

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-527553

(P2019-527553A)

(43) 公表日 令和1年10月3日(2019.10.3)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/13 (2006.01)	C12N 15/13	2G045
C07K 16/42 (2006.01)	C07K 16/42 ZNA	4B029
C07K 16/28 (2006.01)	C07K 16/28	4B063
C07K 19/00 (2006.01)	C07K 19/00	4B064
C12N 15/62 (2006.01)	C12N 15/62 Z	4B065

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 197 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-504855 (P2019-504855)
 (86) (22) 出願日 平成29年7月29日 (2017. 7. 29)
 (85) 翻訳文提出日 平成31年3月25日 (2019. 3. 25)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/044560
 (87) 国際公開番号 W02018/023100
 (87) 国際公開日 平成30年2月1日 (2018. 2. 1)
 (31) 優先権主張番号 62/369, 008
 (32) 優先日 平成28年7月29日 (2016. 7. 29)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 516316897
 ジュノー セラピューティクス インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 98109 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 400 스위트 1200
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

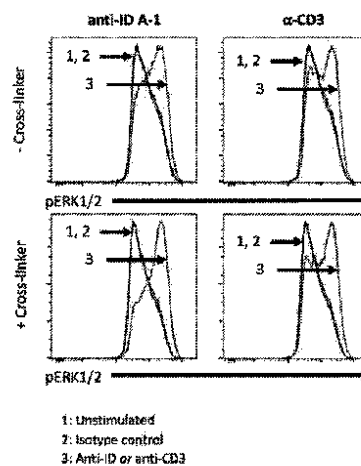
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗CD19抗体に対する抗イデオタイプ抗体

(57) 【要約】

本明細書には、抗CD19抗体部分を、具体的には、キメラ抗原受容体 (CAR) を含む組換え受容体に存在する抗CD19抗体部分を特異的に認識する抗イデオタイプ抗体が提供される。本開示はさらに、そのような組換え受容体を発現する細胞 (例えば、抗CD19 CAR T細胞など) の特異的な特定および/または選択を行うための抗イデオタイプ抗体の使用に関する。本開示はさらに、そのような細胞を特異的に活性化するための抗イデオタイプ抗体の使用に関する。

FIG. 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体、あるいはSJ25C1に由来する可変領域を含有する標的抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 2】

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む軽鎖可変(VL)領域、および/または

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む重鎖可変(VH)領域

を含む、請求項1記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

10

【請求項 3】

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含むVL領域、および/または

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含むVH領域

を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 4】

VH領域が、

SEQ ID NO: 11もしくは84に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、または、SEQ ID NO: 1に示されるVH配列に含まれるCDR-H3を含むCDR-H3

を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、

SEQ ID NO: 14もしくは87に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)、または、SEQ ID NO: 5に示されるVL配列に含まれるCDR-L3を含むCDR-L3

を含む、

請求項2または3記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

20

【請求項 5】

VH領域が、

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列およびCDR-H2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1およびCDR-H2

を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列およびCDR-L2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1およびCDR-L2

を含む、

請求項2~4のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

30

【請求項 6】

VH領域が、SEQ ID NO: 9、78、79または80に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82または83に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 11または84に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 12または85に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 13または86に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 14または87に示されるCDR-L3を含む、

請求項2~5のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

40

【請求項 7】

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3

50

を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 8】

SEQ ID NO: 9、78、79または80のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82または83のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO: 11または84として示されるアミノ酸配列を含むCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 12または85のアミノ酸配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO: 13または86のアミノ酸配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO: 14または87のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 9】

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含む、請求項1~8のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 10】

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含み、かつ、抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含む、請求項9記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 11】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、請求項1~10のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項 12】

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 13】

SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む軽鎖可変(VL)領域、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有する重鎖可変(VH)領域を含む、請求項12記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項 14】

SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有するVL領域、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有するVH領域を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 15】

VH領域が、

以下において、 X_3 はTまたはSであり、 X_5 はTまたはSであり、 X_6 はDまたはRであり、 X_8 はYまたはWであり、かつ X_{10} はKまたはNであるアミノ酸配列 $GYX_3FX_5X_6YX_8MX_{10}$ (SEQ ID NO: 108) を含む、重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1) と；

