		4	
1 対 2 4 3	5 1	5 5	3 6. 7	2 6. 2	- 1 8 . 2	1 2. 5	- 4 4 . 9	0
1 対 8 1	- 0. 4	3 3. 7	- 8 5 . 1	3 . 4	- 1 4 3 . 7	3	- 1 9 0 . 3	9 . 3
1 対 2 7	1 5. 3	- 0. 9	4 . 5	6 . 3	- 0. 5	2 . 7	4	1 . 1
1 対 9	- 1. 9	3 . 3	2 . 9	2	8 . 4	6 . 5	1 . 5	1 5. 2
1 対 3	3 4. 5	2 0. 9	3 7. 3	2 0. 8	1 6. 3	1 6	5 . 5	1 1. 7
3 対 1	4 1. 3	1 4. 2	1 4. 6	2 . 1	1 1. 2	1 9. 7	4 . 6	3 . 8
E : T 比率	5		6		7		8	
1 対 2 4 3	- 1 5 . 1	- 3 . 2	2 2 . 8	- 1 . 4	- 5 . 5	0 . 2	- 8 5 . 7	- 2 . 4
1 対 8 1	- 2 1 7 . 9	3 . 3	- 2 0 1 . 5	- 2 . 2	- 2 2 7 . 2	- 0 . 9	- 2 1 0 . 3	2 . 5
1 対 2 7	- 0 . 6	7	1 1 . 8	3 . 4	1 . 9	- 1 . 6	1 . 4	9 . 5
1 対 9	8 . 5	1 7	2 2 . 1	2 1 . 5	1 3 . 5	1 2 . 6	3 0 . 9	2 1
1 対 3	9 8 . 8	9 9 . 8	9 9 . 4	1 0 0 . 6	9 1 . 9	9 3 . 5	9 8 . 8	9 9 . 6
3 対 1	9 9 . 6	9 9 . 7	9 9 . 8	1 0 0 . 1	9 9 . 1	9 9 . 6	9 9 . 7	9 9 . 9
E : T 比率	9		1 0		1 1		1 2	
1 対 2 4 3	9	1 1 . 5	- 2 . 9	1 0 . 2	- 0 . 6	2 . 2	- 2 . 4	1 7 . 6
1 対 8 1	1 0 . 3	1 7 . 5	6 . 6	9 . 6	8 . 1	8 . 5	- 2 . 6	3 . 2
1 対 2 7	1 5 . 7	2 1 . 5	1 6	2 1 . 2	2 0 . 2	3 2	1 6 . 2	2 2
1 対 9	2 5 . 6	3 5	3 8 . 1	3 2 . 2	3 2 . 9	2 7 . 9	2 3 . 7	2 8 . 8
1 対 3	9 9 . 7	1 0 0 . 2	9 9 . 7	1 0 0	9 9 . 9	1 0 0	9 9 . 8	1 0 0 . 1
3 対 1	9 9 . 9	1 0 0 . 9	9 9 . 8	1 0 0 . 9	1 0 0	1 0 1	9 9 . 9	1 0 1
E : T 比率	1 3		1 4		1 5		1 6	
1 対 2 4 3	- 1 . 8	9 . 8	- 3	2 . 6	5 . 6	1 . 9	- 7 . 7	1 4 . 5
1 対 8 1	- 2 . 8	0 . 5	- 0 . 4	- 2 . 7	- 6 . 3	- 1 1 . 5	- 3 . 3	- 2 . 5
1 対 2 7	1 0 . 5	1 9 . 6	- 0 . 8	1 1 . 7	- 4 . 4	8 . 6	8 . 7	1 6 . 7
1 対 9	1 4 . 7	1 5 . 7	2 4 . 3	2 2 . 5	7 . 3	1 0 . 8	1 5	1 2 . 3
1 対 3	9 6 . 1	9 8 . 5	9 7 . 2	9 9 . 7	9 5 . 3	9 7	9 2 . 3	9 7 . 7

10

20

30

40

3 対 1	9 6. 2	9 6. 2	9 8. 4	9 8. 7	9 7. 5	9 7. 5	9 6. 1	9 5. 7
E : T 比率	1 7		1 8		1 9		2 0	
1 対 2 4 3	7 . 6	2 0 . 4	5 . 1	6 . 1	- 0 . 1	8 . 8	4 . 6	1 1 . 8
1 対 8 1	9 . 7	1 3 . 2	1 1 . 1	1 1 . 8	8 . 9	1 3 . 2	3	6 . 8
1 対 2 7	1 8 . 1	1 0 . 1	2 9 . 9	1 8 . 7	2 4 . 4	2 1 . 3	1 3 . 8	1 5 . 8
1 対 9	4 4 . 9	1 9 . 3	3 7	2 6 . 8	3 3 . 6	3 2 . 3	2 4 . 1	1 6
1 対 3	8 7 . 9	8 4 . 7	9 9 . 7	9 9 . 1	9 8 . 7	9 7 . 5	9 3 . 8	9 2 . 5
3 対 1	9 5	9 6 . 5	9 9 . 7	1 0 0	9 9 . 7	9 9 . 9	9 6 . 1	9 5
E : T 比率	2 1		2 2		2 3		2 4	
1 対 2 4 3	- 5 . 9	6 . 6	2 . 9	- 9 . 9	2 . 7	- 2 . 6	- 4 . 3	- 3 . 4
1 対 8 1	1 1 . 5	- 5 . 2	1 0 . 7	- 0 . 3	8	- 3 . 2	7 . 3	0 . 4
1 対 2 7	2 6	2 0 . 7	2 1 . 9	1 6 . 7	2 2 . 1	1 4 . 1	3 1 . 7	2 0 . 6
1 対 9	1 8 . 6	2 8 . 9	2 1 . 2	2 5 . 8	3 2 . 1	9 . 2	2 8 . 7	1 9 . 7
1 対 3	1 0 0 . 4	1 0 0 . 2	1 0 0 . 4	1 0 0 . 1	1 0 0 . 4	1 0 0 . 2	1 0 0 . 2	1 0 0
3 対 1	1 0 0	1 0 0 . 1	1 0 0	1 0 0 . 1	1 0 0	1 0 0 . 1	9 9 . 8	1 0 0

10

20

【 0 4 3 5 】

30

40

50

表 5 4 A

T N F a							
群							
1		2		3		4	
2 1 . 4 3 3 6 2	3 0 . 0 1 8 5	3 3 . 8 7 9 5	2 8 . 2 2 5 7 8	2 3 . 0 7 4 8 6	2 1 . 6 0 7 6 6	2 8 . 6 2 4 1 2	3 2 . 4 8 4 3
5		6		7		8	
7 6 9 . 5 0 6 8	7 5 0 . 8 4 0 4	7 2 0 . 3 6 7 1	6 1 4 . 8 6 2 9	2 2 9 . 2 0 4 1	2 3 3 . 5 5 4 3	8 3 6 . 7 8 0 2	8 4 2 . 7 2 7 1
9		1 0		1 1		1 2	
3 1 7 . 8 8 6 9	3 7 1 . 7 2 6 6	4 1 4 . 5 3 3 7	2 9 3 . 4 8 8	3 8 6 . 2 7 0 4	2 9 3 . 6 1 3 9	4 1 8 . 6 4 4 2	3 0 7 . 1 8 4 5
1 3		1 4		1 5		1 6	
2 5 2 . 4 1 7 9	1 5 2 . 0 5 6 6	1 8 5 . 1 9 8 1	2 5 3 . 8 2 6 7	1 8 0 . 7 0 2 1	2 4 9 . 8 0 1 7	2 0 8 . 5 4 0 1	3 2 7 . 4 0 7 2
1 7		1 8		1 9		2 0	
2 0 3 . 6 1 4 3	2 1 7 . 2 1 1 8	4 0 5 . 7 8 3 9	3 4 5 . 8 9 7 6	4 6 7 . 5 8 0 9	4 2 5 . 1 0 0 3	2 6 9 . 5 7 7 1	2 5 8 . 1 2 8 6
2 1		2 2		2 3		2 4	
4 7 2 . 2 2 3 7	4 2 1 . 9 4 7 8	4 4 6 . 7 4 1 7	4 0 2 . 7 0 7 8	4 3 0 . 8 7 5 9	4 4 1 . 7 2 1 9	4 3 2 . 4 3 9 6	4 9 4 . 9 8 6 6

10

20

30

40

50

【 0 4 3 6 】

表 5 4 B

I L 1 0							
群							
1		2		3		4	
1 2 . 0 6 8 3 7	1 2 . 3 2 6 3 3	1 1 . 9 3 8 1 3	1 0 . 6 0 8 5 4	1 1 . 0 4 0 1 5	1 2 . 1 8 3 0 1	9 . 9 3 0 5 4 5	1 4 . 1 5 2 9 3
5		6		7		8	
1 7 . 2 6 2 6 1	1 7 . 4 9 8 6 4	1 9 . 2 2 3 4 6	2 7 . 9 1 5 0 4	2 8 . 0 0 7 6 9	2 5 . 4 0 5 3 3	2 2 . 5 7 1 0 9	2 5 . 8 5 1 9 1
9		1 0		1 1		1 2	
2 0 . 8 5 1 2 3	2 1 . 3 1 7 1 5	2 5 . 0 6 7 1 9	2 3 . 9 6 3 6 2	1 7 . 4 5 6 6 8	1 6 . 6 8 0 6 5	2 7 . 3 4 3 3 9	3 7 . 5 6 8 9 4
1 3		1 4		1 5		1 6	
1 5 . 0 1 0 3 4	1 7 . 8 5 8 0 5	2 1 . 4 9 6 2	1 5 . 9 9 1 7 1	1 7 . 2 5 9 9 9	1 6 . 6 7 8 0 3	2 9 . 7 9 3 1 1	3 0 . 3 3 9 2 5
1 7		1 8		1 9		2 0	
2 0 . 3 5 9 2 1	2 4 . 0 9 0 3	2 2 . 7 6 3 5 2	2 3 . 0 8 7 8 2	1 5 . 6 4 0 9 1	1 9 . 1 6 5 6 5	2 5 . 0 7 2 4 8	1 8 . 5 6 6 7 7
2 1		2 2		2 3		2 4	
1 6 . 2 8 2 4 2	1 2 . 9 1 5 5 6	1 5 . 4 3 4 1 5	1 8 . 9 9 2 2 6	1 6 . 5 7 8 4 6	1 4 . 0 0 9 2 5	2 2 . 4 8 6 7 5	2 3 . 8 5 0 1 5

【 0 4 3 7 】

10

20

30

40

50

表 5 4 C

I L - 2							
群							
1		2		3		4	
1 3 . 9 0 4	5 . 9	7 . 2	8 . 0	3 . 4	1 0 .	5 . 4	4 . 2
1 2	2 5 6	3 9 7	5 7 8	1 6 3	0 5 5	8 1 6	4 3 2
	4 7	5 8	5 4	0 1	0 7	6 5	2
5		6		7		8	
1 9 7 9 . 7	1 8 8	7 5 8	7 6 9	1 3 6	1 4 3	1 3 7	1 3 4
4 7	0 . 7	. 0 3	. 4 6	. 3 7	. 4 5	3 . 4	4 . 9
	5 5	3 1	3 2	0 6	3 1	9 6	7
9		1 0		1 1		1 2	
4 1 5 . 0 3	3 9 7	3 7 1	4 1 9	3 1 5	3 0 8	2 3 9	2 6 3
3 5	. 6 6	. 0 9	. 0 8	. 6 2	. 7 8	. 4 1	. 1 5
	1 7	0 6	1 3	7 6	5	8 7	9 6
1 3		1 4		1 5		1 6	
8 1 . 9 9 1	1 0 1	1 9 1	1 9 1	2 5 8	2 0 0	1 4 9	1 5 0
9 9	. 7 8	. 2 5	. 0 9	. 0 6	. 4 8	. 9 1	. 8 3
	3 1	4 4	9	9 6	1 8	4 4	5 4
1 7		1 8		1 9		2 0	
8 3 . 1 3 9	9 6 .	2 3 4	2 7 3	4 0 0	4 3 9	1 3 2	1 4 6
1 8	5 9 9	. 2 6	. 2 7	. 7 7	. 0 8	. 4 3	. 6 1
	5 1	2 3	6 2	9 4	9 5	4 7	7 7
2 1		2 2		2 3		2 4	
3 2 4 . 6 5	2 8 4	3 1 2	3 0 4	2 8 4	2 4 5	1 7 1	2 2 0
2 5	. 3 1	. 9 9	. 5 1	. 8 6	. 4 5	. 9 6	. 1 3
	6 9	8 6	9 2	8 4	5 6	6 4	8 7

10

20

【 0 4 3 8 】

30

40

50



表 5 4 D

I F N g							
群							
1		2		3		4	
2 1 8 3 . 8 6 2	1 3 6 0 . 1 1 1	1 7 0 7 . 3 9 4	2 0 8 3 . 6 7 5	1 0 7 7 . 2 2	1 3 3 8 . 6 6 6	1 9 7 7 . 4 2 7	1 4 1 6 . 6 9 1
5		6		7		8	
8 2 8 8 3 . 4 2	9 0 8 0 1 . 3 4	9 8 8 0 9 . 6 3	7 9 8 4 6 . 0 5	2 5 7 6 3 . 3	2 2 7 5 6 . 3 1	1 1 3 3 8 3 . 2	1 3 0 6 7 3 . 4
9		1 0		1 1		1 2	
3 3 6 8 7 . 0 5	4 1 5 3 4 . 7	3 3 6 6 9 . 9 6	4 6 5 7 2 . 3 7	4 1 4 7 6 . 8 5	3 2 4 0 0 . 9	4 4 8 4 7 . 7 2	4 1 1 8 9 . 2 6
1 3		1 4		1 5		1 6	
1 8 6 9 5 . 3 9	1 3 2 5 9 . 1 9	2 2 3 0 0 . 6 9	1 8 8 8 7 . 2 2	1 9 1 5 9 . 0 2	2 6 7 2 5 . 0 5	2 7 4 3 7 . 5 3	3 8 1 9 4 . 2 8
1 7		1 8		1 9		2 0	
1 9 4 4 1 . 3 9	1 9 5 4 7 . 4 7	3 6 8 4 6 . 6 4	3 4 3 7 3 . 3	3 0 1 7 8 . 6 4	4 9 5 6 6 . 7 5	2 7 3 4 5 . 5 2	2 4 4 1 9 . 3 4
2 1		2 2		2 3		2 4	
4 2 8 1 1 . 5 7	3 1 8 3 9 . 2 3	4 4 7 9 2 . 2 8	3 7 9 5 9 . 7 5	4 0 0 1 6 . 1 9	4 1 8 1 4 . 9 8	5 6 8 1 9 . 1 2	5 6 8 4 7 . 7 5

10

20

【 0 4 3 9 】

表 5 5 A

R a j i C D 1 9 K O							
群							
1		2		3		4	
5 . 0 9	4 . 2	3 . 3 4	4 . 0 4	3 . 5 4	3 . 9 8	4 . 3 1	3 . 9 4
5		6		7		8	
2 1 . 8	1 7 . 9 2	1 8 . 1 2	1 8 . 5 3	1 5 . 0 5	1 2 . 8 1	1 8 . 4 2	1 5 . 4 3
9		1 0		1 1		1 2	
1 7 . 4 4	2 1 . 8 4	1 8 . 4 6	1 4 . 8 9	1 7 . 7 5	1 6 . 0 1	2 0 . 0 6	1 6 . 9 6
1 3		1 4		1 5		1 6	
9 . 5 2	9 . 5 3	1 0 . 5 4	1 1 . 1 1	1 2 1 2	1 1 . 9 9	1 6 . 6 9	1 6 . 1 9
1 7		1 8		1 9		2 0	
8 . 3 8	7 . 4 8	1 6 . 6	1 4 . 9 2	1 5 . 6 4	1 1 . 9 9	1 3 . 7 8	1 4 . 0 5
2 1		2 2		2 3		2 4	
1 8 . 7	1 8 . 7 2	1 3 . 2 6	1 4 . 9	1 6 . 5 5	1 8 . 4	1 7 . 1 2	1 7 . 5 4

30

40

50

【 0 4 4 0 】

表 5 5 B

親 R a j i							
群							
1		2		3		4	
2 4 . 5 3	4 . 5 1	2 2 . 5 4	2 3 . 6 1	1 7 . 0 8	1 8 . 2 3	2 3 . 6 5	2 4 . 2
5		6		7		8	
2 1 . 8 4	2 3 . 4 6	2 5 . 6 5	1 9 . 5 7	2 0 . 9 6	2 0 . 0 4	1 7 . 6 9	1 7 . 2 7
9		1 0		1 1		1 2	
2 5 . 0 4	2 4 . 3 8	2 2 . 5 3	2 5 . 7 5	2 5 . 6 9	2 1 . 6 1	2 3 . 9 3	2 7 . 4
1 3		1 4		1 5		1 6	
2 1 . 2 5	2 3 . 0 1	1 9 . 4 3	2 1 . 1 5	1 8 . 9 9	2 1 . 9 2	2 7 . 9 5	3 0 . 2 6
1 7		1 8		1 9		2 0	
1 5 . 1 3	1 5 . 7 2	2 6 . 8 6	2 8	2 7 . 4 6	2 5 . 7 2	2 4 . 4 9	2 3 . 0 3
2 1		2 2		2 3		2 4	
2 5 . 5 9	2 5 . 0 4	2 0 . 9 8	1 9 . 2 9	2 3 . 0 1	2 0 . 7 8	2 2 . 1 4	2 1 . 4 9

10

20

【 0 4 4 1 】

表 5 5 C

N a l m 6 C D 1 9 K O							
群							
1		2		3		4	
5 . 1 2	5 . 1 9	3 . 6	3 . 5 5	5 . 1	4 . 6 4	5 . 1 2	5 . 0 7
5		6		7		8	
1 4 . 4 7	2 0 . 8 4	1 8 . 6 9	1 9 . 8 1	1 3 . 3 3	1 7 . 1 7	1 8 . 1 2	1 7 . 8 7
9		1 0		1 1		1 2	
2 2 . 3 7	2 3 . 0 8	1 9 . 8 6	1 9 . 8 2	1 9 . 2 8	1 8 . 9 8	1 9 . 0 1	2 3 . 3 5
1 3		1 4		1 5		1 6	
8 . 8 7	1 0 . 2 5	1 0 . 8 3	1 2 . 0 5	1 3 . 1 8	1 4 . 8	1 7 . 6	1 7 . 8 6
1 7		1 8		1 9		2 0	
9 . 0 4	8 . 8	1 9 . 7 3	1 8 . 5 4	1 8 . 2 2	1 6 . 8 3	1 6 . 1 1	1 4 . 8 9
2 1		2 2		2 3		2 4	
1 9 . 2 9	1 8 . 0 3	1 8 . 2 5	1 5 . 5	1 8 . 0 1	1 5 . 8 9	1 5 . 8 9	1 6 . 9 7

30

40

【 0 4 4 2 】

50

表 5 5 D

親 N a l m 6							
群							
1		2		3		4	
1 . 9 5	1 . 5 3	2 3 . 1 4	2 5 . 2 8	1 9 . 7 9	1 9 . 6 9	2 3 . 0 6	2 3 . 7 5
5		6		7		8	
1 9 . 0 6	2 3 . 0 1	2 1 . 2 7	2 0 . 0 7	1 8 . 6 2	2 0 . 4	1 5 . 8 2	1 4 . 6 4
9		1 0		1 1		1 2	
2 5 . 8	2 8 . 7 5	2 6 . 9 1	2 6 . 9 8	3 2 . 3	2 7 . 5 9	2 3 . 5 3	2 5 . 2 6
1 3		1 4		1 5		1 6	
2 4 . 3 8	2 8 . 8 1	2 1 . 3 8	2 1 . 6 4	2 1 . 2	2 3 . 7 3	2 3 . 5 9	2 8 . 6 1
1 7		1 8		1 9		2 0	
2 0 . 2 4	1 9 . 6 3	2 8 . 5 8	3 0 . 2 8	2 8 . 3 5	2 6 . 9 6	2 6 . 3 2	2 3 . 5
2 1		2 2		2 3		2 4	
2 6 . 9 6	2 4 . 0 2	2 4 . 7 1	2 0 . 7 8	2 3 . 5	2 4 . 0 6	2 3 . 5 8	2 0 . 7 3