以下において、 X_4 はDまたはMであり、 X_6 はNまたはHであり、 X_8 はNまたはSであり、 X_9 はNまたはDであり、 X_{10} はGまたはSであり、 X_{11} はGまたはEであり、 X_{13} はDまたはRであり、 X_{14} はYまたはLであり、 X_{17} はNまたはKであり、かつ X_{20} はGまたはDであるアミノ酸配列 $WIGX_4IX_6PX_8X_9X_{10}X_{11}TX_{13}X_{14}NQX_{17}FKX_{20}$ (SEQ ID NO: 109) を含む、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2) と；

以下において、 X_2 はRまたはSであり、 X_3 はEまたはIであり、 X_4 はGまたはYであり、 X_5 はNまたはYであり、 X_6 はNまたはEであり、 X_7 はYまたはヌルであり、 X_8 はGまたはヌルであ

10

20

30

40

50

り、X₉はSまたはヌルであり、X₁₀はRまたはヌルであり、X₁₁はDまたはヌルであり、X₁₂はAまたはヌルであり、X₁₃はMまたはヌルであり、X₁₄はDまたはEであり、かつX₁₅はYまたはAであるアミノ酸配列

AX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄X₁₅ (SEQ ID NO: 110)

を含む、重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3) と

を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、

以下において、X₁はSまたはRであり、X₃はSまたはRであり、X₄はSまたはGであり、X₅はGまたはNであり、X₆はVまたはIであり、X₇はIまたはHであり、X₈はNまたはヌルであり、X₁₀はMまたはLであり、かつX₁₁はYまたはAであるアミノ酸配列

X₁AX₃X₄X₅X₆X₇X₈YX₁₀X₁₁WY (SEQ ID NO: 111)

を含む、軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L1) と；

以下において、X₁はPまたはLであり、X₂はWまたはLであり、X₃はIまたはVであり、X₅はLまたはNであり、X₆はTまたはAであり、X₇はSまたはKであり、X₈はNまたはTであり、かつX₁₁はSまたはDであるアミノ酸配列

X₁X₂X₃YX₅X₆X₇X₈LAX₁₁ (SEQ ID NO: 112)

を含む、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2) と；

以下において、X₂はQまたはHであり、X₃はWまたはFであり、X₄はSまたはWであり、X₅はSまたはWであり、X₆はNまたはTであり、かつX₈はLまたはYであるアミノ酸配列

QX₂X₃X₄X₅X₆PX₈T (SEQ ID NO: 113)

を含む、軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) と

を含む、

請求項13～14のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項16】

相補性決定領域3 (CDR-H3) が、SEQ ID NO: 94もしくは104に示されるアミノ酸配列を含む、または、SEQ ID NO: 36もしくは58に示されるVH配列に含まれるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) が、SEQ ID NO: 97もしくは107に示されるアミノ酸配列を含む、または、SEQ ID NO: 40もしくは62に示されるVL配列に含まれるCDR-L3を含む、

請求項15記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項17】

VH領域が、SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列およびCDR-H2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1およびCDR-H2を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列およびCDR-L2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1およびCDR-L2を含む、

請求項13～16のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項18】

VH領域が、SEQ ID NO: 88、89、90、98、99または100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 91、92、93、101、102または103に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 94または104に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 95または105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 96または106に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 97または107に示されるCDR-L3を含む、

請求項13～17のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項19】

SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2

10

20

30

40

50

配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 0】

SEQ ID NO: 88、89、90、98、99または100のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO: 91、92、93、101、102または103のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO: 94または104として示されるアミノ酸配列を含むCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 95または105のアミノ酸配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO: 96または106のアミノ酸配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO: 97または107のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 1】

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 36または58のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 40または62のアミノ酸配列を含む、請求項13~21のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 2】

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 36または58のアミノ酸配列を含み、かつ、抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 40または62のアミノ酸配列を含む、請求項21記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 3】

VH領域が、SEQ ID NO: 44、88、89または90に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 45、91、92または93に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 46または94に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 47または95に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 48または96に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 49または97に示されるCDR-L3を含む、請求項13~22のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 4】