10

20

30

40

50

【 0 4 4 3 】

表 5 6

群	親 R a j i		R a j i C D 1 9 K O		N a l m 6 C D 1 9 K O		親 N a l m 6	
	反復 1	反復 2	反復 1	反復 2	反復 1	反復 2	反復 1	反復 2
1	6 4. 5	6 5. 1	6 1. 8	6 0. 6	5 5. 6	5 0. 6	3 2. 8	3 5. 8
2	9 2	8 8. 5	5 7. 5	5 6. 6	4 3. 6	4 6. 6	9 0. 4	7 2. 1
3	8 4. 1	8 4. 6	5 8. 3	5 9. 8	4 3. 4	5 0. 3	8 7. 1	8 3. 9
4	9 1. 8	9 0. 4	6 3. 5	5 9. 9	4 4. 3	4 7. 6	9 1	8 9. 7
5	7 7	6 9. 1	7 8. 6	7 8. 4	6 4. 7	7 0. 7	9 0	8 8. 7
6	8 9. 2	8 7. 2	9 1. 5	8 8. 6	8 9. 3	8 6. 6	9 1. 9	8 9. 5
7	8 7. 2	8 3	8 8. 8	8 6. 4	8 4	8 2	9 1. 7	9 0. 2
8	9 2. 6	7 7. 4	9 0. 4	8 1. 8	8 9. 1	8 0. 2	8 7. 4	8 6. 4
9	9 2. 8	8 9. 6	9 2. 5	9 2. 8	8 7	8 7. 5	9 1. 6	9 2. 6
1 0	8 4. 6	8 7. 6	8 8. 9	9 0. 1	8 1. 4	8 1. 9	9 0. 6	9 0. 4
1 1	8 5. 1	7 7. 7	8 7. 2	8 7. 8	7 8. 1	7 9. 9	8 7	8 6. 6
1 2	8 3. 4	8 8. 9	9 2	9 1. 4	8 4. 1	8 3. 7	9 0. 6	8 8. 5
1 3	8 8	8 1. 8	8 0. 4	7 8. 2	6 5. 2	6 6. 6	8 9. 1	8 8. 5
1 4	8 1	7 4. 4	8 1. 4	8 0. 6	7 7. 3	7 6. 8	8 8. 5	8 9. 2
1 5	7 4. 8	7 2. 5	8 1	8 1	7 5. 9	7 7. 5	8 5. 5	8 4. 2
1 6	9 1. 8	9 1. 6	8 7. 9	8 8. 1	8 1. 7	8 1. 4	9 2. 4	9 2. 1
1 7	8 3. 3	8 4. 3	7 7. 6	8 0. 7	6 2. 2	6 2. 9	8 8. 1	8 6. 8
1 8	7 0. 2	7 6. 4	8 2	8 3. 4	7 4. 5	7 8. 1	8 5. 6	1 0 8
1 9	8 1. 8	8 5. 6	8 8. 9	8 9. 6	8 2. 4	8 2. 7	8 8	9 0. 4
2 0	7 7. 5	8 1. 2	8 3. 6	8 4. 4	7 8. 1	7 9. 6	8 8. 1	8 8. 5
2 1	8 0. 1	8 6. 8	9 0. 5	9 0. 2	8 5. 3	8 4. 6	9 0. 9	9 1. 9
2 2	8 2. 6	7 7. 9	8 8. 5	8 8. 4	8 3. 7	8 3. 7	9 0. 3	8 9. 7
2 3	7 5. 8	7 1. 2	8 6. 8	8 5. 7	7 9. 2	8 0. 1	8 4. 6	8 9. 4
2 4	8 4. 6	8 4. 9	8 9. 7	8 9. 7	8 2. 6	8 4. 2	8 9. 7	8 9. 5

10

20

30

40

## 【 0 4 4 4 】

## 実施例 1 7

抗 C D 2 0 一価 C A R においてヒンジの比較を行った。この実施例に示されるデータは、上記の実施例に示される方法を使用して得られた。この実施例で使用される C A R - T 細胞は、以下の表 5 7 で特定される C A R を含んでいた。表 5 7 はこの実施例の後続の表で参照される実験条件又は群を示す。この実施例で結合モチーフ A、結合モチーフ B、結合モチーフ C、及び結合モチーフ D として特定される 4 つの抗 C D 2 0 結合モチーフを利用した。試験されたヒンジは、短縮された C D 2 8 ヒンジ ( 2 8 T )、C D 8 ヒンジ ( 8 k )、及び I g G 4 ヒンジ ( I 4 ) を含む。

50

## 【 0 4 4 5 】

形質導入効率を表 5 8 に示す。R a j i ( C D 1 9 + 、 C D 2 0 h i g h )、R a j i C D 2 0 K O ( C D 1 9 + 、 C D 2 0 - )、N a m a l w a ( C D 1 9 + 、 C D 2 0 l o w )、及び N a l m 6 ( C D 1 9 + 、 C D 2 0 l o w ) の 4 日目の細胞傷害性を表 5 9 及び表 6 0 に示す。1 : 1 の E : T 比率での共培養 1 4 時間後のサイトカイン産生を表 6 1 A ~ 表 6 1 D に示す。共培養 1 6 時間後での 4 1 B B の上方調節によって測定される T 細胞活性化を、1 : 1 又は 1 : 4 の E : T で、それぞれ表 6 2 及び表 6 3 に示す。共培養後 4 日目での T 細胞の増殖を、1 : 1 又は 1 : 4 の E : T で、それぞれ表 6 4 及び表 6 5 に示す。

## 【 0 4 4 6 】

表 5 7

タイプ (例えば、バイシストロン性対二重特異性)	
1	非形質導入コントロール
2	s c F v 番号 A 及び C D 2 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
3	結合モチーフ番号 A 及び C D 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
4	結合モチーフ番号 A 及び I g G 4 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
5	結合モチーフ番号 B 及び C D 2 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
6	結合モチーフ番号 B 及び C D 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
7	結合モチーフ番号 B 及び I g G 4 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
8	結合モチーフ番号 C 及び C D 2 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
9	結合モチーフ番号 C 及び C D 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
1 0	結合モチーフ番号 C 及び I g G 4 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
1 1	結合モチーフ番号 D 及び C D 2 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
1 2	結合モチーフ番号 D 及び C D 8 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R
1 3	結合モチーフ番号 D 及び I g G 4 ヒンジを含む一価の抗 C D 2 0 C A R

## 【 0 4 4 7 】

表 5 8

群	形質導入効率 (% C A R +)
1	0 . 1 5
2	6 2 . 3
3	5 6 . 3
4	8 9 . 2
5	5 1 . 6
6	6 6 . 5
7	7 1 . 6
8	7 3 . 9
9	7 7 . 0
1 0	8 5 . 4
1 1	6 6 . 8
1 2	8 0 . 8
1 3	8 4 . 8

## 【 0 4 4 8 】

10

20

30

40

50

表59

細胞型	群											
	標的のみ											
Raji	7920 2.8	7045	7129 4.3	5937 0.9	6052 5.3	6213 5.5	2093 3.5	1684 4.6	1843 9.3	1194 3.1	1101 4.1	1265 2.8
Raji CD 20KO	9486 4.6	9372 9.3	1075 18	8062 7	7982 4.4	5988 6.5	5608 1.3	5218 1.7	5734 7.3	4569 .03	5957 .66	3498 .72
Namalwa	3853 0.1	4475 1.2	4860 0.5	3301 6.5	3731 3.6	3091 9.3	4394 .22	2694 .15	3891 .21	519. 957	3115 .59	3057 .82
Nalm6	9073 5.3	9148 2.2	9886 3.8	5992 4.4	5978 6.6	6485 3.3	2658 .44	3592 .39	5366 .27	305. 796	2897 .74	3346 .3
T細胞のみ				31.3 0.53	78.4 287	81.2 964	25.6 924	18.7 526	11.3 603	26.5 24	20.1 956	-1.4 0636
Raji	2207 0.7	2825 3	1767 5.7	1407 7.7	1431 4.2	1054 8.3	1832 3.8	2095 1.1	1373 8	1289 8.1	1312 1.6	1152 6.1
Raji CD 20KO	1067 1	1211 5.3	7939 .32	5497 .05	4740 .32	3396 .25	1668 6.9	1557 9.5	1041 9.2	1769 5.6	1589 6.4	1233 4.8
Namalwa	2134 .36	1335 .68	1012 .9	209. 453	3599 .39	112. 932	294. 986	262. 702	290. 627	156. 625	84.3 594	212. 663
Nalm6	379. 48	231. 061	1459 .7	386. 438	393. 678	259. 554	274. 516	183. 039	319. 083	185. 179	188. 334	200. 887
T細胞のみ	76.2 154	50.5 227	19.5 781	61.9 26	24.5 794	4.43 293	48.7 191	15.8 604	32.1 614	35.2 493	59.7 065	25.6 558
Raji	2073 3.1	2145 8.2	1748 3	2300 5.8	2013 6	2107 5.7	1545 6.7	1726 1	1337 6.7	9450 .65	6450 .55	3648 .15
Raji CD 20KO	5253 6.7	4949 6	4475 8.5	9961 .2	1055 5.9	5704 .38	1032 .2	1686 .96	867. 172	2341 1.8	4685 9.6	3960 9.5
Namalwa	847. 869	815. 512	533. 335	532. 712	306. 157	265. 491	173. 011	170. 523	157. 236	180. 832	376. 613	147. 429

10

20

30

40

50

Nal m6	427.	272.	816.	248.	248.	188.	309.	236.	148.	1231	1128	1102
	827	767	448	126	976	004	551	001	273	.56	.79	.86
T細胞のみ	31.0	17.5	1.51	34.0	48.9	4.17	48.6	28.5	17.4	55.8	16.6	7.52
	058	848	63	876	268	612	274	599	688	118	736	665
		12			13							
Raji	1405	1726	1109	1547	1376	1069						
	3.5	3.2	4.7	0.9	3.4	4						
Raji CD	1553	1777	1384	1409	1491	8969						
20KO	5.6	1.9	4.9	9.5	3.9	.65						
Namalwa	326.	492.	221.	487.	504.	297.						
	695	742	914	203	029	42						
Nal m6	718.	704.	680.	925.	960.	641.						
	3	494	758	057	085	792						
T細胞のみ	25.8	13.3	24.3	47.1	22.3	-3.5						
	577	904	35	967	783	7676						

10

20

30

40

50

【 0 4 4 9 】

表60

細胞型	群											
	標的のみ				1			2			3	
Raji	7920 2.8	7045 2	7129 4.3	7049 6.5	6532 1.5	5842 3.9	4281 3	4434 8.5	3762 4.9	3925 7.9	3872 1.7	3061 1
Nama1 wa	3853 0.1	4475 1.2	4860 0.5	3381 9.1	3245 4.5	4112 6	2263 2.1	1988 9.3	1816 2	2205 0.6	1295 8.9	7359 .29
Nalm6	9073 5.3	9148 2.2	9886 3.8	7339 1.3	6592 2.4	7217 0.8	4681 9.9	3868 9.7	3429 3.5	2169 9.7	3342 6.3	9867 .04
	4				5			6			7	
Raji	4401 7.5	4390 2.4	3316 4	3898 4.7	3684 3.5	3687 0.2	4093 0.5	3935 1.8	3648 5.6	3926 2.2	4183 2.7	3496 7.1
Nama1 wa	2282 1.8	1947 6.6	1812 6.5	1302 9.1	1196 7.4	9916	1178 1.4	9822 .72	9658 .94	7294 .71	7892 .54	1253 8.3
Nalm6	4420 3.2	4195 9.1	3577 3	2123 7.1	3338 8	2067 7.9	2826 7.6	2309 1.1	3477 9.9	2038 6.4	1865 3.5	2741 4.2
	8				9			10			11	
Raji	4171 3	4545 1.7	3243 4	3950 3.7	4655 2.6	3245 3.8	3927 2	4587 3.5	2747 9.8	4162 8.7	4893 1.1	3015 8.6
Nama1 wa	1737 5.7	1552 3.3	1692 7.4	1557 3.5	1314 8.5	1036 6.2	1396 2.5	1447 8.1	7466 .35	1747 8.4	1144 3.5	2857 .6
Nalm6	4026 5.3	3438 5.2	4471 2.1	2914 6.2	3332 8.6	4507 8.6	2715 3.9	2467 8.3	2303 0.7	3573 9.8	2571 2.2	1969 3.8
	12				13							
Raji	3549 1	4052 7.2	2670 2.8	4034 5.8	4358 9.9	3295 2.6						
Nama1 wa	1242 2.4	9309 .45	5395 .27	2003 9.8	1809 6.3	8713 .27						
Nalm6	3219 7.1	2236 4.4	6859 .16	2117 0.7	2346 3	1822 5.7						

【 0 4 5 0 】

10

20

30

40

50



表61A

TNF $\alpha$ 細胞型	群	反復				群	反復		
Raji	1	742.7049	719.9322	860.8748		2	13789.44	1000.926	13787.09
						3	40482.31	10509.95	22032.99
						4	29963.57	10729.04	30770.2
Raji C D20KO	1	141.045	123.2006	193.527		2	2335.533	136.1735	1378.167
						3	12412.38	1591.951	6519.058
						4	19806.9	5900.966	28857.1
Nama lw	1	51.37436	54.13314	67.40804		2	5755.176	760.4728	4287.225
						3	13230.78	5171.471	4564.486
						4	16464.95	1756.426	29002.14
Nalm6	1	85.77411	41.52716	65.44027		2	2071.754	243.4781	1436.396
						3	5188.394	354.1513	3276.759
						4	8136.712	3462.309	9516.77
T細胞のみ	1	32.09018	27.34532	41.75542		2	60.93963		73.35283
						3	53.7447	132.6905	40.34432
						4	202.1004	49.30805	404.2379
細胞型	群	反復				群	反復		
Raji	5	5234.629	29643.24	25173.66		8	11804.04	5948.771	17987.23
	6	5881.73	11238.04	12382.32		9	23295.94	32399.1	41903.58
	7	14913.76	7566.033	20158.56		10	25189.57	6263.5	30133.63
Raji C D20KO	5	5938.115	6402.741	5130.22		8	215.2762	905.5388	2441.275
	6	13127.4	3087.198	2251.109		9	1131.756	11010.04	17227.01
	7	5314.634	3215.46	968.1883		10	1335.315	4004.466	19501.31
Nama lw	5	10163.08	41246.69	4330.718		8	769.9154	1797.08	12106.37
	6	16230.87	15604.86	3141.588		9	1521.87	8562.425	28414.64

10

20

30

40

50

	7	12714.45	16044.57	5474.505	10	2997.275	2239.813	23060.28
Nalm6	5	2356.156	601.0444	4148.512	8	2480.164	547.2608	1625.393
	6	4695.265	555.9875	735.1625	9	5150.879	998.5473	7296.929
	7	3560.739	2614.049	485.996	10	5296.607	666.9747	3631.616
T細胞のみ	5	35.14156	55.05909	86.07184	8	60.31223	26.13958	107.2801
	6	79.07053	56.76139	11.75329	9	48.80656	33.28641	122.8503
	7	94.67347	121.4341	87.89045	10	54.93238	77.29811	41.86264
細胞型	群	反復						
Raji	11	2228.672	3952.296	5817.774				
	12	3639.337	7400.496	9585.174				
	13	4699.947	13583.39	10646.23				
Raji C D20KO	11	343.0228	138.8956	455.7918				
	12	666.3561	1570.956	2033.204				
	13	904.006	2134.385	1311.669				
Namala	11	712.1625	1751.303	1156.45				
	12	1605.915	5712.698	1989.63				
	13	1850.41	7176.859	1563.88				
Nalm6	11	1952.569	90.90757	194.5827				
	12	1909.742	237.1462	229.7622				
	13	623.5514	305.8666	204.3989				
T細胞のみ	11	53.96276	48.59063	37.73721				
	12	73.1479	38.83681	45.07434				
	13	59.63715	65.16515	32.03268				

10

20

30

40

50

【 0 4 5 1 】



	7	2975.146	4558.808	1835.84	10	595.2925	1550.197	4864.39
Nalm6	5	132.1701	71.77628	102.7936	8	72.12333	50.96007	80.62564
	6	183.3285	176.8246	267.3849	9	823.2917	299.8667	901.03
	7	51.11399	50.24134	57.06661	10	221.3179	102.692	234.6751
T細胞のみ	5	12.70908	18.65894	16.35375	8	17.00011	13.59572	15.75731
	6	8.719928	7.591335	11.91575	9	8.642956	4.919328	11.89729
	7	5.717691	4.289614	6.980622	10	5.387739	3.932472	9.043607
細胞型	群	反復						
Raji	11	823.133	3402.324	896.7429				
	12	2799.535	6101.386	1873.887				
	13	2180.811	6525.733	2506.268				
Raji D20KO	11	43.58357	76.1947	47.89087				
	12	84.85969	225.7324	65.41539				
	13	101.4673	179.8601	106.4787				
Namawa	11	96.9067	180.8989	87.23379				
	12	228.7018	503.392	198.3201				
	13	201.064	208.7059	125.427				
Nalm6	11	36.04238	35.06366	29.59289				
	12	6.91882	11.08133	4.670726				
	13	12.17589	7.01667	5.499756				
T細胞のみ	11	14.98063	15.91492	13.15346				
	12	5.901473	6.110295	5.688816				
	13	4.758223	3.894212	3.511602				

10

20

30

40

50

【 0 4 5 2 】

表61C

細胞型	群	反復				群	反復		
Raji	1	178.0432	142.8539	120.4695		2	895.8653	69.6716	892.6929
						3	1097.383	275.2268	630.683
						4	1609.907	633.7046	1807.731
Raji C D20KO	1	97.01133	85.2923	53.7706		2	309.4966	28.25922	239.7828
						3	606.8257	91.35382	309.2822
						4	1253.292	391.0293	1863.251
Namala	1	33.10979	35.6513	34.88744		2	573.4806	68.91032	432.3923
						3	646.463	239.0274	221.7614
						4	1527.354	192.0951	2717.487
Nalm6	1	50.10573	56.39945	79.07014		2	185.7021	24.16594	125.913
						3	443.9515	46.61747	273.2845
						4	1161.58	507.9296	1320.574
T細胞のみ	1	30.33024	36.6716	31.08655		2	30.82579	5.067228	35.02344
						3	32.25264	2.559772	29.35922
						4	64.27	10.88138	106.1506
細胞型	群	反復				群	反復		
Raji	5	251.3409	1515.368	1375.689		8	510.7076	293.819	798.0907
	6	161.179	290.4449	338.9459		9	273.8515	394.2801	513.9037
	7	773.2684	422.0451	1022.366		10	463.0497	110.0162	621.5802
Raji C D20KO	5	872.8176	934.0822	703.4425		8	47.28079	112.9426	333.4111
	6	1060.602	244.7751	222.7141		9	48.86976	422.8751	674.2297
	7	807.5648	530.7835	124.8675		10	79.00288	134.7437	641.66
Namala	5	1079.3	3961.233	446.361		8	92.83561	137.2657	913.6063
	6	953.3019	746.7817	191.549		9	67.28244	274.0883	832.4924

10

20

30

40

50

7	1364.544	1637.356	531.6147	10	150.1814	100.8329	968.0775
N a l m 6	412.9091	114.515	600.812	8	317.099	52.03268	148.2565
	908.1756	76.49075	123.8227	9	394.3369	82.53729	417.2169
	853.5691	573.8378	106.7992	10	553.2771	50.80476	227.2295
T細胞のみ	22.4375	26.96257	45.5054	8	22.21889	10.15072	41.45767
	28.556	26.16897	37.44123	9	20.68183	22.8389	39.23846
	33.4457	30.93852	32.09581	10	17.24112	20.44047	27.8371
細胞型	群	反復					
R a j i	11	95.38296	176.1182	207.3491			
	12	73.72115	147.9041	157.5053			
	13	183.7121	443.0117	331.2405			
R a j i C	11	66.01768	35.65559	60.18955			
D20KO	12	83.15986	186.4922	223.6873			
	13	168.1965	401.8826	210.6137			
N a m a l w	11	69.36119	159.804	92.54174			
	12	108.0373	334.7655	119.5407			
	13	192.2065	1887.085	163.9822			
N a l m 6	11	249.6969	34.90282	21.92475			
	12	219.2402	53.1071	41.7788			
	13	124.2308	84.31646	49.04896			
T細胞のみ	11	27.12001	36.7858	18.54694			
	12	20.80955	28.15541	15.18784			
	13	26.48491	31.52268	22.26345			

10

20

30

40

50

【 0 4 5 3 】

表61D

細胞型	IFN $\gamma$		群	反復	群	反復	群	反復
	群	反復						
Raji	1	41464.96	30963.75	25447.23	2	1432613	84135.23	1386317
					3	2397286	821594.6	1846574
					4	2274190	942782.2	1937710
	1	11561.27	8586.159	5026.661	2	213743.2	12565.5	131488.3
NamaIw					3	664001.4	69248.71	373145.3
					4	1163951	304488.7	1465425
	1	3530.81	1842.586	2716.459	2	510701.3	52054.34	360549.4
					3	904990.4	300162.3	336275.7
NaIm6					4	1253120	116275.2	1855904
	1	3899.43	3281.217	6749.83	2	163300.5	13171.62	96551.14
					3	294888.9	14905.42	202445.1
					4	503047.8	189820.4	597772.9
T細胞のみ	1	1753.5	1876.623	1557.067	2	5403.774	1746.713	7399.695
					3	5454.525	6663.711	5861.042
					4	23112.12	5606.156	49759.7
					群	反復		
Raji	5	575698	1687352	1965687	8	1078730	402925.4	1348360
	6	519005.7	614491.4	1018404	9	1803657	1518159	2003596
	7	1578042	517803	1788915	10	2490064	419647.4	1932058
RajiC	5	513259.5	347633.9	357939.6	8	24994.79	67790.24	231769.2
	6	784775.3	111826.9	115041.6	9	59348.85	419743.6	852087.2
	7	487082.8	204193.3	69028.4	10	108512.4	237310.2	1327924
NamaIw	5	1095254	1828112	422922.4	8	70351.05	121957.9	1029824
	6	1460396	852559.7	222410.3	9	100939.4	489723.7	1834780

10

20

30

40

50

	7	1421146	1201823	475557.9	10	309207.5	160166.7	1874998
Nalm6	5	219984.2	32995.87	314350.1	8	220363.4	32273.67	135918
	6	418594.9	25470.36	50276.03	9	361549.7	49278.98	433392.1
	7	364977.2	182266.8	39687.06	10	554730	52797.1	337819.6
T細胞のみ	5	1805.136	1126.776	6229.361	8	5965.458	948.2716	8793.781
	6	10846.88	2035.132	8678.811	9	10854	1365.383	13795.46
	7	10220.63	7642.1	8708.371	10	7452.874	5353.539	6430.798
細胞型	群	反復						
Raji	11	205423.6	305476.1	512645.3				
	12	392821.5	750606.6	903119.7				
	13	554100.1	1314131	1028525				
Raji C	11	34116.67	12335.53	45684.74				
D20KO	12	69699.52	134538	208660.6				
	13	100355.9	206666.2	149680.4				
Namala	11	80511.69	155485.4	106748				
	12	175944.5	544014	210348.9				
	13	264515.8	565138.4	187873.3				
Nalm6	11	176019.5	5267.248	15715.26				
	12	229324.8	24222.55	26877.11				
	13	76258.82	31998.6	26876.26				
T細胞のみ	11	2279.092	180.2089	392.9496				
	12	9621.94	1391.83	1901.967				
	13	1775.067	2816.077	947.6876				

10

20

30

40

50

【 0 4 5 4 】



表 6 2

		群										
細胞型	1			2			3			4		
R a j i	1 1 . 9	1 1 . 8	1 2 . 9	4 5	3 1	4 8 . 7	5 4 . 1	3 9 . 9	5 9 . 7	4 4 . 2	3 4 . 3	5 1 . 2
R a j i C D 2 0 K O	1 2 . 1	1 2	1 3 . 2	2 4 . 7	2 2 . 4	3 0 . 2	5 4 . 7	3 6 . 9	5 6 . 4	4 5	3 7 . 7	5 2 . 2
N a m a l w a	6. 7 8	6. 7 8	6. 7 2	1 7 . 9	1 8	3 2 . 3	3 7 . 5	2 6 . 7	4 3 . 1	3 6 . 9	2 8 . 7	4 1 . 8
N a l m 6	6. 7 5	7. 0 4	6. 9 2	1 9 . 3	1 3 . 3	2 0 . 5	2 6 . 5	1 9 . 7	3 0 . 1	2 5 . 7	2 0 . 7	3 1 . 3
T細胞のみ	3. 2 3	2. 7 8	3. 1 2	7. 4	6. 3 3	9. 0 2	6. 7 9	6. 1 3	8. 1 1	1 3 . 3	1 1 . 6	1 6 . 4
細胞型	5			6			7			8		
R a j i	5 6 . 6	4 3 . 3	5 9 . 9	5 5 . 1	4 0 . 8	6 1 . 6	5 3 . 7	4 2 . 2	5 9 . 1	4 4 . 2	3 2 . 2	5 3 . 4
R a j i C D 2 0 K O	4 5	3 3 . 7	4 7 . 8	4 4 . 7	3 4 . 5	4 8 . 2	4 6 . 5	3 5 . 1	4 8 . 5	2 6 . 2	2 4 . 8	2 9 . 5
N a m a l w a	4 1 . 4	2 6	4 2 . 7	4 5 . 1	3 1	5 0 . 8	4 4 . 1	2 8 . 8	4 8 . 5	3 3 . 4	2 0 . 7	3 5 . 3
N a l m 6	2 3 . 3	1 7 . 7	2 5 . 5	2 3 . 9	1 8 . 7	2 8 . 2	2 4 . 6	1 8 . 6	2 8 . 7	1 9 . 1	1 5 . 4	2 0 . 8
T細胞のみ	3. 7 8	3. 9 7	5. 0 9	5. 6 2	5. 9 1	7. 3 6	8. 1 3	8. 1 8	9. 9 2	4. 5 3	4. 6 8	4. 6
細胞型	9			1 0			1 1			1 2		
R a j i	5 3 . 1	4 0 . 8	5 7 . 6	5 5 . 2	4 2 . 2	6 0 . 1	4 9 . 2	3 5 . 8	5 5 . 7	5 1 . 9	3 7 . 3	5 8
R a j i C D 2 0 K O	4 8 . 2	3 8 . 8	5 3	5 6 . 4	4 1 . 8	5 6 . 3	2 8 . 2	2 5 . 3	3 2 . 6	4 2 . 3	3 3 . 8	4 8 . 6
N a m a l w a	4 4 . 2	3 0 . 9	4 1 . 2	4 2 . 2	3 0 . 6		3 1 . 9	2 4 . 8		3 8 . 9	3 3 . 2	4 6 . 5
N a l m 6	2 8 . 6	2 2 . 3	3 3	2 8 . 1	2 3 . 5	3 2 . 5	1 7 . 2	1 7 . 4	2 2 . 1	2 1 . 2	1 9 . 1	2 8 . 2
T細胞のみ	5. 0 1	5. 5	7. 2 9	5. 3 7	6. 2 4	7. 4	2. 9	4. 1 8	3. 6 7	6. 6 7	7. 2 7	9. 3 9
細胞型	1 3											
R a j i	5 7	4 2	6 1 . 1									
R a j i C D 2 0 K O	4 1 . 8	3 2 . 7	4 9 . 4									
N a m a l w a	3 8	2 8 . 1	4 3 . 6									
N a l m 6	1 9 . 9	1 7 . 9	2 5 . 1									
T細胞のみ	3. 8	4. 7 6	5. 8 7									

10

20

30

40

【 0 4 5 5 】

50

表 6 3

細胞型	群											
	1			2			3			4		
R a j i 1 : 4	1 4 . 8	1 3 . 4	1 4 . 7	3 1 . 6	1 8 . 5	3 1 . 1	3 8 . 8	2 3 . 7	3 5 . 8	3 9 . 2	2 4 . 5	3 3 . 8
N a m a l w a 1 : 4	6 . 6	6 . 6 1	6 . 5 5	2 5 . 5	1 5 . 4	2 3	3 8 . 1	2 0 . 9	3 4 . 5	3 4 . 1	2 0 . 8	2 9 . 8
N a l m 6 1 : 4	9 . 9 2	9 . 9 6	1 0 . 7	2 1 . 7	1 6 . 2	1 9 . 5	3 1 . 2	2 2	2 7 . 8	2 7 . 5	2 0 . 7	2 8 . 5
T細胞のみ	3 . 2 3	2 . 7 8	3 . 1 2	7 . 4	6 . 3 3	9 . 0 2	6 . 7 9	6 . 1 3	8 . 1 1	1 3 . 3	1 1 . 6	1 6 . 4
細胞型	5			6			7			8		
R a j i 1 : 4	3 5 . 9	2 6 . 4	3 2 . 5	3 9 . 9	2 8	3 6 . 3	3 7 . 4	2 7 . 3	3 7 . 6	2 6 . 3	2 1 . 6	3 0 . 3
N a m a l w a 1 : 4	3 2	2 0	3 2 . 7	3 7 . 7	2 3 . 9	4 2 . 4	3 6 . 3	2 0 . 8	3 6 . 6	2 5 . 2	1 7 . 8	2 5 . 7
N a l m 6 1 : 4	2 6	1 8 . 7	2 6 . 8	3 0 . 3	2 0 . 9	3 2 . 8	2 7 . 5	2 1 . 1	2 8 . 9	2 0 . 3	1 6 . 1	2 1 . 3
T細胞のみ	3 . 7 8	3 . 9 7	5 . 0 9	5 . 6 2	5 . 9 1	7 . 3 6	8 . 1 3	8 . 1 8	9 . 9 2	4 . 5 3	4 . 6 8	4 . 6
細胞型	9			1 0			1 1			1 2		
R a j i 1 : 4	3 5 . 3	2 8 . 6	3 9 . 5	3 3 . 1	2 8 . 8	4 0	2 8 . 2	2 7 . 9	3 5 . 6	3 9 . 3	3 3 . 7	4 2
N a m a l w a 1 : 4	3 3 . 8	2 2	3 3 . 8	2 9 . 9	2 0 . 4	3 1 . 2	2 5	1 9 . 3	2 7	3 2 . 2	2 4 . 6	3 6 . 4
N a l m 6 1 : 4	2 7 . 5	1 9 . 9	2 9	2 6 . 5	2 0 . 8	2 6	2 0 . 4	1 8 . 6	2 1 . 8	2 7 . 4	1 9 . 5	2 7 . 9
T細胞のみ	5 . 0 1	5 . 5	7 . 2 9	5 . 3 7	6 . 2 4	7 . 4	2 . 9	4 . 1 8	3 . 6 7	6 . 6 7	7 . 2 7	9 . 3 9
細胞型	1 3											
R a j i 1 : 4	4 0	3 6 . 3	4 4 . 4									
N a m a l w a 1 : 4	3 1	2 2 . 9	3 6 . 9									
N a l m 6 1 : 4	2 7 . 8	2 2 . 4	2 9									
T細胞のみ	3 . 8	4 . 7 6	5 . 8 7									

10

20

30

40

50

【 0 4 5 6 】

表 6 4

		群											
細胞型		1			2			3			4		
R a j i	1. 4 9	1. 1	1. 2 8	9. 9 5	8. 2 3	8. 2 6	8. 3 6	6. 8 8	4. 6 2	2 9 . 5	2 8 . 5	2 7 . 8	
R a j i C D 2 0 K O	6. 9 5	6. 6 5	6. 5 7	1 5 . 9	1 4 . 1	3 1 . 3	1 9 . 8	1 2	2 5 . 4	3 9 . 4	3 8	4 8 . 7	
N a m a l w a	1. 1 1	1. 2 6	1. 6	2 8 . 7	2 8 . 5	2 9 . 1	2 3 . 2	1 9 . 4	1 9	4 1 . 7	3 8 . 6	3 9 . 8	
N a l m 6	5. 4 4	5. 0 4	4. 1 3	5 2 . 2	5 0 . 4	5 5 . 8	5 8 . 5	6 3 . 8	6 3	6 9 . 3	7 0 . 7	7 2 . 6	
T細胞のみ	4. 6 5	2. 2 8	3. 8 8	1 5 . 9	1 4 . 9	1 6 . 8	2 2 . 2	2 3 . 1	2 2 . 7	6 7 . 2	6 8 . 1	7 0 . 3	
細胞型		5			6			7			8		
R a j i	2 3 . 5	1 7 . 2	1 1 . 3	1 4 . 9	1 0 . 4	1 0 . 1	1 5 . 9	1 1 . 7	1 0	1 5	1 2 . 8	9. 6	
R a j i C D 2 0 K O	3 4 . 9	3 4 . 3	5 1	2 1 . 7	1 6 . 3	3 0 . 5	1 3 . 8	1 1 . 5	2 3	1 6 . 3	1 9 . 6	2 9 . 8	
N a m a l w a	3 9 . 8	3 1 . 7	3 8 . 3	3 0 . 3	2 2 . 5	2 8 . 1	3 0	2 5 . 3	2 6 . 2	2 8 . 4	2 3 . 7	2 4 . 8	
N a l m 6	6 8 . 5	7 2 . 6	7 4 . 6	6 0	6 2 . 2	6 4 . 6	6 0 . 5	6 5 . 3	6 9 . 4	5 8 . 6	6 3 . 5	6 7 . 1	
T細胞のみ	1 1 . 7	1 4	1 4 . 7	2 6 . 2	2 7	2 8 . 7	2 3 . 9	2 8 . 9	3 0 . 2	1 1 . 2	1 3 . 4	1 5 . 1	
細胞型		9			1 0			1 1			1 2		
R a j i	9. 5 9	9. 1 1	7. 3 3	1 8 . 4	1 7 . 3	1 5 . 6	1 7 . 4	1 7 . 4	1 2 . 6	1 3 . 1	1 3 . 4	1 0 . 1	
R a j i C D 2 0 K O	2 1	1 4 . 7	2 1 . 4	3 3 . 3	3 1 . 1	3 7 . 5	1 8 . 6	1 9 . 2	3 2 . 1	2 8 . 7	2 3 . 7	3 5 . 7	
N a m a l w a	1 9 . 5	1 4 . 7	1 4 . 6	3 2 . 4	3 0	3 0 . 8	3 8 . 7	4 4 . 1	4 0 . 8	3 4 . 2	3 3 . 1	3 1 . 7	
N a l m 6	4 3 . 5	4 4 . 1	4 9 . 2	6 1 . 7	6 9 . 8	6 8 . 8	4 8 . 6	4 7 . 8	5 6 . 2	6 5 . 8	6 8 . 3	6 7 . 8	
T細胞のみ	2 3 . 3	2 8 . 1	3 0	2 2 . 6	2 8 . 1	2 9	5. 1 8	5. 6	7. 2 2	3 6 . 9	4 3 . 5	4 5 . 2	
細胞型		1 3											
R a j i	9. 0 2	8. 5	5. 4 1										
R a j i C D 2 0 K O	1 4 . 4	1 0 . 4	2 1 . 3										
N a m a l w a	1 6	1 7 . 2	1 8 . 3										
N a l m 6	5 3 . 1	5 8	5 8 . 2										
T細胞のみ	8. 5 3	1 0 . 8	1 3 . 7										

10

20

30

40

【 0 4 5 7 】

50

表 6 5

		群											
細胞型	1			2			3			4			
R a j i	1. 6 6	1. 4 2	1. 4	1 1 . 3	9. 8 3	1 8 . 6	1 2 . 8	1 1 . 2	1 8 . 3	3 6	3 1 . 4	4 4 . 3	
N a m a l w a	1. 2	1. 4 1	1. 0 5	1 8 . 8	1 7 . 4	2 5 . 2	2 0 . 8	1 9 . 2	3 2 . 8	3 3 . 3	3 7 . 8	4 4 . 2	
N a l m 6	2. 3 4	2. 2 3	2. 2 2	3 1	2 8 . 9	3 8 . 3	2 8 . 7	3 0 . 4	3 9 . 1	4 0 . 2	4 6 . 1	5 1 . 9	
T細胞のみ	4. 6 5	2. 2 8	3. 8 8	1 5 . 9	1 4 . 9	1 6 . 8	2 2 . 2	2 3 . 1	2 2 . 7	6 7 . 2	6 8 . 1	7 0 . 3	
細胞型	5			6			7			8			
R a j i	1 8 . 6	2 0 . 5	2 5 . 8	1 4 . 8	1 3	2 1 . 3	1 5 . 6	1 3 . 2	2 1 . 2	1 1 . 3	1 2 . 7	2 0 . 4	
N a m a l w a	2 2 . 5	2 5 . 8	3 1 . 3	2 3 . 6	2 5 . 6	3 4 . 4	2 2 . 2	2 2 . 9	3 1	1 7 . 1	1 6 . 9	2 4 . 8	
N a l m 6	4 5 . 9	4 3 . 3	4 8 . 4	3 9 . 9	4 3 . 2	4 4 . 6	3 7 . 6	4 5 . 6	4 9 . 7	2 7 . 3	3 1 . 2	3 9 . 4	
T細胞のみ	1 1 . 7	1 4	1 4 . 7	2 6 . 2	2 7	2 8 . 7	2 3 . 9	2 8 . 9	3 0 . 2	1 1 . 2	1 3 . 4	1 5 . 1	
細胞型	9			1 0			1 1			1 2			
R a j i	9. 4 2	9. 7 8	1 5 . 3	1 7 . 6	1 5 . 3	2 2 . 6	1 2 . 2	1 6 . 5	1 8 . 3	1 0 . 2	1 1 . 4	1 8 . 1	
N a m a l w a	1 3 . 3	1 4 . 5	2 2 . 6	2 3 . 6	2 3 . 5	2 9 . 5	2 0 . 3	1 7 . 1	2 6 . 9	2 0 . 7	2 0 . 2	3 1	
N a l m 6	3 0 . 3	2 7 . 4	3 4 . 9	3 5 . 6	3 6 . 8	5 0 . 7	3 2 . 9	4 8 . 3	6 5 . 4	4 1	5 0	6 0 . 7	
T細胞のみ	2 3 . 3	2 8 . 1	3 0	2 2 . 6	2 8 . 1	2 9	5. 1 8	5. 6	7. 2 2	3 6 . 9	4 3 . 5	4 5 . 2	
細胞型	1 3												
R a j i	6. 4 7	8. 4 1	8. 1										
N a m a l w a	9. 6 4	7. 9 2	1 4 . 8										
N a l m 6	2 2 . 1	2 2 . 9	3 8 . 9										
T細胞のみ	8. 5 3	1 0 . 8	1 3 . 7										

10

20

30

【 0 4 5 8 】

実施例 1 8

【 0 4 5 9 】

40

50

表 6 6 : 例示的な結合モチーフ配列

配列番号	以下の表のV H/V L:	配列
251	表4	<pre> g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T G C A G C A A T G G G G A G C T G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C G G C T A T T A C T G G A G C T G G A T C C G G C A G C C T C C T G G A A A A G G A T T A G A A T G G A T C G G C G A G A T A G A C C A C A G C G G G A G C A C A A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C G C G G G T T A C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G G C G G A G G C T C C T G G T A C A G C A A C T G G T T C G A T C C T T G G G G C C A A G G C A C C A T G G T G A C C G T T T C C A G C G G C T C T A C A A G C G G C A G C G G G A A A C C T G G T T C T G G A G A G G G C A G C A C A A A G G G C G A C A T C C A G A T G A C A C A G A G C C C C A G C A C C C T T A G C G C C T C T G T G G G A G A T A G G G T T A C C A T T A C C T G C A G G G C T T C C C A G A G C A T C A G C A G C T G G C T G G C A T G G T A T C A A C A G A A G C C T G G C A A G G C T C C C A A G C T G C T C A T C T A T G A C G C C T C C A G C C T G G A A A G C G G G G T T C C C T C C A G A T T T A G C G G C T C A G G C T C C G G A A C A G A G T T C A C C C T T A C C A T C T C T A G C C T G C A A C C C G A C G A C T T C G C T A C T T A T T A C T T G T C A A C A A G A C A G A A G C T T G C C C C C A C A T T C G G C G G A G G G A C C A A G G T T G A G A T C A A G </pre>
252	表5	<pre> g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T G C A G C A A T G G G G A G C T G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C G G C A T C C A C T G G A A C T G G A T C C G G C A G C C T C C T G G C A A A G G C C T T G A A T G G A T C G G C A G A T A T C G A C A C C A G C G G C T C C A C C A A C T A C A A C C C A G C C T G A A A T C G A G G G T T A C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A T T G C G C C A G A C T G G G C C A G G A A A G C G C T A C C T A C C T T G G C A T G G A T G T G T G G G G G C A G G G C A C C A C C G T T A C T G T T A G C T C T G G C T C A A C A A G C G G C A G C G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T A A T G A C T C A G A G C C C C G A C A G C C T G G C C G T T A G C T T A G G C G A A A G G G C T A C A A T C A A T T G C A A G A G C A G C C A G A G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A G A A C T A C C T C G C A T G G T A </pre>

10

20

30

40

		TCAACAGAAAGCCAGGCCAGCCTCCCAAGCTG CTCATCTACTGCGCTTCCACCAGAGAGAGCG GGGTTCCCGATAGATTCTCCGGCTCCGGTTC TGGAACAGATTTACAGCTCACAAATCAGCAGC TTACAGGCCGAGGATGTGGCTGTCTACTATT GTCAGCAGTTGTACACCTACCCCTTACATT CGGCGGAGGCCACCAAGGTTGAGATCAAG
253	表6	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G C T T C A G C T C C A A G A G A G C G G A C C T G G C T T A G T G A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C A C C G T T T C T G G C G G A A G C A T C A G C A G C T C C A G C T A T T A C T G G G G A T G G A T C A G G C A G C C C C T G G C A A G G G T T T A G A A T G G A T C G G C T C G A T A T A T T A C T C C G G C A G C A C C T A C T A T A A C C C C A G C T T G A A G A G C C G G G T T A C C A T T T C T G T G G A C A C A T C A A A G A A C C A G T T C A G C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A G A C A G A C T A C T C C A G C G G C A T G G G C T A C G G C A T G G A T G T G T G G G G A C A A G G A A C C A C C G T T A C T G T G A G C A G C G G T T C C A C C A G C G G C T C A G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G G A A G C A C C A A G G G G G A T A T A C A G A T G A C A C A G A G C C C C T C C A G C C T G T C C G C C A G C G T T G G C G A T C G T G T A A C G A T C A C C T G C C G G G C C T C T C A G A G C A T C A A C T C C T A C C T C A A T T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C A A G G C C C C C A A A T T A C T C A T C T A C G C C G C C A G C A G C T T A C A G A G C G G G G T T C C C T C T A G A T T C T C C G G C T C C G G T T C T G G A A C A G A T T T C A C C C T C A C T A T C T C C A G C T T G C A G C C C G A G G A T T T C G C C A C T T A T T A C T G T C A G C A G A G C C T G G C C G A C C C C T T C A C A T T C G G C G G A G G C A C A A A G G T T G A G A T C A A G
254	表7	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G C T T G T G C A G A G C G G A G C T G A A G T T A A G A A G C C T G G C G C C T C T G T G A A G G T T A G C T G C A A G G C C A G C G G C T A C A C A T T C A A G G A A T A T G G C A T C T C C T G G G T T A G G C A G G C T C C C G G C C A A G G C T T A G A A T G G A T G G G C T G G A T C T C C G C C T A C T C C G G C C A C A C C T A C T A C G C C C A G A A G C T T C A G G G C A G G G T T A C C A T G A C C A C C G A C A C C A G C A C C T C T A C C G C C T A T A T G G A G C T G A G G A G C C T G A G A T C G G A C G A C A C A G C T G T G T A T T A C T G C G C C A G A G G C C C C A C T A C G A C G A C T G G T C T G G A T T T A T C A T C T G G T T C G A C C C C T G G G G G C A G G G C A C C C T G G T C A C A G T T T C T T C T G G C T C C A C C A G C G G A A G C G G C A A G C C A G G C T C A G G C G A A G G A T C T A C A A A A G G C G A C A T C C A A A T G A C A C A G A G C C C C A G C A G C T T G A G C G C C T C C G T T G G C G A C A G A G T T A C A A T C A C C T G C A G G G C C T C T C A G A