VH領域が、SEQ ID NO: 65、98、99または100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 66、101、102または103に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 67または104に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 68または105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 69または106に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 100または107に示されるCDR-L3を含む、請求項13~23のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 5】

VH領域が、SEQ ID NO: 36に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 40に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、

請求項13~24のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項 2 6】

VH領域が、SEQ ID NO: 58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む、なら

10

20

30

40

50

びに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、
請求項13~24のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項27】

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を含む、
請求項13~25のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

10

【請求項28】

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を含む、
請求項13~24および26のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項29】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが一本鎖フラグメントである、請求項1~28の
いずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

20

【請求項30】

前記フラグメントが、柔軟なリンカーによってつながれた抗体可変領域を含む、請求項
29記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項31】

前記フラグメントがscFvを含む、請求項29または請求項30記載の抗イディオタイプ抗体
または抗原結合性フラグメント。

【請求項32】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、

SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖
可変領域を含む、ならびに/あるいは

30

SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含むscFvである、

請求項1~11および29~31のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性
フラグメント。

【請求項33】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、

SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖
可変領域を含む、ならびに/あるいは

40

SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含むscFvである、

請求項12~31のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント

40

【請求項34】

請求項1~33のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合フラグメント
が特異的に結合するエピトープと同じであるかまたは重複する、標的抗体またはその抗原
結合性フラグメントのエピトープ
に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項35】

標的抗体または抗原結合性フラグメントがキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗
原結合ドメインの内部に存在し、または、キメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原
結合ドメインに含まれ、ならびに/あるいは

50

抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントが、

CARの細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に含まれる、または、CARの細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる標的抗体または抗原結合性フラグメントと特異的に結合する、
請求項1～34のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント

【請求項36】

標的抗体または抗原結合性フラグメントがscFvであり、かつ、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントがCARのscFvにおけるエピトープに特異的に結合する、請求項35記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項37】

キメラ抗原受容体の細胞外部分に含まれる抗体SJ25C1由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)に特異的に結合し、任意で、抗体SJ25C1由来のscFvが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含む、請求項1～11、29～32および35のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項38】

キメラ抗原受容体の細胞外部分に含まれる抗体FMC63由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)、またはFMC63由来の可変領域を含有する一本鎖可変フラグメント(scFv)に特異的に結合し、任意で、抗体FMC63由来のscFvが、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含む、請求項12～31および33～35のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項39】

標的抗体または抗原結合性フラグメントの相補性決定領域(CDR)のすべてまたは一部分の内部にあるエピトープ、あるいは標的抗体または抗原結合性フラグメントの相補性決定領域(CDR)のすべてまたは一部分を含むエピトープに特異的に結合する、請求項1～38のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項40】

CARが、スパーサーを介して抗原結合ドメインに連結された膜貫通ドメインをさらに含む、請求項35～39のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項41】

スパーサーが、
任意でヒトCD28である、CD28からの細胞外部分を含む、請求項40記載の抗イディオタイプ抗体。

【請求項42】

CD28からの細胞外部分が、SEQ ID NO: 27に示されるアミノ酸の配列を含む、請求項41記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項43】

膜貫通ドメインが、
任意でヒトCD28である、CD28の膜貫通部分を含む、請求項40～42のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項44】

CARのスパーサードメインにおけるエピトープに結合しない、請求項40～43のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項45】

SEQ ID NO: 27に示されるアミノ酸の配列を任意で含むCD28の細胞外部分を任意で含む、任意でヒトCD28であるCD28またはその一部分

10

20

30

40

50

に結合しない、または特異的に結合しない、請求項1～44のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項46】

任意でヒトIgG1 FcドメインであるFcドメインにおけるエピトープに結合しない、請求項1～45のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項47】

標的抗体または抗原結合性フラグメントがヒトCD19に特異的に結合する、請求項1～46のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項48】

別のCARの細胞外の抗原結合ドメインに任意で含まれる他の抗CD19抗体と交差反応しない、請求項1～47のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項49】

別のCARと交差反応しない、請求項1～48のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項50】

標的抗体または抗原結合性フラグメントを含むCARのアゴニスト抗体である、請求項1～49のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項51】