10

20

30

40

50

		GCATCAGCAGCTATTTGAATTGGTATCAACA GAAGCCAGGAAAGGCCCTAAGCTGCTCATC TACGCTGCCAGCTCGCTCCAATCTGGCGTTC CTAGCAGATTTAGCGGCTCCGGCAGCGGCAC AGACTTTACTCTTACCATTAGCTCCCTGCAG CCCGAGGACTTTCGCTACCTACTATTGCCAGC AAAGCTACAGATTCCTCCACCTTTGGCCA GGGCACAAAGGTTGAGATCAAG
2 5 5	表 8	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A G A G A G C G G A C C T G G C T T A G T G A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C A C C G T T T C T G G C G G A A G C A T C A G C T C T C C C G A C C A T T A C T G G G G A T G G A T C A G G C A G C C C C T G G C A A G G G T T T G G A A T G G A T C G G C A G C A T C T A C G C C A G C G G C A G C A C A T T C T A C A A C C C C T C G C T C A A A A G C A G G G T T A C T A T T T C T G T G G A C A C A A G C A A A A A T C A G T T C A G C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A G A C A G A C T A C T C C A G C G G G A T G G G C T A C G G C A T G G A T G T G T G G G A C A A G G A A C C A C C G T T A C T G T G A G C A G C G G C T C C A C A A G C G G C T C A G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G G A A G C A C C A A G G G G G A C A T T C A A A T G A C C C A A A G C C C C T C A G C C T G T C C G C C A G C G T T G G C G A T A G G G T T A C A T T A C C T G C A G G G C C A G C C A A A G C A T C A A C T C C T A C C T A A A T T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C A A G G C C C C A A A C T A C T C A T T T A C G C C G C C A G C A G C T T A C A G A G C G G G G T T C C C T C T A G A T T C T C C G G C A G C G G T T C T G G A A C A G A T T T C A C T C T C A C A A T A T C T T C G C T G C A G C C C G A G G A T T T C G C T A C C T A C T A T T G C C A G C A A T C C C T G G C C G A C C C C T T C A C A T T C G G C G G A G G C A C A A A G G T T G A G A T C A A G
2 5 6	表 9	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G A T C A C A T T A A A A G A G A G C G G A C C T A C A C T G G T G A A G C C C A C C C A A A C G C T T A C C C T C A C C T G C A C C T T T A G C G G G T T C A G C C T G G A C A C A G A G G G C G T T G G C G T T G G A T G G A T C A G G C A G C C T C C T G G C A A A G C C C T C G A A T G G C T T G C C C T C A T C T A C T T C A A C G A C C A G A A G A G A T A C A G C C C C T C C T T A A A A T C T C G G C T C A C A A T C A C C A A A G A C A C A A G C A A A A A T C A G G T T G T G C T C A C C A T G A C C A A C A T G G A C C C T G T G G A C A C C G C T G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A C A C C G G C T A C A G C A G A T G G T A C T A C G G G A T G G A C G T T T G G G G C C A A G G C A C C A C T G T G A C C G T T T C C A G C G G C T C T A C A A G C G G C A G C G G G A A A C C T G G T T C T G G A G A G G G C A G C A C A A A G G G C G A C A T C C A G A T G A C G C A A T C C C C A G C T C T G T G A G C G C C T C T G T G G G A G A C A G A G T T

10

20

30

40

		<p>ACAATCACATGCCGGGCCTCCCAGGGCATCA  GCTCTTGGCTGGCATGGTATCAACAGAAGCC  TGGCAAGGCTCCC AAGCTGCTCATCTATGCC  GCCTCCTCCTTACAATCTGGAGTTCCCTCCA  GGTTCAGCGGGAGCGGCTCAGGAACAGACTT  CACCCTTACCATCTCTAGCCTGCAACCCGAG  GACTTCGCTACTTATTACTGTCAGCAGGCCT  ACGCCTACCCCATCACATTCGGCGGAGGAAC  AAAGGTTGAGATCAAG</p>	
257	表10	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A  C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T  G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T G C A G  C A A T G G G G A G C T G G C C T G T T A A A G C C C A G C G  A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C G C T G T G T A T G G  C G G A A G C T T C G A G A A A T A C T A C T G G A G C T G G  A T C C G G C A G C C T C C C G G C A A A G G C T T A G A A T  G G A T C G G C G A G A T T T A T C A C A G C G G G C T C A C  C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C T C G A G T T  A C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T  T C T C C C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C  C G A C A C A G C T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T  A G A T A C G A C A G C A G C G A C A G C T A T T A C T A C A  G C T A T G A C T A C G G C A T G G A T G T G T G G G G G C A  G G G C A C C A C C G T T A C T G T C T C C T C T G G A T C T  A C C A G C G G C A G C G G C A A G C C T G G A T C T G G C G  A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T G C T C A C  C C A G A G C C C C G A C A G C C T G G C T G T G T C T T T A  G G C G A A A G G G C T A C C A T C A A C T G C A A G A G C A  G C C A G A G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A  G A A C T A C C T T G C T T G G T A T C A A C A G A A G C C T  G G C C A G C C C C T A A G C T G C T C A T C T A C T G G G  C C T C T A G C A G A G A G A G C G G G G T T C C C G A T C G  G T T T A G C G G C T C C G G C T C A G G A A C C G A T T T C  A C C C T C A C T A T C T C C A G C C T C C A G G C C G A G G  A T G T G G C T G T C T A C T A T T G T C A G C A G A G C T A  T A G C T T C C C C T G G A C A T T C G G C G G A G G C A C C  A A G G T T G A G A T C A A G</p>	10
258	表11	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A  C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T  G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A  C A A T G G G G A G C T G G C C T G T T A A A G C C C A G C G  A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C G C T G T G T A T G G  C G G A A G C T T C A G C C G C T A T G T G T G G A G C T G G  A T C C G G C A G C C T C C T G G C A A A G G C C T T G A A T  G G A T C G G A G A G A T A G A C A G C A G C G G C A A G A C  C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C A C G C G T T  A C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T  T C T C C C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C  C G A C A C A G C T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T  A G A T A C G A C A G C T C C G A C A G C T A T T A C T A C A  G C T A T G A C T A C G G C A T G G A T G T G T G G G G G C A  G G G C A C C A C C G T T A C A G T T A G C T C T G G A A G C  A C C A G C G G C T C C G G C A A G C C T G G A T C T G G T G</p>	30
			40



		<p>AAGGAAGCACAAAGGGCGACATTGTGCTCAC  CCAGAGCCCCGACAGCCTGGCTGTGTCTTTA  GGCGAAAGGGCTACCATCAACTGCAAGAGCA  GCCAGAGCGTTCTGTACAGCAGCAACAACAA  GAACTACCTTGCATGGTATCAACAGAAGCCT  GGCCAGCCTCCCAAGCTGCTCATCTACTGGG  CCTCTAGCAGAGAGAGCGGGGTTCGCGATCG  CTTTAGCGGCAGCGGTTCTGGCACCGATTTC  ACTCTTACAATCAGCAGCTTACAGGCCGAGG  ATGTGGCTGTCTACTATTGTCAGCAGAGCTA  TAGCTTCCCCTGGACATTGCGGCGGAGGCACC  AAGGTTGAGATCAAG</p>	
259	表12	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A  CAGCTCTTCTGCTGCCCTGGCCCTGCTTCT  GCATGCTGCTAGACCTCAGGTTTCAGTTACAA  CAATGGGGAGCTGGCCTGTTAAAGCCCAGCG  AAACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTGTATGG  CGGAAGCTTCAGCGGCTACGCTTGGAGCTGG  ATTAGACAGCCTCCTGGCAAAGGACTAGAAT  GGATCGGAGAGATCGACCACAGAGGCTTCAC  CAACTACAACCCCAGCCTGAAATCCAGAGTT  ACAATCTCTGTGGACACAAGCAAGAATCAGT  TCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTTACTGCCGC  CGACACAGCTGTGTACTATTGCGCCAGGGTT  AGATACGACAGCAGCGACAGCTATTACTACA  GCTATGACTACGGCATGGATGTGTGGGGGCA  GGGCACCACCGTTACGGTTAGCTCTGGATCT  ACCAGCGGCAGCGGCAAGCCTGGCTCAGGAG  AAGGAAGCACAAAGGGCGACATTGTGCTCAC  CCAGAGCCCCGACAGCCTGGCCGTTTCTTTA  GGCGAAAGGGCTACCATCAACTGCAAGAGCA  GCCAGAGCGTTCTGTACAGCAGCAACAACAA  GAACTACCTTGCATGGTATCAACAGAAGCCA  GGCCAGCCTCCCAAGCTGCTCATCTACTGGG  CCTCTAGCAGAGAGAGCGGGGTTCGCGATAG  ATTTTCGGGATCAGGCTCCGGCACCGATTTC  ACTCTTACGATCAGCAGCTTACAGGCCGAGG  ATGTGGCTGTCTACTATTGTCAGCAGAGCTA  TAGCTTCCCCTGGACATTGCGGCGGAGGCACC  AAGGTTGAGATCAAG</p>	10
260	表13	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A  CAGCTCTTCTGCTGCCCTGGCCCTGCTTCT  GCATGCTGCTAGACCTCAGGTTTCAGTTACAA  CAATGGGGAGCTGGCCTGTTAAAGCCCAGCG  AAACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTGTATGG  CGGAAGCTTCAGAAATACTACTGGAGCTGG  ATCCGGCAGCCTCCCGGCAAAGGCTTAGAAT  GGATCGGAGAGATAGACACCAGCGGCTTCAC  CAACTACAACCCCAGCCTGAAATCTAGGGTT  ACAATCTCTGTGGACACAAGCAAGAATCAGT  TCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTTACTGCCGC  CGACACAGCTGTGTACTATTGCGCAGAGTT  GGCAGATACAGCTACGGCTACTACATCACCG</p>	20
			30
			40

	<p>CCTTCGACATTTGGGGCCAAAGGCACCACTGT  GACCGTTTCCAGCGGAAGCACTAGCGGCAGC  GGGAAACCTGGTTCTGGAGAGGGCTCAACCA  AGGGCGACATCGTGATGACACAGAGCCCCGA  CTCTCTGGCTGTGTCCCTGGGAGAGAGAGCC  ACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTTC  TGTACAGCAGCAACAACAAGAACTACCTGGC  ATGGTATCAACAGAAGCCTGGCCAGCCCCCT  AAGCTGCTCATCTACTGGGCTTCCACCAGAG  AATCAGGCGTTCCAGACAGGTTCTCCGGCTC  GGGTTCAGGCACAGACTTCACCCTTACCATC  TCTTCCCTGTCAGGCCCGAAGATGTGGCCGTTT  ACTACTGTCAGCAGCACTACAGCTTCCCTTT  CACATTCGGCGGAGGCCACCAAGGTTGAGATC  AAG</p>	
--	--	--

10

20

30

40

50

【 0 4 6 0 】

实施例 19

【 0 4 6 1 】

表 6 7 : 例示的なヒンジ配列

配列番号	ヒンジ	配列
261	C8K	GCAGCTGCTTTTCGTGCCTGTGTTCCTGCCTG CTAAGCCCACCACCACTCCTGCTCCAAGACC TCCTACCCCCGCTCCTACAATCGCCAGCCAA CCTCTGAGCCTGAGACCGGAGGCATGCAGAC CTGCGGCAGGGGGAGCAGTTTACACAAGAGG CTTGGACTTTCGCTTTCGACATCTACATCTGG GCCCTCTGGCCGGCACATGCGGAGTTCTTC TTCTTAGCCTGGTGATCACCCCTGTACTGCAA CCACAGAAAC
262	C28 T	GCTGCTGCATTGGATAAATGAAAAATCGAACG GCACAATCATTCATGTGAAGGGCAAACACCT GTGTCCCAGCCCCCTTGTTCAGGACCTAGC AAGCCTTTTTTGGGTTCCTCGTGGTGGTGGGCG GCGTTCTGGCTTGCTACTCTCTACTTTGTAAC TGTGCGCATTTATTATATTCTGGGTT
263	C28 T1x	GGAGGAGGAGGATCTCTGGATAACGAGAAAA GCAACGGGACCATTCATGTGAAGGGAAA ACATCTGTGTCCCAGCCCCCTTGTTCGCCGGA CCTAGCAAAGCCGTTTTTGGGTTCCTCGTGGTGG TGGGCGGCGTTCTGGCTTGCTACTCTCTGCT TGTGACCGTTGCCCTTCATTATCTTCTGGGTT
264	C28 T2x	GGAGGAGGAGGATCTGGTGGAGGAGGTTCTC TGGACAATGAGAAAATCAAATGGAACGATCAT CCATGTGAAGGGGAAGCACCTCTGCCCTCT CCCCTGTTTTCTGGTCCCTAGCAAAGCCCTTCT GGGTTTTTGGTGGTTCGTGGGCGGCGTTCTGGC TTGCTACAGCCTGTTAGTGACCCTTGCATTT ATCATATTTTTGGGTT
265	C28 T2x _NC	GGAGGAGGAGGATCTGGTGGAGGAGGTTCTC TGGACAATGAGAAAATCGAATGGGACAATCAT CCATGTGAAGGGGAAGCACCTGAGCCCCTCT CCCCTGTTTTCTGGTCCCTAGCAAAGCCCTTCT GGGTTTTTGGTGGTTCGTGGGCGGCGTTCTGGC CGTTTTACAGCCTGTTAGTGACCCTTGCATTT ATCATATTTTTGGGTT
266	C28 T2x _NG	GGAGGAGGAGGATCTGGTGGAGGAGGTTCTC TGGACAATGAAAAGAGCAATGGCACAAATCAT CCATGTGAAGGGGAAGCACCTGAACGGCTCC GCCCTGTTTTCTGGTCCCTAGCAAAGCCATTTT GGGTTCTCGTGGTGGTGGGCGGCGTTCTGGC CGTTTTACAGCCTGTTAGTGACCCTTGCATTT ATAATCTTCTGGGTT
267	C28 T3x	GGAGGAGGAGGATCTGGTGGAGGAGGTTCTG GAGGAGGCGGCTCTCTCGACAACGAAAAGAG CAATGGCACCAATTATTCACGTTAAAGGCAAG CATCTGTGCCCTCCCCCTGTTCCCCGGAC CTTCAAAACCTTTTTTGGGTTCTCGTGGTGGT GGGCGGCGTTCTGGCCTGCTATTCTTTGCTG GTAACGTAGCCTTCATTATCTTCTGGGTT

10

20

30

40

50

268	I 4	<p>GAGAGCAAGTACGGACCTCCTTGTCCTCCAT  GTCCTGCTCCCGAGTTCGAGGGCGGACCTTC  AGTGTTCCTGTTCCCCCTAAACC AAGGAT  ACTCTTATGATCAGCCGGACCCCGAGGTCA  CCTGTGTGGTGGTAGATGTTAGCCAGGAGGA  TCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTCGAC  GGCGTCGAGGTACACAACGCCAAGACCAAGC  CTAGGGAGGAGCAGTTCCAGTCCACCTATAG  GGTTCGTGAGCGTGTACCGTGTCTGCACCAG  GACTGGTTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCA  AGGTGTCCAACAAGGGCCTCCCCAGCAGCAT  CGAGAAGACCATTAGCAAGGCCAAAGGGACAG  CCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACATTACCTC  CTTCCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCAGGT  GTCGCTTACCTGCCTGGTCAAGGGCTTCTAC  CCCTCCGACATTGTCAGTTGAATGGGAGTCAA  ACGGCCAGCCGGAGAACAAATTACAAGACCAC  CCCCCAGTCTTGGACAGCGACGGCTCTTTC  TTCCTCTACTCGCGGCTTACTGTAGATAAAA  GTCGTTGGCAGGAGGGAAACGTGTTACAGCTG  CTCTGTGATGCACGAGGCCCTCCATAACCAC  TACACCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGG  GCAAGATGTTCTGGGTGCTGGTTCGTGGTGGG  CGGAGTTCTTGCTTGCTACTCCCTGCTCGTG  ACCGTCGCTTTTCATTATATTCTGGGTC</p>	10
269	I 1 - 2	<p>GAGAGAAAGTGTGTGTTGAGTGTCTCCTT  GTCCTCCCTGCCCTGCTCCCGAGTTACTTGG  CGGACCTTCAGTGTTCTGTTCCCCC AAG  CCCAAGGATACTCTCATGATCAGCCGGACCC  CCGAGGTACACTGTGTGGTGGTAGATGTTAG  CCACGAGGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG  TACGTCGACGGCGTTCGAGGTGCACAACGCCA  AGACCAAGCCTCGTGAAGAACAGTACCAGTC  CACCTACAGAGTTGTGAGCGTGTCTTACCGTG  CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGT  ACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTCCC  CGCTCCCATCGAGAAAGACAATCAGCAAGGCC  AAGCCCTGTCCAGCCCTGAGCTCTTAGGAG  GACCTAGCGTTTTCTTTTCCCTCCCAAGCC  TAAGGACACTCTTATGATCTCCAGAACACCA  GAGGTTACCTGCGTCGTGGTGGACGTGTCCC  ATGAGGACCCAGAAGTCAAATTC AATTGGTA  TGTAGATGGGGTTCGAGGTCCACAACGCTAAG  ACAAAGCCCCGCGAGGAGCAGTACA ACTCTA  CCTACAGGGTCTGTGTCCTGCTCACAGTGCT  GCATCAGGATTGGCTCAACGGGAAGGAGTAT  AAGTGCAAAGTGTCCAATAAGGCCCTTCCCG  CCCCATCGAGAAAACCATCTCTAAGGCCAA  ATTCTGGGTGCTGTTGGTGTGGGCGGCGTG  CTTGCTTGTACTCTCCCTGCTGGTCACTGTAG  CTTTCATCATATTTTGGGTG</p>	30 40

【 0 4 6 2 】  
**実施例 2 0**  
【 0 4 6 3 】

表 68 : 結合モチーフ、ヒンジ、及び 4 1 B B 共刺激ドメインをコードする例示的なヌクレオチド配列

配列番号	配列
271	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G C T T C A G C T C C A A G A G A G C G G A C C T G G C T T A G T G A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C A C C G T T T C T G G C G G A A G C A T C A G C A G C T C C A G C T A T T A C T G G G G A T G G A T C A G G C A G C C C C T G G C A A G G G T T T A G A A T G G A T C G G C T C G A T A T A T T A C T C C G G C A G C A C C T A C T A T A A C C C C A G C T T G A A G A G C C G G G T T A C C A T T T C T G T G G A C A C A T C A A A G A A C C A G T T C A G C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A G A C A G A C T A C T C C A G C G G C A T G G G C T A C G G C A T G G A T G T G T G G G G A C A A G G A A C C A C C G T T A C T G T G A G C A G C G G T T C C A C C A G C G G C T C A G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G G A A G C A C C A A G G G G G A T A T A C A G A T G A C A C A G A G C C C C T C C A G C C T G T C C G C C A G C G T T G G C G A T C G T G T A A C G A T C A C C T G C C G G G C C T C T C A G A G C A T C A A C T C C T A C C T C A A T T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C A A G G C C C C C A A A T T A C T C A T C T A C G C C G C C A G C A G C T T A C A G A G C G G G G T T C C C T C T A G A T T C T C C G G C T C C G G T T C T G G A A C A G A T T T C A C C C T C A C T A T C T C C A G C T T G C A G C C C G A G G A T T T C G C C A C T T A T T A C T G T C A G C A G A G C C T G G C C G A C C C C T T C A C A T T C G G C G G A G G C A C A A A G G T T G A G A T C A A G G C A G C T G C T T T C G T G C C T G T G T T C C T G C C T A A G C C C A C C A C C A C T C C T G C T C C A A G A C C T C C T A C C C C G C T C C T A C A A T C G C C A G C C A A C C T C T G A G C C T G A G A C C G G A G G C A T G C A G A C C T G C G G C A G G G G A G C A G T T C A C A C A A G A G G C T T G G A C T T C G C T T G C G A C A T C T A C A T C T G G G C C C C T C T G G C C G G C A C A T G C G G A G T T C T T C T T C T T A G C C T G G T G A T C A C C C T G T A C T G C A A C C A C A G A A A C A G A T T C A G C G T T G T G A A G A G A G G C C G G A A G A A G C T G C T G T A C A T C T T C A A G C A G C C C T T C A T G A G A C C T G T G C A G A C C A C A C A G G A G G A A G A C G G C T G C A G C T G T A G A T T C C C C G A G G A A G A G G A G G G C G G C T G T G A G C T G A G A G T T A A G T T C A G C A G G A G C G C C G A C G C C C C T G C C T A C C A G C A A G G A C A G A A T C A A C T G T A C A A C G A G C T G A A C C T G G G C A G A C G G G A G G A A T A C G A T G T G C T G G A C A A G A G G A G A G G C A G A G A C C C C G A G A T G G G C G G C A A A C C T A G A A G A A A G A A C C C C A G G A G G G C C T G T A T A A C G A G C T C C A G A A G G A C A A G A T G G C C G A G G C C T A C A G C G A G A T C G G C A T G A A G G G C G A A A G A A G A A G A G G C A A G G G C C A C G A C G G C C T C T A C C A G G G C T T A A G C A C A G C T A C A A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T G C A C A T G C A G G C C C T G C C C C T A G A T G A T T A A T T A A a t c g a t
272	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G

10

20

30

40

	<p>CTAGACCTCAGGTTTACAGTTACAAGAGAGCGGACCT  GGCTTAGTGAAGCCAGCGAAACCCTGTCCCTCAC  CTGCACCGTTTCTGGCGGAAGCATCAGCTCTCCCG  ACCATTACTGGGGATGGATCAGGCAGCCCCCTGGC  AAGGGTTTGGAAATGGATCGGCAGCATCTACGCCAG  CGGCAGCACATTTCTACAACCCCTCGCTCAAAGCA  GGGTTACTATTTCTGTGGACACAAGCAAAAATCAG  TTCAGCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCCGA  CACAGCTGTGTACTACTGTGCCAGAGAGACAGACT  ACTCCAGCGGGATGGGCTACGGCATGGATGTGTGG  GGACAAGGAACCACCGTTACTGTGAGCAGCGGGCTC  CACAAAGCGGCTCAGGCAAGCCTGGCTCAGGAGAAG  GAAGCACCAAGGGGGACATTCAAAATGACCCAAAGC  CCCTCCAGCCTGTCCGCCAGCGTTGGCGATAGGGT  TACCATTACCTGCAGGGCCAGCCAAAGCATCAACT  CCTACCTAAATTGGTATCAACAGAAGCCAGGCAAG  GCCCCCAAACACTACTCATTTACGCCGCCAGCAGCTT  ACAGAGCGGGGTTCCCTCTAGATTTCTCCGGCAGCG  GTTCTGGAACAGATTTCACTCTCACAAATATCTTCG  CTGCAGCCGAGGATTTTCGCTACCTACTATTGCCA  GCAATCCCTGGCCGACCCTTACATTCGGCGGAG  GCACAAAGGTTGAGATCAAGGCAGCTGCTTTTCGTG  CCTGTGTTCCCTGCCTGCTAAGCCCACCACCACTCC  TGCTCCAAGACCTCCTACCCCGCTCCTACAATCG  CCAGCCAACCTCTGAGCCTGAGACC GGAGGCATGC  AGACCTGCGGCAGGGGGAGCAGTTCACACAAGAGG  CTTGGACTTTCGCTTGCACATCTACATCTGGGCC  CTCTGGCCGACACATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGC  CTGGTGATCACCCCTGTACTGCAACCACAGAAACAG  ATTCAGCGTTGTGAAGAGAGGGCCGGAAGAAGCTGC  TGTACATCTTCAAGCAGCCCTTTCATGAGACCTGTG  CAGACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAG  ATTCCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGA  GAGTTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCC  TACCAGCAAGGACAGAAATCAACTGTACAACGAGCT  GAACCTGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGG  ACAAGAGGAGAGGCAGAGACC CGAGATGGGCGGC  AAACCTAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTA  TAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCT  ACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAAGA  GGCAAGGGCCACGACGGCCTTACCAGGGCTTAAG  CACAGCTACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACA  TGCAGGCCCTGCCCCCTAGATGATTAATTAAtcga  at</p>	
273	<p>ggtaaccCCGGgCCCATGGCTCTTCCTGTGACAGC  TCTTCTGCTGCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG  CTAGACCTCAGATCACATTAAGAGAGCGGACCT  ACACTGGTGAAGCCCACCCAAACGCTTACCCTCAC  CTGCACCTTTAGCGGGTTCAGCCTGGACACAGAGG  GCGTTGGCGTTGGATGGATCAGGCAGCCTCCTGGC  AAAGCCCTCGAATGGCTTGGCCCTCATCTACTTCAA  CGACCAGAAGAGATACAGCCCTCCTTAAATCTC  GGCTCACAAATCACCAAAGACACAAGCAAAAATCAG</p>	

10

20

30

40

	<p>GTTGTGCTCACCATGACCAACATGGACCCTGTGGA  CACCGCTGTGTACTACTGTGCCAGAGACACCGGCT  ACAGCAGATGGTACTACGGGATGGACGTTTGGGGC  CAAGGCACCACTGTGACCGTTTCCAGCGGCTCTAC  AAGCGGCAGCGGGAAACCTGGTTCTGGAGAGGGCA  GCACAAAGGGCGACATCCAGATGACGCAATCCCC  AGCTCTGTGAGCGCCTCTGTGGGAGACAGAGTTAC  AATCACATGCCGGGCCTCCCAGGGCATCAGCTCTT  GGCTGGCATGGTATCAACAGAAGCCTGGCAAGGCT  CCCAGAGTCTCATCTATGCCGCCTCCTCCTTACA  ATCTGGAGTTCCTCCAGGTTTCAGCGGGAGCGGCT  CAGGAACAGACTTCCACCTTACCATCTCTAGCCTG  CAACCCGAGGACTTCGCTACTTATTACTGTGAGCA  GGCCTACGCCTACCCCATCACATTCGGCGGAGGAA  CAAAGGTTGAGATCAAGGCAGCTGCTTTCGTGCCT  GTGTTCCCTGCCTGCTAAGCCCACCACCACTCCTGC  TCCAAGACCTCCTACCCCGCCTCCTACAATCGCCA  GCCAACCTCTGAGGCTGAGACCAGGAGGCATGCAGA  CCTGCGGCAGGGGAGCAGTTTCACACAAGAGGCTT  GGACTTCGCTTGCGACATCTACATCTGGGCCCTC  TGGCCGGCACATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGCCTG  GTGATCACCTGTACTGCAACCACAGAAACAGATT  CAGCGTTGTGAAGAGAGGCCGGAAGAAGCTGCTGT  ACATCTTCAAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAG  ACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATT  CCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAG  TTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTAC  CAGCAAGGACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAA  CCTGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACA  AGAGGAGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAA  CCTAGAAGAAAGAACCCTCAGGAGGGCCTGTATAA  CGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCCTACA  GCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGC  AAGGGCAACAGACGGCCTTACCAGGGCTTAAGCAC  AGCTACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGC  AGGCCCTGCCCTAGATGATTAAATTAAtcga t</p>	
274	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C C A G A A A T A C T  A C T G G A G C T G G A T C C G G C A G C C T C C C G G C A A A G G C  T T A G A A T G G A T C G G A G A G A T A G A C A C C A G C G G C T T  C A C C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C T A G G G T T A  C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C  C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C  T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T G G C A G A T A C A G C T  A C G G C T A C T A C A T C A C C G C C T T C G A C A T T T G G G G C  C A A G G C A C C A C T G T G A C C G T T T C C A G C G G A A G C A C  T A G C G G C A G C G G G A A A C C T G G T T C T G G A G A G G G C T  C A A C C A A G G G C G A C A T C G T G A T G A C A C A G A G C C C C  G A C T C T C T G G C T G T G T C C C T G G G A G A G A G A G C C A C  C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A G C G T T C T G T A C A</p>	

10

20

30

40

50

	<p>GCAGCAACAACAAGA AACTACCTGGCATGGTATCAA  CAGAAGCCTGGCCAGCCCCCTAAGCTGCTCATCTA  CTGGGCTTCCACCAGAGAATCAGGCGTTCCAGACA  GGTTCTCCGGCTCGGGTTTCAGGCACAGACTTCACC  CTTACCATCTCTTCCCTGCAGGCCGAAGATGTGGC  CGTTTACTACTGTTCAGCAGCACTACAGCTTCCCTT  TCACATTCGGCGGAGGCACCAAGGTTGAGATCAAG  GCAGCTGCTTTCGTGCCTGTGTTCCCTGCCTGCTAA  GCCACCACTCCTGCTCCAAGACCTCCTAACC  CCGCTCCGTACAATCGCCAGCCAACCTCTGAGCCTG  AGACCCGAGGCATGCAGACCTGCGGCAGGGGAGC  AGTTCACACAAGAGGCTTGGACTTCGCTTGCGACA  TCTACATCTGGGCCCTCTGGCCGGCACATGCGGA  GTTCTTCTTCTTAGCCTGGTGATCACCTGTACTG  CAACCACAGAAACAGATTCAGCGTTGTGAAGAGAG  GCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGCCC  TTCATGAGACCTGTGTCAGACCACACAGGAGGAAGA  CGGCTGCAGCTGTAGATTCCCGAGGAAGAGGAGG  GCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTCAGCAGGAGC  GCCGACGCCCTGCCTACCAGCAAGGACAGAATCA  ACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGGGAGG  AATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGAGGCAGAGAC  CCCGAGATGGGCGGCCAAACCTAGAAGAAAGAACCC  CCAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCCAGAAGGACA  AGATGGCCGAGGCCCTACAGCGAGATCGGCATGAAG  GGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGGCCACGACGGCCT  CTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAAAGGACACCT  ACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCTAGA  TGATTAATTA A a t c g a t</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>2 7 5</p>	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T G C A G C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C G A G A A A T A C T  A C T G G A G T G G A T C C G G C A G C C T C C C G G C A A A G G C  T T A G A A T G G A T C G G C G A G A T T T A T C A C A G C G G G C T  C A C C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C T C G A G T T A  C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C  C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C  T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T A G A T A C G A C A G C A  G C G A C A G C T A T T A C T A C A G C T A T G A C T A C G G C A T G  G A T G T G T G G G G G C A G G G C A C C A C C G T T A C T G T C T C  C T C T G G A T C T A C C A G C G G C A G C G G C A A G C C T G G A T  C T G G C G A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T G C T C  A C C C A G A G C C C C G A C A G C C T G G C T G T G T C T T T A G G  C G A A A G G G C T A C C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A  G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A G A A C T A C C T T  G C T T G G T A T C A A C A G A A G C C T G G C C A G C C C C T A A  G C T G C T C A T C T A C T G G G C C T C T A G C A G A G A G A G C G  G G G T T C C C G A T C G G T T T A G C G G C T C C G G C T C A G G A  A C C G A T T T C A C C C T C A C T A T C T C C A G C C T C A G G C  C G A G A T G T G G C T G T C T A C T A T T G T C A G C A G A G C T  A T A G C T T C C C C T G G A C A T T C G G C G G A G G C A C C A A G</p>	<p>30</p> <p>40</p>



	<p>GTTGAGATCAAGGCAGCTGCTTTTCGTGCCTGTGTT  CCTGCCTGCTAAGCCACCCACTCCTGCTCCAA  GACCTCCTACCCCGCTCCTACAATCGCCAGCCAA  CCTCTGAGCCTGAGACCGGAGGCATGCAGACCTGC  GGCAGGGGGAGCAGTTCACACAAGAGGCTTGGACT  TCGCTTGCGACATCTACATCTGGGCCCTCTGGCC  GGCACATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGCCTGGTGAT  CACCTGTACTGCAACCACAGAAAACAGATTACAGCG  TTGTGAAGAGAGGCGGGAAGAAGCTGCTGTACATC  TTC AAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCAC  ACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCG  AGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAG  TTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTACCAGCA  AGGACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGG  GCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGG  AGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGC AAAACCTAG  AAGAAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTATAACGAGC  TCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCC TACAGCGAG  ATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCCAAGGG  CCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTA  CAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCC  CTGCCCCCTAGATGATTAATTA A a t c g a t</p>	
276	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C C G C T A T G  T G T G G A G C T G G A T C C G G C A G C C T C C T G G C A A A G G C  C T T G A A T G G A T C G G A G A G A T A G A C A G C A G C G G C A A  G A C C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C A C G C G T T A  C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C  C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C  T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T A G A T A C G A C A G C T  C C G A C A G C T A T T A C T A C A G C T A T G A C T A C G G C A T G  G A T G T G T G G G G G C A G G G C A C C A C C G T T A C A G T T A G  C T C T G T A A G G C A C C A G C G G C T C C G G C A A G C C T G G A T  C T G G T G A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T G C T C  A C C C A G A G C C C C G A C A G C C T G G C T G T G T C T T T A G G  C G A A A G G G C T A C C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A  G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A G A A C T A C C T T  G C A T G G T A T C A A C A G A A G C C T G G C C A G C C T C C C A A  G C T G C T C A T C T A C T G G G C C T C T A G C A G A G A G A G C G  G G G T T C C C G A T C G C T T T A G C G G C A G C G G T T C T G G C  A C C G A T T C A C T C T T A C A A T C A G C A G C T T A C A G G C  C G A G G A T G T G G C T G T C T A C T A T T G T C A G C A G A G C T  A T A G C T T C C C C T G G A C A T T C G G C G G A G G C A C C A A G  G T T G A G A T C A A G G C A G C T G C T T T C G T G C C T G T G T T  C C T G C C T G C T A A G C C C A C C A C C A C T C C T G C T C C A A  G A C C T C C T A C C C C G C T C C T A C A A T C G C C A G C C A A  C C T C T G A G C C T G A G A C C G G A G G C A T G C A G A C C T G C  G G C A G G G G G A G C A G T T C A C A C A A G A G G C T T G G A C T  T C G C T T G C G A C A T C T A C A T C T G G G C C C C T C T G G C C  G G C A C A T G C G G A G T T C T T C T T C T T A G C C T G G T G A T</p>	10 20 30 40

	<p>CACCCCTGTACTGCAACCACAGAAACAGATTTCAGCG  TTGTGAAGAGAGGGCCGGAAGAAGCTGCTGTACATC  TTCAAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCAC  ACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCG  AGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAG  TTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTACCAGCA  AGGACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGG  GCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGG  AGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAAACCTAG  AAGAAAGAACCCTCAGAGGGCCTGTATAACGAGC  TCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAG  ATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGG  CCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTA  CAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCC  CTGCCCCCTAGATGATTAATTAA a t c g a t</p>	10
277	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C G G C T A C G  C T T G G A G C T G G A T T A G A C A G C C T C C T G G C A A A G G A  C T A G A A T G G A T C G G A G A G A T C G A C C A C A G A G G C T T  C A C C A A C T A C A A C C C A G C C T G A A A T C C A G A G T T A  C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C  C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C  T G T G T A C T A T T G C G C C A G G G T T A G A T A C G A C A G C A  G C G A C A G C T A T T A C T A C A G C T A T G A C T A C G G C A T G  G A T G T G T G G G G C A G G G C A C C A C C G T T A C G G T T A G  C T C T G G A T C T A C C A G C G G C A G C G G C A A G C C T G G C T  C A G G A G A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T G C T C  A C C C A G A G C C C C G A C A G C C T G G C C G T T T C T T T A G G  C G A A A G G G C T A C C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A  G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A G A A C T A C C T T  G C A T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C C A G C C T C C C A A  G C T G C T C A T C T A C T G G G C C T C T A G C A G A G A G A G C G  G G G T T C C C G A T A G A T T T T C G G G A T C A G G C T C C G G C  A C C G A T T T C A C T C T T A C G A T C A G C A G C T T A C A G G C  C G A G G A T G T G G C T G T C T A C T A T T G T C A G C A G A G C T  A T A G C T T C C C C T G G A C A T T C G G C G G A G G C A C C A A G  G T T G A G A T C A A G G C A G C T G C T T T C G T G C C T G T G T T  C C T G C C T G C T A A G C C C A C C A C C A C T C C T G C T C C A A  G A C C T C C T A C C C C G C T C C T A C A A T C G C C A G C C A A  C C T C T G A G C C T G A G A C C G G A G G C A T G C A G A C C T G C  G G C A G G G G G A G C A G T T C A C A C A A G A G G C T T G G A C T  T C G C T T G C G A C A T C T A C A T C T G G G C C C C T C T G G C C  G G C A C A T G C G G A G T T C T T C T T C T T A G C C T G G T G A T  C A C C C T G T A C T G C A A C C A C A G A A A C A G A T T C A G C G  T T G T G A A G A G A G G C C G G A A G A A G C T G C T G T A C A T C  T T C A A G C A G C C C T T C A T G A G A C C T G T G C A G A C C A C  A C A G G A G G A A G A C G G C T G C A G C T G T A G A T T C C C C G  A G G A A G A G G A G G G C G G C T G T G A G C T G A G A G T T A A G  T T C A G C A G G A G C G C C G A C G C C C T G C C T A C C A G C A  A G G A C A G A A T C A A C T G T A C A A C G A G C T G A A C C T G G</p>	20 30 40

	GCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGG AGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAACCTAG AAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTATAACGAGC TCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAG ATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGG CCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTA CAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCC CTGCCCCCTAGATGATTAATTAAtcga t
278	ggtaccCCCGGgCCCATGGCTCTTCCTGTGACAGC TCTTCTGCTGCCCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG CTAGACCTCAGGTTTCAGTTGCAGCAATGGGGAGCT GGCCTGTTAAAGCCCAGCGAAACCCTGTCCCTCAC CTGCGCTGTGTATGGCGGAAGCTTCAGCGGCTATT ACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCTCCTGGAAAAGGA TTAGAATGGATCGGCGAGATAGACCACAGCGGGAG CACAAACTACAACCCCAGCCTGAAATCGCGGGTTA CAATCTCTGTGGACACAAGCAAGAATCAGTTCTCC CTGAAGCTGAGCAGCGTTACTGCCGCCGACACAGC TGTGTACTATTGCGCCAGAGGGCGGAGGCTCCTGGT ACAGCAACTGGTTTCGATCCTTGGGGCCAAGGCACC ATGGTGACCGTTTCCAGCGGCTCTACAAGCGGCAG CGGGAAACCTGGTTCTGGAGAGGGCAGCACAAAGG GCGACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACCCCTT AGCGCCTCTGTGGGAGATAGGGTTACCATTACCTG CAGGGCTTCCAGAGCATCAGCAGCTGGCTGGCAT GGTATCAACAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTG TTCATCTATGACGCCCTCCAGCCTGGAAGCGGGGT TCCCTCCAGATTTAGCGGCTCAGGCTCCGGAACAG AGTTCACCCTTACCATCTCTAGCCTGCAACCCGAC GACTTCGCTACTTATTACTGTCAACAAGACAGAAG CTTGCCCCCACATTCGGCGGAGGGACCAAGGTTG AGATCAAGGCAGCTGCTTTCGTGCCTGTGTTCCCTG CCTGCTAAGCCCCACCACCACTCCTGCTCCAAGACC TCCTACCCCCGCTCCTACAATCGCCAGCCAACCTC TGAGCTGAGACCGGAGGCATGCAGACCTGCGGCA GGGGGAGCAGTTCACACAAAGAGGCTTGGACTTCGC TTGCGACATCTACATCTGGGCCCTCTGGCCGGCA CATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGCCTGGGTGATCAC CTGTACTGCAACCACAGAAACAGATTCAGCGTTGT GAAGAGAGGCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCA AGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACAG GAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCCGAGGA AGAGGAGGGCGGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTCA GCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTACCAGCAAGGA CAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAG ACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGAG GCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAACCTAGAAGA AAGAACCACCAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCCA GAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCG GCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGGCCAC GACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAAA GGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGC CCCCTAGATGATTAATTAAtcga t