標的抗体または抗原結合性フラグメントを含むCARのアンタゴニストである、請求項1～49のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項52】

ヒト化されている、請求項1～51のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項53】

組換え体である、請求項1～52のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項54】

モノクローナルである、請求項1～53のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項55】

抗原結合性フラグメントである、請求項1～54のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項56】

抗原結合性フラグメントが、フラグメント抗原結合(Fab)フラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント、Fab'フラグメント、Fvフラグメント、一本鎖可変フラグメント(scFv)または単ドメイン抗体の中から選択される、請求項55記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項57】

免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分を含む、請求項1～54のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項58】

免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分が、CH2ドメインおよびCH3ドメインを含むFc領域または該Fcの一部分を含む、請求項57記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項59】

定常領域がヒトIgGに由来する、請求項57または請求項58記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項60】

10

20

30

40

50

インタクトな抗体または全長抗体である、請求項57～59のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

【請求項61】

請求項1～60のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントと、異種分子または異種部分とを含む、コンジュゲート。

【請求項62】

異種分子または異種部分が標識である、請求項61記載のコンジュゲート。

【請求項63】

標識が、蛍光色素、蛍光タンパク質、放射性同位体、発色団、金属イオン、金粒子、銀粒子、磁性粒子、ポリペプチド、酵素、ストレプトアビジン、ビオチン、発光化合物またはオリゴヌクレオチドから選択される、請求項62記載のコンジュゲート。

10

【請求項64】

異種分子または異種部分が、タンパク質、ペプチド、核酸または小分子であり、任意で、これらは毒素またはStrep-Tagであるかあるいは毒素またはStrep-Tagを含む、請求項62記載のコンジュゲート。

【請求項65】

請求項1～60のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントの重鎖および/または軽鎖をコードする、核酸分子。

【請求項66】

(i) SEQ ID NO: 15に示される重鎖可変領域、(ii) SEQ ID NO: 15に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

20

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 19に示される軽鎖可変領域、(v) SEQ ID NO: 19に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、請求項65記載の核酸分子。

【請求項67】

(i) SEQ ID NO: 17に示される重鎖、(ii) SEQ ID NO: 17に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

30

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 21に示される軽鎖、(v) SEQ ID NO: 21に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、請求項65または請求項66記載の核酸分子。

【請求項68】

(i) SEQ ID NO: 50もしくは71に示される重鎖可変領域、(ii) SEQ ID NO: 50もしくは71に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

40

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 54もしくは75に示される軽鎖可変領域、(v) SEQ ID NO: 54もしくは75に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、請求項65記載の核酸分子。

【請求項69】

(i) SEQ ID NO: 52もしくは73に示される重鎖、(ii) SEQ ID NO: 52もしくは73に示

50

されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii)(i)もしくは(ii)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv)SEQ ID NO: 56もしくは76に示される軽鎖、(v)SEQ ID NO: 56もしくは76に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi)(iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、請求項65または請求項68記載の核酸分子。

【請求項70】

重鎖および/または軽鎖をコードするヌクレオチド配列がシグナル配列を含む、請求項65~69のいずれか一項記載の核酸分子。 10

【請求項71】

請求項65~70のいずれか一項記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項72】

請求項1~41のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいは請求項65~70のいずれか一項記載の核酸分子を含む、細胞。

【請求項73】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを製造する方法であって、請求項65~70のいずれか一項記載の核酸分子または請求項71記載のベクターによってコードされる重鎖および/または軽鎖を適切な宿主細胞において発現させる工程、および該抗体を回収する工程、または該抗体を単離する工程を含む、方法。 20

【請求項74】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを製造する方法であって、請求項72記載の細胞を、重鎖および/または軽鎖が発現される条件のもとで培養する工程、および該抗体を回収する工程、または該抗体を単離する工程を含む、方法。

【請求項75】

請求項73または請求項74記載の方法によって製造される、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。 30

【請求項76】

請求項1~60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、請求項61~64のいずれか一項記載のコンジュゲート、あるいは請求項72記載の細胞を含む、組成物。