10

20

30

40

50

279	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G C T T G T G C A G A G C G G A G C T  G A A G T T A A G A A G C C T G G C G C C T C T G T G A A G G T T A G  C T G C A A G G C C A G C G G C T A C A C A T T C A A G G A A T A T G  G C A T C T C C T G G G T T A G G C A G G C T C C C G G C C A A G G C  T T A G A A T G G A T G G G C T G G A T C T C C G C C T A C T C C G G  C C A C A C C T A C T A C G C C C A G A A G C T T C A G G G C A G G G  T T A C C A T G A C C A C C G A C A C C A G C A C C T C T A C C G C C  T A T A T G G A G C T G A G G A G C C T G A G A T C G G A C G A C A C  A G C T G T G T A T T A C T G C G C C A G A G G C C C C A C T A C G  A C G A C T G G T C T G G A T T T A T C A T C T G G T T C G A C C C C  T G G G G G C A G G G C A C C C T G G T C A C A G T T T C T T C T G G  C T C C A C C A G C G G A A G C G G C A A G C C A G G C T C A G G C G  A A G G A T C T A C A A A A G G C G A C A T C C A A A T G A C A C A G  A G C C C C A G C A G C T T G A G C G C C T C C G T T G G C G A C A G  A G T T A C A A T C A C C T G C A G G G C C T C T C A G A G C A T C A  G C A G C T A T T T G A A T T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G A  A A G G C C C C T A A G C T G C T C A T C T A C G C T G C C A G C T C  G C T C C A A T C T G G C G T T C C T A G C A G A T T T A G C G G C T  C C G G C A G C G G C A C A G A C T T T A C T C T T A C C A T T A G C  T C C C T G C A G C C C G A G G A C T T C G C T A C C T A C T A T T G  C C A G C A A A G C T A C A G A T T C C C T C C C A C C T T T G G C C  A G G G C A C A A A G G T T G A G A T C A A G G C A G C T G C T T T C  G T G C C T G T G T T C C T G C C T G C T A A G C C C A C C A C C A C  T C C T G C T C C A A G A C C T C C T A C C C C G C T C C T A C A A  T C G C C A G C C A A C C C T G A G C C T G A G A C C G G A G G C A  T G C A G A C C T G C G G C A G G G G A G C A G T T C A C A C A A G  A G G C T T G G A C T T C G C T T G C G A C A T C T A C A T C T G G G  C C C C T C T G G C C G G C A C A T G C G G A G T T C T T C T T C T T  A G C C T G G T G A T C A C C C T G T A C T G C A A C C A C A G A A A  C A G A T T C A G C G T T G T G A A G A G A G G C C G G A A G A A G C  T G C T G T A C A T C T T C A A G C A G C C C T T C A T G A G A C C T  G T G C A G A C C A C A C A G G A G G A A G A C G G C T G C A G C T G  T A G A T T C C C C G A G G A A G A G G A G G G C G G C T G T G A G C  T G A G A G T T A A G T T C A G C A G G A G C G C C G A C G C C C C T  G C C T A C C A G C A A G G A C A G A A T C A A C T G T A C A A C G A  G C T G A A C C T G G G C A G A C G G G A G G A A T A C G A T G T G C  T G G A C A A G A G G A G A G G C A G A G A C C C C G A G A T G G G C  G G C A A A C C T A G A A G A A A G A A C C C C A G G A G G G C C T  G T A T A A C G A G C T C C A G A A G G A C A A G A T G G C C G A G G  C C T A C A G C G A G A T C G G C A T G A A G G G C G A A A G A A G A  A G A G G C A A G G G C C A C G A C G G C C T C T A C C A G G G C T T  A A G C A C A G C T A C A A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T G C  A C A T G C A G G C C C T G C C C C T A G A T G A T T A A T T A A a  t c g a t</p>	10
280	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T G C A G C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C G G C A T C C  A C T G G A A C T G G A T C C G G C A G C C T C C T G G C G A A A G G C  C T T G A A T G G A T C G G C G A T A T C G A C A C C A G C G G C T C</p>	40

	<p>CACCAACTACAACCCAGCCTGAAATCGAGGGTTA  CAATCTCTGTGGACACAAGCAAGAATCAGTTCTCC  CTGAAGCTGAGCAGCGTTACTGCCGCCGACACAGC  TGTGTAATAATTGCGCCAGACTGGGCCAGGAAAGCG  CTACCTACCTTGGCATGGATGTGTGGGGGCAGGGC  ACCACCGTTACTGTTAGCTCTGGCTCAACAAGCGG  CAGCGGCAAGCCTGGCTCAGGAGAAGGAAGCACAA  AGGGCGACATTGTAATGACTCAGAGCCCCGACAGC  CTGGCCGTTAGCTTAGGCGAAAGGGCTACAATCAA  TTGCAAGAGCAGCCAGAGCGTTTCTGTACAGCAGCA  ACAACAAGAACTACCTCGCATGGTATCAACAGAAG  CCAGGCCAGCCTCCCAAGCTGCTCATCTACTGGGC  TTCCACCAGAGAGAGCGGGGTTCCCGATAGATTCT  CCGGCTCCGGTTCTGGAACAGATTTTCACGCTCACA  ATCAGCAGCTTACAGGCCGAGGATGTGGCTGTCTA  CTATTGTCAGCAGTTGTACACCTACCCCTTCACAT  TCGGCCGGAGGCACCAAGGTTGAGATCAAGGCAGCT  GCTTTCGTGCCTGTGTTCCTGCCTGCTAAGCCCAC  CACCACCTCCTGCTCCAAGACCTCCTACCCCGCTC  CTACAATCGCCAGCCAAACCTCTGAGCCTGAGACCG  GAGGCATGCAGACCTGCGGCAGGGGGAGCAGTTCA  CACAAGAGGCTTGGACTTCGCTTTCGACATCTACA  TCTGGGCCCCCTCTGGCCGGCACATGCGGAGTTCTT  CTTCTTAGCCTGGTGATCACCTGTACTGCAACCA  CAGAAACAGATTTCAGCGTTGTGAAGAGAGGCCGGA  AGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGCCCTTCATG  AGACCTGTGACAGACCACACAGGAGGAAGACGGCTG  CAGCTGTAGATTCCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCT  GTGAGCTGAGAGTTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGAC  GCCCCCTGCCTACCAGCAAGGACAGAATCAACTGTA  CAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGGGAGGAATACG  ATGTGCTGGACAAGAGGAGAGGCAGAGACCCCGAG  ATGGGCGGCAAACCTAGAAAGAAAGAACCCCGAGGA  GGGCCTGTATAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGG  CCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAA  AGAAGAAGAGGCAAGGGCCACGACGGCCTCTACCA  GGGCTTAAGCACAGCTACAAAGGACACCTACGACG  CCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCTAGATGATTA  ATTAA a t c g a t</p>	10
281	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G C T T C A G C T C C A A G A G A G C G G A C C T  G G C T T A G T G A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C A C C G T T T C T G G C G G A A G C A T C A G C A G C T C C A  G C T A T T A C T G G G G A T G G A T C A G G C A G C C C C C T G G C  A A G G G T T T A G A A T G G A T C G G C T C G A T A T A T T A C T C  C G G C A G C A C C T A C T A T A A C C C A G C T T G A A G A G C C  G G G T T A C C A T T T C T G T G G A C A C A T C A A A G A A C C A G  T T C A G C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C T G C C G C C G A  C A C A G C T G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A G A C A G A C T  A C T C C A G C G G C A T G G G C T A C G G C A T G G A T G T G T G G  G G A C A A G G A A C C A C C G T T A C T G T G A G C A G C G G T T C  C A C C A G C G G C T C A G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G</p>	30
		40

10

20

30

40

	<p>G A A G C A C C A A G G G G G A T A T A C A G A T G A C A C A G A G C  C C C T C C A G C C T G T C C G C C A G C G T T G G C G A T C G T G T  A A C G A T C A C C T G C C G G C C T C T C A G A G C A T C A A C T  C C T A C C T C A A T T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C A A G  G C C C C C A A A T T A C T C A T C T A C G C C G C C A G C A G C T T  A C A G A G C G G G G T T C C C T C T A G A T T C T C C G G C T C C G  G T T C T G G A A C A G A T T T C A C C C T C A C T A T C T C C A G C  T T G C A G C C C G A G G A T T T C G C C A C T T A T T A C T G T C A  G C A G A G C C T G G C C G A C C C C T T C A C A T T C G G C G G A G  G C A C A A A G G T T G A G A T C A A G G C T G C T G C A T T G G A T  A A T G A A A A A T C G A A C G G C A C A A T C A T T C A T G T G A A  G G G C A A A C A C C T G T G T C C C A G C C C C T T G T T C C C A G  G A C C T A G C A A G C C T T T T T G G G T T C T C G T G G T G G T G  G G C G G C G T T C T G G C T T G C T A C T C T C T A C T T G T A A C  T G T C G C A T T T A T T A T A T T C T G G G T T A G A T T C A G C G  T T G T G A A G A G A G G C C G G A A G A A G C T G C T G T A C A T C  T T C A A G C A G C C C T T C A T G A G A C C T G T G C A G A C C A C  A C A G G A G G A A G A C G G C T G C A G C T G T A G A T T C C C C G  A G G A A G A G G A G G G C G G C T G T G A G C T G A G A G T T A A G  T T C A G C A G G A G C G C C G A C G C C C C T G C C T A C C A G C A  A G G A C A G A A T C A A C T G T A C A A C G A G C T G A A C C T G G  G C A G A C G G G A G G A A T A C G A T G T G C T G G A C A A G A G G  A G A G G C A G A G A C C C C G A G A T G G G C G G C A A A C C T A G  A A G A A A G A A C C C C C A G G A G G G C C T G T A T A A C G A G C  T C C A G A A G G A C A A G A T G G C C G A G G C C T A C A G C G A G  A T C G G C A T G A A G G G C G A A A G A A G A A G A G G C A A G G G  C C A C G A C G G C C T C T A C C A G G G C T T A A G C A C A G C T A  C A A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T G C A C A T G C A G G C C  C T G C C C C C T A G A T G A T T A A T T A A a t c g a t</p>	10
282	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A G A G A G C G G A C C T  G G C T T A G T G A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C A C C G T T T C T G G C G G A A G C A T C A G C T C T C C C G  A C C A T T A C T G G G G A T G G A T C A G G C A G C C C C C T G G C  A A G G G T T T G G A A T G G A T C G G C A G C A T C T A C G C C A G  C G G C A G C A C A T T C T A C A A C C C C T C G C T C A A A A G C A  G G G T T A C T A T T T C T G T G G A C A C A A G C A A A A A T C A G  T T C A G C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C T G C C G C C G A  C A C A G C T G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A G A C A G A C T  A C T C C A G C G G G A T G G G C T A C G G C A T G G A T G T G T G G  G G A C A A G G A A C C A C C G T T A C T G T G A G C A G C G G C T C  C A C A A G C G G C T C A G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G  G A A G C A C C A A G G G G G A C A T T C A A A T G A C C C A A A G C  C C C T C C A G C C T G T C C G C C A G C G T T G G C G A T A G G G T  T A C C A T T A C C T G C A G G G C C A G C C A A A G C A T C A A C T  C C T A C C T A A A T T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C A A G  G C C C C C A A A C T A C T C A T T T A C G C C G C C A G C A G C T T  A C A G A G C G G G G T T C C C T C T A G A T T C T C C G G C A G C G  G T T C T G G A A C A G A T T T C A C T C T C A C A A T A T C T T C G  C T G C A G C C C G A G G A T T T C G C T A C C T A C T A T T G C C A  G C A A T C C C T G G C C G A C C C C T T C A C A T T C G G C G G A G  G C A C A A A G G T T G A G A T C A A G G C T G C T G C A T T G G A T</p>	30
		40

	<p>AATGAAAAATCGAACGGCACCAATTCATTCATGTGAA  GGGCAAACACCTGTGTCCCAGCCCCTTGTTCAG  GACCTAGCAAGCCTTTTTGGGTTCTCGTGGTGGTG  GGCGGCGTTCTGGCTTGCTACTCTCTACTTGTAA  TGTCGCATTTATTATATTCTGGGTTAGATTTCAGCG  TTGTGAAGAGAGGCGCGGAAGAAGCTGCTGTACATC  TTCAAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCAC  ACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCCG  AGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAG  TTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCCTGCCTACCAGCA  AGGACAGAAATCAACTGTACAAACGAGCTGAACCTGG  GCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGG  AGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAAACCTAG  AAGAAAGAACCCTCAGGAGGGCCTGTATAACGAGC  TCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAG  ATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGG  CCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTA  CAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCC  CTGCCCCCTAGATGATTAATTAAtcgaat</p>	10
283	<p>ggtaaccCCGGgCCCATGGCTCTTCCCTGTGACAGC  TCTTCTGCTGCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG  CTAGACCTCAGATCACATTAAGAGAGCGGACCT  ACACTGGTGAAGCCCACCCAAACGCTTACCCTCAC  CTGCACCTTTAGCGGGTTTCAGCCTGGACACAGAGG  GCGTTGGCGTTGGATGGATCAGGCAGCCTCCTGGC  AAAGCCCTCGAATGGCTTGCCCTCATCTACTTCAA  CGACCAGAAGAGATAACAGCCCCTCCTTAAAATCTC  GGCTCACAATCACCAAAGACACAAGCAAATAATCAG  GTTGTGCTCACCATGACCAACATGGACCCTGTGGA  CACCGCTGTGTACTACTGTGCCAGAGACACCGGCT  ACAGCAGATGGTACTACGGGATGGACGTTTGGGGC  CAAGGCACCACTGTGACCGTTTCCAGCGGCTCTAC  AAGCGGCAGCGGGAAACCTGGTTCTGGAGAGGGCA  GCACAAAGGGCGACATCCAGATGACGCAATCCCCC  AGCTCTGTGAGCGGCCTCTGTGGGAGACAGAGTTAC  AATCACATGCGGGCCTCCAGGGCATCAGCTCTT  GGCTGGCATGGTATCAACAGAAGCCTGGCAAGGCT  CCCAAGCTGCTCATCTATGCCGCCTCCTCCTTACA  ATCTGGAGTTCCCTCCAGGTTTCAGCGGGAGCGGCT  CAGGAACAGACTTCACCCTTACCATCTCTAGCCTG  CAACCCGAGGACTTCGCTACTTATTACTGTCAGCA  GGCCTACGCCATCCCCATCACATTCGGCGGAGGAA  CAAAGGTTGAGATCAAGGCTGCTGCATTGGATAAT  GAAAAGATCGAACGGCACAAATCATTCATGTGAAGGG  CAAACACCTGTGTCCAGCCCCCTTGTTCAGGAC  CTAGCAAGCCTTTTTGGGTTCTCGTGGTGGTGGGC  GGCGTTCTGGCTTGCTACTCTCTACTTGTAACTGT  CGCATTTATTATATTCTGGGTTAGATTTCAGCGTTG  TGAAGAGAGGCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTC  AAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACA  GGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCCGAGG  AAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTC  AGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTACCAGCAAGG</p>	20 30 40

10

20

30

40

	<p>ACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCA  GACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGA  GGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAACCTAGAAG  AAAGAACCCTCAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCC  AGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATC  GGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGGCCA  CGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAA  AGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTG  CCCCCTAGATGATTAAATTAAtc g a t</p>
284	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C C A G A A A T A C T  A C T G G A G C T G G A T C C G G C A G C C T C C C G G C A A A G G C  T T A G A A T G G A T C G G A G A G A T A G A C A C C A G C G G C T T  C A C C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C T A G G G T T A  C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C  C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C  T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T G G C A G A T A C A G C T  A C G G C T A C T A C A T C A C C G C C T T C G A C A T T T G G G G C  C A A G G C A C C A C T G T G A C C G T T T C C A G C G G A A G C A C  T A G C G G C A G C G G G A A A C C T G G T T C T G G A G A G G G C T  C A A C C A A G G G C G A C A T C G T G A T G A C A C A G A G C C C C  G A C T C T C T G G C T G T G T C C C T G G G A G A G A G A G C C A C  C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A G C G T T C T G T A C A  G C A G C A A C A A A A G A A C T A C C T G G C A T G G T A T C A A  C A G A A G C C T G G C C A G C C C C C T A A G C T G C T C A T C T A  C T G G G C T T C C A C C A G A G A A T C A G G C G T T C C A G A C A  G G T T C T C C G G C T C G G G T T C A G G C A C A G A C T T C A C C  C T T A C C A T C T C T T C C C T G C A G G C C G A A G A T G T G G C  C G T T T A C T A C T G T C A G C A G C A C T A C A G C T T C C C T T  T C A C A T T C G G C G G A G G C A C C A A G G T T G A G A T C A A G  G C T G C T G C A T T G G A T A A T G A A A A A T C G A A C G G C A C  A A T C A T T C A T G T G A A G G G C A A A C A C C T G T G T C C C A  G C C C C T T G T T C C C A G G A C C T A G C A A G C C T T T T T G G  G T T C T C G T G G T G G T G G G C G G C G T T C T G G C T T G C T A  C T C T C T A C T T G T A A C T G T C G C A T T T A T T A T A T T C T  G G G T T A G A T T C A G C G T T G T G A A G A G A G G C C G G A A G  A A G C T G C T G T A C A T C T T C A A G C A G C C C T T C A T G A G  A C C T G T G C A G A C C A C A C A G G A G G A A G A C G G C T G C A  G C T G T A G A T T C C C C G A G G A A G A G G A G G G C G G C T G T  G A G C T G A G A G T T A A G T T C A G C A G G A G C G C C G A C G C  C C C T G C C T A C C A G C A A G G A C A G A A T C A A C T G T A C A  A C G A G C T G A A C C T G G G C A G A C G G G A G G A A T A C G A T  G T G C T G G A C A A G A G G A G A G G C A G A G A C C C C G A G A T  G G G C G G C A A A C C T A G A A G A A A G A A C C C C A G G A G G  G C C T G T A T A A C G A G C T C C A G A A G G A C A A G A T G G C C  G A G G C C T A C A G C G A G A T C G G C A T G A A G G G C G A A A G  A A G A A G A G G C A A G G G C C A C G A C G G C C T C T A C C A G G  G C T T A A G C A C A G C T A C A A A G G A C A C C T A C G A C G C C  C T G C A C A T G C A G G C C C T G C C C C T A G A T G A T T A A T  T A A a t c g a t</p>

10

20

30

40





	<p>CTGAAGCTGAGCAGCGTTACTGCGCCGACACAGC  TGTGTA CTATTGCGCCAGAGTTAGATACGACAGCT  CCGACAGCTATTACTACAGCTATGACTACGGCATG  GATGTGTGGGGGCAGGGCACCCCGTTACAGTTAG  CTCTGGAAGCACAGCGGCTCCGGCAAGCCTGGAT  CTGGTGAAGGAAGCACAAAGGGCGACATTGTGCTC  ACCCAGAGCCCCGACAGCCTGGCTGTGTCTTTAGG  CGAAAGGGCTACCATCAACTGCAAGAGCAGCCAGA  GCGTTCTGTACAGCAGCAACAACAAGAACTACCTT  GCATGGTATCAACAGAAAGCCTGGCCAGCCTCCCA  GCTGCTCATCTACTGGGCCTCTAGCAGAGAGCG  GGGTTCCCGATCGCTTTAGCGGCAGCGGTTCTGGC  ACCGATTTCACTCTTACAATCAGCAGCTTACAGGC  CGAGGATGTGGCTGTCTACTATTGTCAGCAGAGCT  ATAGCTTCCCCTGGACATTCGGCGGAGGCCACCAAG  GTTGAGATCAAGGCTGCTGCATTGGATAATGAAAA  ATCGAACGGCACAAATCATTTGATGTGAAGGGCAAAC  ACCTGTGTCCCAGCCCCCTTGTTCACAGGACCTAGC  AAGCCTTTTTTGGGTTCTCGTGGTGGTGGGCGGCGT  TCTGGCTTGCTACTCTCTACTTTGTAAGTGTGCGCAT  TTATTATATTCTGGGTTAGATTCAGCGTTGTGAAG  AGAGGCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCA  GCCCTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACAGGAGG  AAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCCGAGGAAGAG  GAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTCAGCAG  GAGCGCCGACGCCCTGCTACCAGCAAGGACAGA  ATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGG  GAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGAGGCAG  AGACCCCGAGATGGGCGGCAAACCTAGAAGAAAGA  ACCCCCAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCCAGAAG  GACAAGATGGCCGAGGCCCTACAGCGAGATCGGCAT  GAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCCAAGGGCCACGACG  GCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAAAGGAC  ACCTACGACGCCCTGACATGCAGGCCCTGCCCC  TAGATGATTAATTAATTAATCGAT</p>	
287	<p>g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C  T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G  C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A C A A T G G G G A G C T  G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C  C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C G G C T A C G  C T T G G A G C T G G A T T A G A C A G C C T C C T G G C A A A G G A  C T A G A A T G G A T C G G A G A G A T C G A C C A C A G A G G C T T  C A C C A A C T A C A A C C C A G C C T G A A A T C C A G A G T T A  C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C  C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C  T G T G T A C T A T T G C G C C A G G G T T A G A T A C G A C A G C A  G C G A C A G C T A T T A C T A C A G C T A T G A C T A C G G C A T G  G A T G T G T G G G G G C A G G G C A C C A C C G T T A C G G T T A G  C T C T G G A T C T A C C A G C G G C A G C G G C A A G C C T G G C T  C A G G A G A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T G C T C  A C C C A G A G C C C C G A C A G C C T G G C C G T T T C T T T A G G  C G A A A G G G C T A C C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A  G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A G A A C T A C C T T</p>	

10

20

30

40

50

	<p>GCATGGGTATCAACAGAAGCCAGGCCAGCCTCCCAA  GCTGCTCATCTACTGGGCCTCTAGCAGAGAGAGCG  GGGTTCCCGATAGATTTTCGGGATCAGGCTCCGGC  ACCGATTTCACTCTTACGATCAGCAGCTTACAGGC  CGAGGATGTGGCTGTCTACTATTGTCAGCAGAGCT  ATAGCTTCCCCTGGACATTCGGCGGAGGCACCAAG  GTTGAGATCAAGGCTGCTGCATTGGATAATGAAAA  ATCGAACGGCACAATCATTCATGTGAAGGGCAAAC  ACCTGTGTCCAGCCCTTGTTCAGGACCTTAGC  AAGCCTTTTGGGTTCTCGTGGTGGTGGCGGGCGT  TCTGGCTTGCTACTCTCTACTTGTAAGTGTGCGCAT  TTATTATATTCTGGGTTAGATTTCAGCGTTGTGAAG  AGAGGCCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCA  GCCCTTTCATGAGACCTGTGCAGACCACACAGGAGG  AAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCCCCGAGGAAGAG  GAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTTCAGCAG  GAGCGCCGACGCCCTGCCTACCAGCAAGGACAGA  ATCAACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGG  GAGGAATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGAGGCAG  AGACCCCGAGATGGGCGGCAAACCTAGAAGAAAGA  ACCCCCAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCCAGAAG  GACAAGATGGCCGAGGCCTACAGCGAGATCGGCAT  GAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGGCCACGACG  GCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAAAGGAC  ACCTACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCC  TAGATGATTAATTAAatcgat</p>	
288	<p>ggtaccCCCGGgCCCATGGCTCTTCCCTGTGACAGC  TCTTCTGCTGCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG  CTAGACCTCAGGTTTCAGTTGCAGCAATGGGGAGCT  GGCCTGTAAAGCCCAGCGAAACCCTGTCCCTCAC  CTGCGCTGTGTATGGCGGAAGCTTCAGCGGCTATT  ACTGGAGCTGGATCCGGCAGCCTCCTGGAAAAGGA  TTAGAATGGATCGGCGAGATAGACCACAGCGGGAG  CACAAACTACAACCCAGCCTGAAATCGCGGGTTA  CAATCTCTGTGGACACAAGCAAGAAATCAGTTCTCC  CTGAAGCTGAGCAGCGTTACTGCCGCCGACACAGC  TGTGTACTATTGCGCCAGAGGCGGAGGCTCCTGGT  ACAGCAACTGGTTCGATCCTTGGGGCCAAGGCACC  ATGGTGACCGTTTTCCAGCGGCTCTACAAGCGGCAG  CGGGAAACCTGGTTCCTGGAGAGGGCAGCACAAAGG  GCGACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACCCCTT  AGCGCCTCTGTGGGAGATAGGGTTACCATTACCTG  CAGGGCTTCCCAGAGCATCAGCAGCTGGCTGGCAT  GGTATCAACAGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTG  CTCATCTATGACGCCCTCCAGCCTGGAAAGCGGGGT  TCCCTCCAGATTTAGCGGCTCAGGCTCCGGAACAG  AGTTCACCCCTTACCATCTCTAGCCTGCAACCCGAC  GACTTCGCTACTTATTACTGTCAACAAGACAGAAG  CTTGCCCCCACATTCGGCGGAGGGACCAGGTTG  AGATCAAGGCTGCTGCATTGGATAATGAAAAATCG  AACGGCACAATCATTCATGTGAAGGGCAAACACCT  GTGTCCCAGCCCTTGTTCAGGACCTAGCAAGC  CTTTTTGGGTTCTCGTGGTGGTGGGCGGCGTTCTG</p>	

10

20

30

40

50

	<p>GCTTGCTACTCTCTACTTTGTAACCTGTCGCATTTAT  TATAATTCTGGGTTAGATTTCAGCGTTGTGAAGAGAG  GCCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTCAAGCAGCCC  TTCATGAGACCTGTGTCAGACCACACAGGAGGAAGA  CGGCTGTCAGCTGTAGATTCCCCGAGGAAGAGGAGG  GCGGCTGTGAGCTGAGAGTTAAGTTTCAGCAGGAGC  GCCGACGCCCTGCCTACCAGCAAGGACAGAATCA  ACTGTACAACGAGCTGAACCTGGGCAGACGGGAGG  AATACGATGTGCTGGACAAGAGGAGAGGCAGAGAC  CCCCAGATGGGCGGCAAACCTAGAAGAAAGAACC  CCAGGAGGGCCTGTATAACGAGCTCCAGAAGGACA  AGATGGCCGAGGCCCTACAGCGAGATCGGCATGAAG  GGCGAAAGAAGAAGAGGCAAGGGCCACGACGGCCT  CTACCAGGGCTTAAGCACAGCTACAAAGGACACCT  ACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCTAGA  TGATTAATTAATAatcgat</p>	
289	<p>ggtaaccCCCGGgCCCATGGCTCTTCCTGTGACAGC  TCTTCTGCTGCCCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG  CTAGACCTCAGGTTTCAGCTTGTGTCAGAGCGGAGCT  GAAGTTAAGAAGCCTGGCGCCTCTGTGAAGGTTAG  CTGCAAGGCCAGCGGCTACACATTC AAGGAATATG  GCATCTCCTGGGTTAGGCAGGCTCCCGGCCAAGGC  TTAGAATGGATGGGCTGGATCTCCGCCCTACTCCGG  CCACACCTACTACGCCCAGAAGCTTCAGGGCAGGG  TTACCATGACCACCGACACCAGCACCTCTACCGCC  TATATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCGGACGACAC  AGCTGTGTATTACTGCGCCAGAGGCCCCACTACG  ACGACTGGTCTGGATTTATCATCTGGTTTCGACCCC  TGGGGGCAGGGCACCCCTGGTCAACAGTTTCTTCTGG  CTCCACCAGCGGAAGCGGCAAGCCAGGCTCAGGCG  AAGGATCTACAAAAGGCGACATCCAAATGACACAG  AGCCCCAGCAGCTTGAGCGCCTCCGTTGGCGACAG  AGTTACAATCACCTGCAGGGCCTCTCAGAGCATCA  GCAGCTATTTGAATTGGTATCAACAGAAGCCAGGA  AAGGCCCTAAGCTGCTCATCTACGCTGCCAGCTC  GCTCCAATCTGGCGTTCCCTAGCAGATTTAGCGGCT  CCGGCAGCGGCACAGACTTTACTCTTACCATTAGC  TCCCTGTCAGCCCGAGGACTTCGCTACCTACTATTG  CCAGCAAAGCTACAGATTCCTCCACCTTTGGCC  AGGGCACAAAGGTTGAGATCAAGGCTGCTGCATTG  GATAATGAAAAATCGAACGGCACAAATCATTCATGT  GAAGGGCAAACACCTGTGTCCAGCCCTTGTTC  CAGGACCTAGCAAAGCCTTTTGGGTTCTCGTGGTG  GTGGGCGGCGTTCTGGCTTGCTACTCTCTACTTGT  AACTGTGCGCATTTATTTATTTCTGGGTTAGATTCA  GCGTTGTGAAGAGAGGCCGGAAGAAGCTGCTGTAC  ATCTTCAAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAGAC  CACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATTCC  CCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTT  AAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTACCA  GCAAGGACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAACC  TGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACAAG  AGGAGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAACC</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>

10

20

30

40

	TAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTATAACG AGCTCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACAGC GAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGC GGGCCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCACAG CTACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGCAG GCCCTGCCCCCTAGATGATTAATTAa t c g a t
290	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T G C A G C A A T G G G G A G C T G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C T G C C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C A G C G G C A T C C A C T G G A A C T G G A T C C G G C A G C C T C C T G G C A A A G G C C T T G A A T G G A T C G G C G A T A T C G A C A C C A G C G G C T C C A C C A A C T A C A A C C C C A G C C T G A A A T C G A G G G T T A C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A T T G C G C C A G A C T G G G C C A G G A A A G C G C T A C C T A C C T T G G C A T G G A T G T G T G G G G G C A G G G C A C C A C C G T T A C T G T T A G C T C T G G C T C A A C A A G C G G C A G C G G C A A G C C T G G C T C A G G A G A A G G A A G C A C A A A G G G C G A C A T T G T A A T G A C T C A G A G C C C G A C A G C C T G G C C G T T A G C T T A G G C G A A A G G G C T A C A A T C A A T T G C A A G A G C A G C C A G A G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A C A A G A A C T A C C T C G C A T G G T A T C A A C A G A A G C C A G G C C A G C C T C C C A A G C T G C T C A T C T A C T G G G C T T C C A C C A G A G A G A G C G G G G T T C C C G A T A G A T T C T C C G G C T C C G G T T C T G G A A C A G A T T T C A C G C T C A C A A T C A G C A C G C T T A C A G C C G A G G A T G T G G C T G T C T A C T A T T G T C A G C A G T T G T A C A C C T A C C C C T T C A C A T T C G G C G G A G G C A C C A A G G T T G A G A T C A A G G C T G C T G C A T T G G A T A A T G A A A A T C G A A C G G C A C A A T C A T T C A T G T G A A G G G C A A A C A C C T G T G T C C C A G C C C C T T G T T C C C A G G A C C T A G C A A G C C T T T T T G G G T T C T C G T G G T G G T G G G C G G C G T T C T G G C T T G C T A C T C T C T A C T T G T A A C T G T C G C A T T T A T T A T A T T C T G G G T T A G A T T C A G C G T T G T G A A G A G A G G C C G G A A G A A G C T G C T G T A C A T C T T C A A G C A G C C C T T C A T G A G A C C T G T G C A G A C C A C A C A G G A G G A A G A C G G C T G C A G C T G T A G A T T C C C C G A G G A A G A G G A G G G C G G C T G T G A G C T G A G A G T T A A G T T C A G C A G G A G C G C C G A C G C C C C T G C C T A C C A G C A A G G A C A G A A T C A A C T G T A C A A C G A G C T G A A C C T G G G C A G A C G G G A G G A A T A C G A T G T G C T G G A C A A G A G G A G A G G C A G A G A C C C C G A G A T G G G C G G C A A A C C T A G A A A G A A A G A A C C C C A G G A G G G C C T G T A T A A C G A G C T C C A G A A G G A C A A G A T G G C C G A G G C C T A C A G C G A G A T C G G C A T G A A G G G C G A A A G A A G A A G A G G C A A G G G C C A C G A C G G C C T C T A C C A G G G C T T A A G C A C A G C T A C A A A G G A C A C C T A C G A C G C C C T G C A C A T G C A G G C C C T G C C C C C T A G A T G A T T A A T T A A a t c g a t
271	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G C T T C A G C T C C A A G A G A G C G G A C C T

10

20

30

40

50

	GGCTTAGTGAAGCCCAGCGAAACCCTGTCCCTCAC CTGCACCGTTTCTGGCGGAAGCATCAGCAGCTCCA GCTATTACTGGGGATGGATCAGGCAGCCCCCTGGC AAGGGTTTAGAATGGATCGGCTCGATATATTAATC CGGCAGCACCTACTATAACCCAGCTTGAAGAGCC GGGTTACCATTCTGTGGACACATCAAAGAACCAG TTCAGCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCCGA CACAGCTGTGTACTACTGTGCCAGAGAGACAGACT ACTCCAGCGGCATGGGCTACGGCATGGATGTGTGG GGACAAGGAACCACCGTTACTGTGAGCAGCGGTTC CACCAGCGGCTCAGGCAAGCCTGGCTCAGGAGAAG GAAGCACCAAGGGGGATATACAGATGACACAGAGC CCCTCCAGCCTGTCCGCCAGCGTTGGCGATCGTGT AACGATCACCTGCCGGGCCTCTCAGAGCATCAACT CCTACCTCAATTGGTATCAACAGAAGCCAGGCAAG GCCCCCAAATTAATCATCTACGCCGCCAGCAGCTT ACAGAGCGGGGTTCCCTCTAGATTCTCCGGCTCCG GTTCTGGAACAGATTTACCCCTCACTATCTCCAGC TTGCAGCCCCGAGGATTTCCGCCACTTATTAATGTC GCAGAGCCTGGCCGACCCCTTCACATTCGGCGGAG GCACAAAAGGTTGAGATCAAAGGCAGCTGCTTTCGTG CCTGTGTTCCCTGCCTGCTAAGCCCACCACCTCC TGCTCCAAGACCTCCTACCCCGCTCCTACAATCG CCAGCCAACCTCTGAGCCTGAGACCGGAGGCATGC AGACCTGCGGCAGGGGGAGCAGTTCACACAAGAGG CTTGGACTTCGCTTTCGACATCTACATCTGGGCC CTCTGGCCGACACATGCGGAGTTCTTCTTTAGC CTGGTGATCACCCCTGTACTGCAACCACAGAAACAG ATTCAGCGTTGTGAAGAGAGGCCGGAAGAAGCTGC TGTACATCTTCAAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTG CAGACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAG ATTCCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGA GAGTTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCC TACCAGCAAGGACAGAAATCAACTGTACAACGAGCT GAACCTGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGG ACAAGAGGAGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGC AAACCTAGAAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTA TAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCT ACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGA GGCAAGGGCCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAG CACAGCTACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACA TGCAGGCCCTGCCCCCTAGATGATTAATTAAtc g a t	
272	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A G A G A G C G G A C C T G G C T T A G T G A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C A C C G T T T C T G G C G G A A G C A T C A G C T C T C C C G A C C A T T A C T G G G G A T G G A T C A G G C A G C C C C C T G G C A A G G G T T T G G A A T G G A T C G G C A G C A T C T A C G C C A G C G G C A G C A C A T T C T A C A A C C C C T C G C T C A A A A G C A G G G T T A C T A T T T C T G T G G A C A C A A G C A A A A A T C A G T T C A G C C T G A A G C T G A G C T C T G T G A C T G C C G C C G A	

10

20

30

40

50

	<p>CACAGCTGTGTA  ACTCCAGCGGGATGGGCTACGGCATGGATGTGTGG  GGACAAGGAACCACCGTTACTGTGAGCAGCGGCTC  CACAAGCGGCTCAGGCAAGCCTGGCTCAGGAGAAG  GAAGCACCAAGGGGGACATTCAAATGACCCAAAGC  CCCTCCAGCCTGTCCGCCAGCGTTGGCGATAGGGT  TACCATTACCTGCAGGGCCAGCCAAAGCATCAACT  CCTACCTAAATTGGTATCAACAGAAGCCAGGCAAG  GCCCCCAAACACTACTCATTTACGCCGCCAGCAGCTT  ACAGAGCGGGGTTCCTCTAGATTCTCCGGCAGCG  GTTCTGGAACAGATTTCTACTCTCACAAATATCTTCG  CTGCAGCCCGAGGATTTTCGCTACCTACTATTGCCA  GCAATCCCTGGCCGACCCCTTCAACATTCGGCGGAG  GCACAAAGGTTGAGATCAAGGCAGCTGCTTTTCGTG  CCTGTGTTCTCTGCCTGCTAAGCCCACCACCACTCC  TGCTCCAAGACCTCCTACCCCCGCTCCTACAATCG  CCAGCCAACCTCTGAGCCTGAGACC GGAGGCATGC  AGACCTGCGGCAGGGGGAGCAGTTTACACAAGAGG  CTTGGACTTTCGCTTGGACATCTACATCTGGGCC  CTCTGGCCGGCACATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGC  CTGGTGATCACCTGTACTGCAACCACAGAAACAG  ATTCAGCGTTGTGAAGAGAGGCCGGAAGAAGCTGC  TGTACATCTTCAAGCAGCCCTTTCATGAGACCTGTG  CAGACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAG  ATTCCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGA  GAGTTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCC  TACCAGCAAGGACAGAAATCAACTGTACAACGAGCT  GAACCTGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGG  ACAAGAGGAGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGC  AAACCTAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTA  TAACGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCT  ACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGA  GGCAAGGGCCACGACGGCCTTACCAGGGCTTAAG  CACAGCTACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACA  TGCAGGCCCTGCCCCCTAGATGATTAATTAAtcg  at</p>	10
273	<p>ggta c c c c g g g c c c a t g g c t c t t c c t g t g a c a g c  TCTTCTGCTGCCCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG  CTAGACCTCAGATCACATTTAAAAGAGAGCGGACCT  ACACTGGTGAAGCCCACCCAAACGCTTACCCTCAC  CTGCACCTTTAGCGGGTTTCAGCCTGGACACAGAGG  GCGTTGGCGTTGGATGGATCAGGCAGCCTCCTGGC  AAAGCCCTCGAATGGCTTGGCCCTCATCTACTTCAA  CGACCAGAAGAGATACAGCCCCCTCCTTAAAATCTC  GGCTCACAAATCACCAAAGACACAAGCAAAAATCAG  GTTGTGCTCACCATGACCAACATGGACCCTGTGGA  CACCGCTGTGTA  ACTACTGTGCCAGAGACACCGGCT  ACAGCAGATGGTACTACGGGATGGACGTTTGGGGC  CAAGGCACCACTGTGACCGTTTCCAGCGGCTCTAC  AAGCGGCAGCGGGAAACCTGGTTCTGGAGAGGGCA  GCACAAAGGGCGACATCCAGATGACGCAATCCCC  AGCTCTGTGAGCGCCTCTGTGGGAGACAGAGTTAC  AATCACATGCCGGGCCTCCAGGGCATCAGCTCTT</p>	30
		40

10

20

30

40

50

	GGCTGGCATGGTATCAACAGAAGCCTGGCAAGGCT CCCAAGCTGCTCATCTATGCGCCTCCTCCTTACA ATCTGGAGTTCCCTCCAGGTTTCAGCGGGAGCGGCT CAGGAACAGACTTCAACCCTTACCATCTCTAGCCTG CAACCCGAGGACTTTCGCTACTTATTACTGTCAGCA GGCCTACGCCTACCCCATCACATTCGGCGGAGGAA CAAAGGTTGAGATCAAGGCAGCTGCTTTCGTGCCT GTGTTCCCTGCCTGCTAAGCCCACCACCACTCCTGC TCCAAGACCTCCTACCCCCGCTCCTACAATCGCCA GCCAACCTCTGAGCCTGAGACCGGAGGCATGCAGA CCTGACGGCAGGGGGAGCAGTTCACACAAGAGGCTT GGACTTCGCTTGCGACATCTACATCTGGGCCCTC TGGCCGGCACATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGCCTG GTGATCACCCCTGTACTGCAACCACAGAAACAGATT CAGCGTTGTGAAGAGAGGCCGGAAGAAGCTGCTGT ACATCTTCAAGCAGCCCTTCATGAGACCTGTGCAG ACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGATT CCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAG TTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCCTAC CAGCAAGGACAGAATCAACTGTACAACGAGCTGAA CCTGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCTGGACA AGAGGAGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGCGGCAAA CCTAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTATAA CGAGCTCCAGAAGGACAAGATGGCCGAGGCCTACA GCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGAAGAAGAGGC AAGGGCCACGACGGCCTCTACCAGGGCTTAAGCAC AGCTACAAAGGACACCTACGACGCCCTGCACATGC AGGCCCTGCCCCCTAGATGATTAAATTAA a t c g a t	
274	g g t a c c C C C G G g C C C A T G G C T C T T C C T G T G A C A G C T C T T C T G C T G C C C C T G G C C C T G C T T C T G C A T G C T G C T A G A C C T C A G G T T C A G T T A C A A C A A T G G G G A G C T G G C C T G T T A A A G C C C A G C G A A A C C C T G T C C C T C A C C T G C G C T G T G T A T G G C G G A A G C T T C C A G A A A T A C T A C T G G A G C T G G A T C C G G C A G C C T C C C G G C A A A G G C T T A G A A T G G A T C G G A G A G A T A G A C A C C A G C G G C T T C A C C A A C T A C A A C C C A G C C T G A A A T C T A G G G T T A C A A T C T C T G T G G A C A C A A G C A A G A A T C A G T T C T C C C T G A A G C T G A G C A G C G T T A C T G C C G C C G A C A C A G C T G T G T A C T A T T G C G C C A G A G T T G G C A G A T A C A G C T A C G G C T A C T A C A T C A C C G C C T T C G A C A T T T G G G G C C A A G G C A C C A C T G T G A C C G T T T C C A G C G G A A G C A C T A G C G G C A G C G G G A A A C C T G G T T C T G G A G A G G G C T C A A C C A A G G G C G A C A T C G T G A T G A C A C A G A G C C C C G A C T C T C T G G C T G T G T C C C T G G G A G A G A G A G C C A C C A T C A A C T G C A A G A G C A G C C A G A G C G T T C T G T A C A G C A G C A A C A A A G A A C T A C C T G G C A T G G T A T C A A C A G A A G C C T G G C C A G C C C C C T A A G C T G C T C A T C T A C T G G G C T T C C A C C A G A G A A T C A G G C G T T C C A G A C A G G T T C T C C G G C T C G G G T T C A G G C A C A G A C T T C A C C C T T A C C A T C T C T T C C C T G C A G G C C G A A G A T G T G G C C G T T T A C T A C T G T C A G C A G C A C T A C A G C T T C C C T T T C A C A T T C G G C G G A G G C A C C A A G G T T G A G A T C A A G G C A G C T G C T T T C G T G C C T G T G T T C C T G C C T G C T A A	