【請求項77】

薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、請求項76記載の組成物。

【請求項78】

請求項1~60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、請求項61~64のいずれか一項記載のコンジュゲート、請求項65~70のいずれか一項記載の核酸のうちの1つまたは複数、および、任意で、使用説明書を含む、キット。 40

【請求項79】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいはコンジュゲートを固定化するための試薬または支持体をさらに含み、前記試薬または支持体が、ビーズ、カラム、マイクロウエル、スティック、フィルター、ストリップ、または可溶性のオリゴマー型ストレプトアビジンムテイン試薬である、請求項78記載のキット。

【請求項80】

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出する方法であって、

(a)抗体SJ25C1または抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体S 50

J25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出する工程を含む、方法。

【請求項81】

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出する方法であって、

(a) 抗体FMC63または抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体FM C63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出する工程を含む、方法。

【請求項82】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、細胞に結合されているか、または細胞の表面に発現されており、かつ、(b)において検出する工程が、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含み、請求項81記載の方法。

【請求項83】

細胞がその表面に、標的抗体または標的抗原結合性フラグメントを含むCARを発現する、請求項82記載の方法。

【請求項84】

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを検出する方法であって、

(a) 抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞と、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載のものあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートを接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出する工程を含む、方法。

【請求項85】

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを検出する方法であって、

(a) 抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出する工程を含む、方法。

【請求項86】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが検出のために直接的または間接的に標識される、請求項80～85のいずれか一項記載の方法。

【請求項87】

細胞を細胞集団から選択する方法であって、以下を含む、方法：

(a) 標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞集団、または標的抗体に結合した細胞を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イデ

イオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程であって、標的抗体が、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである、工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択する工程。

【請求項88】

細胞を細胞集団から選択する方法であって、以下を含む、方法：

(a) 標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞集団、または標的抗体に結合した細胞を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程であって、標的抗体が抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである、工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択する工程。

【請求項89】

抗イディオタイプ抗体と結合した細胞が、アフィニティーに基づく分離によって選択される、請求項87または請求項88記載の方法。

【請求項90】

アフィニティーに基づく分離が、イムノアフィニティーに基づく分離である、請求項89記載の方法。

【請求項91】

アフィニティーに基づく分離が、フローサイトメトリーによる分離である、請求項89または請求項90記載の方法。

【請求項92】

アフィニティーに基づく分離が、磁気活性化細胞選別(magnetic-activated cell sorting)による分離である、請求項89または請求項90記載の方法。

【請求項93】

アフィニティーに基づく分離が、アフィニティークロマトグラフィーを含む、請求項89または請求項90記載の方法。

【請求項94】

抗イディオタイプ抗体が、支持体または固定相に可逆的に結合させられる、または固定化される、請求項92または請求項93記載の方法。

【請求項95】

細胞を刺激する方法であって、

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞を含むインプット組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートとインキュベートし、それにより、刺激された細胞を含むアウトプット組成物を生じさせる工程を含む、方法。

【請求項96】

細胞を刺激する方法であって、

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞を含むインプット組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートとインキュベートし、それにより、刺激された細胞を含むアウトプット組成物を生じさせる工程を含む、方法。

【請求項97】

10

20

30

40

50

細胞組成物を製造する方法であって、

(a) キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする核酸分子を細胞に導入し、それにより、インプット組成物を生じさせる工程、および

(b) 該インプット組成物を、CARの抗原受容体について特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、細胞組成物を製造する工程

を含む、方法。

【請求項 98】

CARが、CD19に特異的に結合する標的抗体を含む、請求項97記載の方法。

【請求項 99】

標的抗体が、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである、請求項98記載の方法。

【請求項 100】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントである、請求項97～99のいずれか一項記載の方法。

【請求項 101】

標的抗体が、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである、請求項98記載の方法。

【請求項 102】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗体FMC63である標的抗体に特異的に結合する、請求項97～98および101のいずれか一項記載の方法。

【請求項 103】

前記(a)において導入することが、ウイルス形質導入、転移、エレクトロポレーションまたは化学的トランスフェクションによって核酸分子を細胞に導入することを含む、請求項97～102のいずれか一項記載の方法。