10

20

30

40

50



G	C	C	C	A	C	C	A	C	C	A	C	T	C	C	T	G	C	T	C	C	A	A	G	A	C	C	T	C	C	T	A	C	C	C	
C	C	G	C	T	C	C	T	A	C	A	A	T	C	G	C	C	A	G	C	C	A	A	C	C	T	C	T	G	A	G	C	C	T	G	
A	G	A	C	C	G	G	A	G	G	C	A	T	G	C	A	G	A	C	C	T	G	C	G	G	C	A	G	G	G	G	G	A	G	C	
A	G	T	T	C	A	C	A	C	A	A	G	A	G	G	C	T	T	G	G	A	C	T	T	C	G	C	T	T	G	C	G	A	C	A	
T	C	T	A	C	A	T	C	T	G	G	G	C	C	C	T	C	T	G	G	C	C	G	G	C	A	C	A	T	G	C	G	G	A		
G	T	T	C	T	T	C	T	T	A	G	C	C	T	G	G	T	G	A	T	C	A	C	C	C	T	G	T	A	C	T	G				
C	A	A	C	C	A	C	A	G	A	A	A	C	A	G	A	T	T	C	A	G	C	G	T	T	G	T	G	A	A	G	A	G	A	G	
G	C	C	G	G	A	A	G	A	A	G	C	T	G	C	T	G	T	A	C	A	T	C	T	T	C	A	A	G	C	A	G	C	C	C	
T	T	C	A	T	G	A	G	A	C	C	T	G	T	G	C	A	G	A	C	C	A	C	A	C	A	G	G	A	G	G	A	A	G	A	
C	G	G	C	T	G	C	A	G	C	T	G	T	A	G	A	T	T	C	C	C	C	G	A	G	G	A	A	G	A	G	G	A	G		
G	C	G	G	C	T	G	T	G	A	G	C	T	G	A	G	A	G	T	T	A	A	G	T	T	C	A	G	C	A	G	G	A	G		
G	C	C	G	A	C	G	C	C	C	C	T	G	C	C	T	A	C	C	A	G	C	A	A	G	G	A	C	A	G	A	A	T	C	A	
A	C	T	G	T	A	C	A	A	C	G	A	G	C	T	G	A	A	C	C	T	G	G	G	C	A	G	A	C	G	G	G	A	G		
A	A	T	A	C	G	A	T	G	T	G	C	T	G	G	A	C	A	A	G	A	G	G	A	G	A	G	G	C	A	G	A	G	A	C	
C	C	C	G	A	G	A	T	G	G	G	C	G	G	C	A	A	A	C	C	T	A	G	A	A	G	A	A	A	G	A	A	C	C	C	
C	C	A	G	G	A	G	G	C	C	T	G	T	A	T	A	A	C	G	A	G	C	T	C	C	A	G	A	A	G	G	A	C	A		
A	G	A	T	G	G	C	C	G	A	G	G	C	C	T	A	C	A	G	C	G	A	G	A	T	C	G	G	C	A	T	G	A	A		
G	G	C	G	A	A	A	G	A	A	G	A	A	G	A	G	G	C	A	A	G	G	G	C	C	A	C	G	A	C	G	G	C	C	T	
C	T	A	C	C	A	G	G	G	C	T	T	A	A	G	C	A	C	A	G	C	T	A	C	A	A	A	G	G	A	C	A	C	C	T	
A	C	G	A	C	G	C	C	T	G	C	A	C	A	T	G	C	A	G	G	C	C	T	G	C	C	C	C	C	T	A	G	A			
T	G	A	T	T	A	A	T	T	A	A	a	t	c	g	a	t																			

10

20

【 0 4 6 4 】

実施例 2 1

【 0 4 6 5 】

30

40

50

表 69 : 配列番号 291 及び配列番号 292 に示される例示的な抗 CD20 / 抗 CD19 のバイシストロン性 CAR のヌクレオチド配列及びアミノ酸配列

配列番号 291	ATGCTGCTGCTGGTGACATCTCTGCTGCTTTGCG AGCTGCCCCACCCCTGCCTTCCTGCTTATCCCCGA CATTCAGATGACCCAGACCACCAGCAGCCTGAGC GCCAGCTTAGGAGATAGAGTTACCATCAGCTGCA GAGCCAGCCAGGACATCAGCAAATACCTGAACTG GTATCAGCAGAAGCCCGACGGCACTGTGAAACTG CTTATTTACACACACTCCAGACTGCACAGCGGC TTCCAGCAGATTCTCTGGCAGCGGATCTGGAAC CGACTACAGCCTCACCATCTCCAACCTGGAGCAG GAGGACATCGCCACCTACTTCTGCCAGCAGGGCA ACACACTGCCCTACACCTTCGGAGGAGGAACCAA GCTGGAGATCACCGGGGGAGGAGGCTCTGGAGGC GGCGGATCAGGAGGAGGGGGATCTGAGGTTAAGC TGCAGGAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGGCTCCTAG CCAATCTTTATCTGTGACCTGCACTGTGTCCGGC GTTAGCCTGCCCGATTATGGCGTTTCCTGGATCA GACAGCCCCCAGAAAGGGCCTGGAATGGCTGGG CGTTATCTGGGGCAGCGAGACACATACTACAAC AGCGCCCTGAAGAGCAGACTTACGATTATCAAGG ACAACAGCAAGAGCCAGGTTTTCTGAAAGATGAA CAGCCTGCAGACCAGACACCGCCATCTACTAC TGCGCTAAGCACTACTACTACGGCGGCAGCTACG CCATGGACTACTGGGGCCAGGGAACAAGCGTTAC CGTTAGCAGCGCTGCTGCACTGGACAACGAGAAG AGCAACGGCACCATCATCCACGTTAAGGGCAAGC ACCTGTGCCCCAGCCCTCTGTTCCCTGGACCTTC TAAGCTATTTCTGTTACTGTTCTGGTGGTGGTGGC GTTTTTAGCTGTTACAGCCTTCTGGTGA CTGTGG CCTTCATCATCTTTTTGGGTTAGAAGCAAGAGAAG CAGACTGCTCCACAGCGACTACATGAACATGACC CCCAGACGGCCTGGCCCCACCAGAAAGCATTACC AGCCCTACGCTCCTCCAGAGACTTCGCCGCCCTA CAGGAGCAGAGTTAAATTCAGCAGATCCGCCGAT GCCCCCGCTTACCAACAGGGACA AAAACCAGCTGT ACAATGAGCTCAACCTGGGGAGAAGAGAAGATA CGACGTTCTGGATAAGAGAAGGGGCAGAGATCCC GAAATGGGGGGCAAGCCCAGACGCAAGAACCCTC AGGAGGGGCTTTACAACGAACTGCAGAAGGATAA GATGGCTGAGGCTTACTCGGAGATTGGGATGAAG GGGGAGAGAAGGCGGGGCAAGGGACACGATGGCT TATACCAGGGGCTGAGCACCGCCACCAAGGACAC ATACGACGCTCTTCATATGCAGGCTCTGCCCCCA AGAAGGGCTAAGAGATCTGGCTCTGGCGAGGGCA GAGGCAGCTTGCTTACATGTGGCGATGTGGAGGA GAACCCCGGGGCCATGGCTCTTCCTGTGACAGCT CTTCTGCTGCCCTGGCCCTGCTTCTGCATGCTG CTAGACCTCAGCTTTCAGCTCCAAGAGAGCGGACC TGGCTTAGTGAAGCCAGCGAAACCCTGTCCCTC ACCTGCACCGTTCTCTGGCGGAAGCATCAGCAGCT CCAGCTATTACTGGGGATGGATCAGGCAGCCCCC
-------------	---

10

20

30

40

	<p>TGGCAAGGGTTTAGAATGGATCGGCTCGATATAT  TACTCCGGCAGCACCTACTATAACCCAGCTTGA  AGAGCCGGGTACCATTTCTGTGGACACATCAA  GAACCAGTTCAGCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACT  GCCGCCGACACAGCTGTGTACTACTGTGCCAGAG  AGACAGACTACTCCAGCGGCATGGGCTACGGCAT  GGATGTGTGGGGACAAGGAACCAACCGTTACTGTG  AGCAGCGGTTCACCAGCGGCTCAGGCAAGCCTG  GCTCAGGAGAAGGAAGCACC AAGGGGGATATACA  GATGACACAGAGCCCCCTCCAGCCTGTCCCGCCAG  GTTGGCGATCGTGTAAACGATCACCTGCGGGCCT  CTCAGAGCATCAACTCCTACCTCAATTGGTATCA  ACAGAAGCCAGGCAAGGCCCCCAAATTACTCATC  TACGCCGCCAGCAGCTTACAGAGCGGGGTTCCCT  CTAGATTCTCCGGCTCCGGTTCTGGAACAGATTT  CACCTCACTATCTCCAGCTTGCAGCCCGAGGAT  TTCGCCACTTATTACTGTGTCAGCAGAGCCTGGCCG  ACCCCTTCACATTCGGCGGAGGCACAAAGGTTGA  GATCAAGGCAGCTGCTTTCGTGCTGTGTTCCTG  CCTGCTAAGCCCACCACTCCTGCTCCAAGAC  CTCCTACCCCGCTCCTACAATCGCCAGCCAACC  TCTGAGCCTGAGACCGGAGGCATGCAGACCTGCG  GCAGGGGGAGCAGTTCACACAAGAGGCTTGGA  TCGCTTGCGACATCTACATCTGGGCCCTCTGGC  CGGCACATGCGGAGTTCTTCTTCTTAGCCTGGTG  ATCACCTGTACTGCAACCACAGAAACAGATTC  GCGTTGTGAAGAGAGGCGCGAAGAAGCTGCTGTA  CATCTTCAAGCAGCCTTTCATGAGACCTGTGCAG  ACCACACAGGAGGAAGACGGCTGCAGCTGTAGAT  TCCCCGAGGAAGAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAG  AGTTAAGTTCAGCAGGAGCGCCGACGCCCTGCC  TACCAGCAAGGACAGAAATCAACTGTACAACGAGC  TGAACCTGGGCAGACGGGAGGAATACGATGTGCT  GGACAAGAGGAGAGGCAGAGACCCCGAGATGGGC  GGCAAACCTAGAAGAAGAACC  CCAGGAGGGCC  TGTATAACGAGCTCCAGAAAGGACAAAGATGGCCGA  GGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAAAGA  AGAAGAGGCAAGGGCCACGACGGCCTCTACCAGG  GCTTAAGCACAGCTACAAAGGACACCTACGACGC  CCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCCTAGATGA</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p>
<p>配列番号 292</p>	<p>M L L L V T S L L L C E L P H P A F L L I P D I Q M T Q T T S S L S  A S L G D R V T I S C R A S Q D I S K Y L N W Y Q Q K P D G T V K L  L I Y H T S R L H S G V P S R F S G S G S G T D Y S L T I S N L E Q  E D I A T Y F C Q Q G N T L P Y T F G G G T K L E I T G G G G S G G  G G S G G G G S E V K L Q E S G P G L V A P S Q S L S V T C T V S G  V S L P D Y G V S W I R Q P P R K G L E W L G V I W G S E T T Y Y N  S A L K S R L T I I K D N S K S Q V F L K M N S L Q T D D T A I Y Y  C A K H Y Y Y G G S Y A M D Y W G Q G T S V T V S S A A A L D N E K  S N G T I I H V K G K H L C P S P L F P G P S K P F W V L V V V G G  V L A C Y S L L V T V A F I I F W V R S K R S R L L H S D Y M N M T  P R R P G P T R K H Y Q P Y A P P R D F A A Y R S R V K F S R S A D  A P A Y Q Q G Q N Q L Y N E L N L G R R E E Y D V L D K R R G R D P</p>	<p>40</p>

EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK	
GERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPP	
RRAKRSGSGEGRGSLTTCGDVEENPGPMALPVTA	
LLPLALLLHAARPQLQLQESGPGLVKPSSETLSL	
TCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIY	
YSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSTVT	
AADTAVYYCARETDYSSGMGYGMDVWGQGTTVTV	
SSGSTSGSGKPGSGEGSTKGD IQMTQSPSSLSAS	
VGDRVTITCRASQSINSYLNWYQQKPGKAPKLLI	
YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPED	
FATYYCQQSLADPFTFGGGTKVEIKAAAFVPVFL	
PAKPTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA	
AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLV	
ITLYCNHRNRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ	
TTQEEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA	
YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPENMG	
GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGER	
RRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	

10

20

【 0 4 6 6 】

实施例 2 2

【 0 4 6 7 】

30

40

50

表 70 : 例示的な抗CD20 / 抗CD19 二重特異性CAR 及びその構成要素

	配列番号:	配列
二重特異性 CAR (ヌクレオチド配列)	293	ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGC TCTGTGAGTTACCACACCAGCATTCCT CCTGATCCCAGACATCCAGATGACCCAG TCTCCATCCTCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCAACATCACTTGCCGGGC AAGTCAGAGCATTAACAGCTATTTAAAT TGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAGCCC CTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAG TTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTT AGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCA CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAAACCTGA AGATTTTGCAACTTACTACTGCCAGCAA AGCCTCGCCGACCCTTTCACTTTTGGCG GAGGGACCAAGGTTGAGATCAAAGGGGG GGGTGGAAGTGGGAAGCCTGGCAGCGGC GAGGGCGGCAGTCAAGCTGCAGCTGCAGG AGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCTTC GGAGACCCTGTCCCTCACCTGCCTGTCT TCTGGTGGCTCCATCAGCAGTAGTAGTT ACTACTGGGGCTGGATCCGCCAGCCCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATTGGGAGT ATCTATTATAGTGGGAGCACCTACTACA ACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCAT ATCCGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTC TCCCTGAAGCTGAGTTCTGTGACCGCCG CAGACACGGCGGTGTACTACTGCGCCAG AGAGACTGACTACAGCAGCGGAATGGGA TACGGAATGGACGTATGGGGCCAGGGAA CAACTGTCAACCGTCTCCTCAGGCGGTGG CGGCAGTGGGAAGCCTGGCAGCGATATT CAAATGACCAGTCCCGTCCCTCCCTGA GTGCCTCCGTGCGGTGACCGTGTACGAT TACCTGCCGTGCGAGCCAAGACATCTCT AAATACCTGAACCTGGTATCAGCAAAAAC CGGATCAGGCACCGAAACTGCTGATCAA ACATACCTCACGTCTGCCTCGGGTGTG CCGAGCCGCTTTAGTGGTTCCGGCTCAG GTACCGATTACACCCTGACGATCAGCTC TCTGCAGCCGGAAGACTTTTGCCACGTAT TACTGCCAGCAAAGGTAATAACCTGCCGT ATACGTTTCGGCCAAGGTACCAAACCTGGA AATCAAAGGGGGGGGTGGAAGTGGGGGC GGTGGCAGCGGCGGTGGCGGCAGTGAAG TGCAGCTGGTTGAAAGCGGTGGTGGTCT GGTTCAAACCGGGTTCGTTCCCTGCGTCTG TCATGTACGGCGAGTGGTGTCTCCCTGC CGGACTATGGCGTGTCTTGGATTTCGTCA GCCGCCGGGTAAAGGCCTGGAATGGATT GGTGTCACTCTGGGGCAGTGAAACCACGT

10

20

30

40

		<p>ATTACAACCTCGGCCCTGAAAAGCCGTTT  CACCATCTCTCGCGATAACAGTAAAAAT  ACGCTGTACCTGCGAGATGAATAGCCTGC  GCGCGGAAGACACCGCCGTTTACTACTG  CGCAAAACATTACTACTACGGTGGCAGC  TATGCTATGGATTACTGGGGTCAAGGCA  CGCTGGTACCCGTTTCGTACGCCGCTGC  CCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACC  ATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTT  GTCCAAGTCCCCCTATTTCCCGGACCTTC  TAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTT  GGGGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGC  TAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTG  GGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTG  CACAGTGACTACATGAACATGACTCCCC  GCCGCCCCGGGCCACCCGCAAGCATT  CCAGCCCTATGCCCCACACGCGACTTC  GCAGCCTATCGCTCCAGAGTGAAGTTCA  GCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCA  GCAGGGCCAGAACCCAGCTCTATAACGAG  CTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACG  ATGTTTTTGACAAAGAGACGTGGCCGGGA  CCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGG  AAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATG  AACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGC  CTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAG  CGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCC  TTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAA  GGACACCTACGACGCCCTTACATGCAG  GCCCTGCCCCCTCGATGA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>二重特異性  CAR (ア  ミノ酸配列  )</p>	<p>294</p>	<p>MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPDIQMTQ  SPSSLSASVGDRTITCRASQSINSYLN  WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF  SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ  SLADPFTFGGGTKVEIKGGGSGKPGSG  EGGSQQLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTV  SGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGS  IYYSGSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQF  SLKLSVTAADTAVYYCARETDYSSGMG  YGMDVWGQGTITVTVSSGGGSGKPGSDI  QMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIS  KYLNWYQQKPDQAPKLLIKHTSRLHSGV  PSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATY  YCAQQGNTLTPYTFGQGTKLEIKGGGSGG  GGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGRSLRL  SCTASGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWI  GVIWGSETTYNSALKSRFTISRDN SKN  TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKHYYYGGS  YAMDYWGQGTITVTVSSAAALDNEKSNGT  IIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFVWLVVV  GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL  HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF</p>	<p>30</p> <p>40</p>

		AAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQ ALPPR	
CSF2RA シグナル ペプチド	295	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIIP	
Ab3V L	296	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQS INSYLNWYQQKPKAPKLLIYAASSLQS GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQSLADPFTFGGGTKVEIK	10
KL2リン カー	297	GGGSGKPGSGEGGS	
Ab3V H	298	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGS ISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYS GSTYYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLL SSVTAADTAVYYCARETDYSSGMGYGMD VWGQGTTVTVSS	
短縮された リンカー	299	GGGSGKPGS	20
抗CD19 のVL	300	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQD ISKYLNWYQQKPDQAPKLLIKHTSRLHS GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA TYYCQQGNTLPYTFGQGTKLEIK	
G4Sリン カー	301	GGGSGGGGSGGGGS	
抗CD19 のVH	302	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGVS LPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSET TYYNALKSRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKHYYGGSYAMDYWGQ GTLVTVSS	30
CD28T の細胞外領 域	303	LDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPGPS KP	
CD28の 膜貫通領域	304	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	
CD28の 細胞内領域	305	RSKRSLRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYYQ PYAPPRDFAAYRS	
CD3z	306	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQE GLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHGGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	40

【0468】

実施例23

【0469】

表 7 1 : 例示的なリンカー

	配列番号 :	配列
G 4 S (G 4 S x 1)	3 0 7	G G G G S
G 4 S x 2	3 0 8	G G G G S G G G G S
G 4 S x 3	3 0 9	G G G G S G G G G S G G G G S
G 4 S x 4	3 1 0	G G G G S G G G G S G G G G S G G G G S
I g A	3 1 1	P S T P P T P S P S T P P T P S P S
P A P A P	3 1 2	P A P A P (任意に 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、 7 個、8 個、9 個、又は 1 0 個の P A P A P の隣接するコピーを含む)
E A A A K	3 1 3	E A A A K (任意に 1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、 7 個、8 個、9 個、又は 1 0 個の E A A A K の隣接するコピーを含む)

10

## 【 0 4 7 0 】

多くの実施形態を記載したが、本開示及び実施例は、本明細書に記載される組成物及び方法を利用する又はそれらに包含される他の実施形態を提供し得ることは明らかである。したがって、その範囲は、例として表された実施形態ではなく、本開示及び添付の特許請求の範囲から理解され得るものによって規定されるべきであることが理解されるであろう。

20

## 【 配列表 】

[2023169138000001.xml](#)

30

40

50



【 手続補正書 】

【 提出日 】 令和5年8月2日(2023.8.2)

【 手続補正1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項1 】

明細書に記載された発明。

10

【 外国語明細書 】

2023169138000141.pdf

2023169138000142.pdf

2023169138000143.pdf

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 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 N 5/0783(2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 K 35/12	
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	
A 6 1 K 39/395(2006.01)	A 6 1 K 39/395	G
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 35/02	

ニア ウッドランド ヒルズ ダンマン アベニュー 4 8 3 7

(72)発明者 ロドリゲス ルーベン アルバレス

アメリカ合衆国 9 1 3 0 7 カリフォルニア ウェスト ヒルズ パークイスト アベニュー 6 6 5 8

(72)発明者 シーヴァース スチュアート エー .

アメリカ合衆国 9 0 4 0 4 カリフォルニア サンタモニカ ブロードウェイ 2 4 0 0 シーノオー  
カイト ファーマ インコーポレイテッド

(72)発明者 ウィルツィアス ジェド

アメリカ合衆国 0 1 8 9 0 マサチューセッツ ウィンチェスター タウン ウェイ 4

F ターム (参考) 4B065 AA94X AB01 AC14 BA02 CA24 CA25 CA44

4C085 AA13 AA14 BB11 DD62 EE01

4C087 AA01 AA02 AA03 BB37 BB65 CA12 NA14 ZB26 ZB27

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 EA20 FA74