【請求項 104】

前記(a)において導入することが、核酸分子を含むウイルスベクターによる形質導入によって該核酸分子を細胞に導入することを含み、任意で、ウイルスベクターがレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、請求項97～103のいずれか一項記載の方法。

【請求項 105】

前記(a)において導入することが、核酸分子を含むトランスポゾンによる転移によって該核酸分子を細胞に導入することを含む、請求項97～103のいずれか一項記載の方法。

【請求項 106】

前記(a)において導入することが、核酸分子を含むベクターのエレクトロポレーションまたはトランスフェクションによって該核酸分子を細胞に導入することを含む、請求項97～103のいずれか一項記載の方法。

【請求項 107】

細胞を工程(a)の前に活性化する工程をさらに含む、請求項97～106のいずれか一項記載の方法。

【請求項 108】

細胞を活性化する工程が、細胞を、CD3のアゴニスト、任意でCD28のアゴニストと接触させることを含む、請求項107記載の方法。

【請求項 109】

細胞を活性化する工程が、細胞を、

10

20

30

40

50

アゴニスト的な抗CD3抗体および抗CD28抗体を含む試薬と接触させることを含む、請求項108記載の方法。

【請求項110】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントがCARに結合し、それにより、シグナルをインプット組成物における1つまたは複数の細胞において誘導するまたは調節する条件のもとでインキュベーションが実施される、請求項95～109のいずれか一項記載の方法。

【請求項111】

細胞がT細胞を含む、請求項95～110のいずれか一項記載の方法。

【請求項112】

T細胞がCD4+および/またはCD8+のT細胞を含む、請求項111記載の方法。

【請求項113】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが固体支持体に固定化され、任意で、固体支持体は、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む試薬を含む、あるいはそのような試薬にコンジュゲートされる、請求項95～112のいずれか一項記載の方法。

【請求項114】

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが可溶性試薬に固定化され、任意で、可溶性試薬は抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位である、あるいは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む、請求項95～112のいずれか一項記載の方法。

【請求項115】

試薬がストレプトアビジンムテインを含む、請求項113または請求項114記載の方法。

【請求項116】

インキュベーションが、少なくともまたはおよそ少なくとも5分間、10分間、30分間、60分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間である、請求項95～115のいずれか一項記載の方法。

【請求項117】

インプット組成物が、該組成物における総細胞に対する百分率として、60%未満もしくは約60%未満、50%未満もしくは約50%未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満のCAR発現細胞を含む、請求項95～116のいずれか一項記載の方法。

【請求項118】

アウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、インプット組成物におけるCAR発現細胞の数と比較して、1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍またはそれ以上を超えて増加し、ならびに/あるいは

組成物における総細胞と比較された場合のアウトプット組成物におけるCAR発現の百分率が、10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%またはそれ以上を超えて増大する、請求項95～117のいずれか一項記載の方法。

【請求項119】

導入および/またはインキュベートする前に、細胞は、CAR発現細胞についての選択または濃縮が行われない、請求項95～118のいずれか一項記載の方法。

【請求項120】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、請求項80、82～84、86、87、89～95、97～100、103～119のいずれか一項記載の方法。

【請求項121】

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含む、請求項81、82、83、85、86

10

20

30

40

50

、88～94、96～99、101および102～119のいずれか一項記載の方法。

【請求項122】

抗体またはその抗原結合性フラグメントを精製する方法であって、

(a) 抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体を含む複合体を単離する工程を含む、方法。

10

【請求項123】

抗体またはその抗原結合性フラグメントを精製する方法であって、

(a) 抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体を含む複合体を単離する工程を含む、方法。

20

【請求項124】

抗イディオタイプ抗体を含む複合体が、アフィニティーに基づく分離によって単離される、請求項122または請求項123記載の方法。

【請求項125】

アフィニティーに基づく分離が、イムノアフィニティーに基づく分離である、請求項124記載の方法。

【請求項126】

アフィニティーに基づく分離が、磁気に基づく分離である、請求項124記載の方法。

【請求項127】

アフィニティーに基づく分離が、アフィニティークロマトグラフィーを含む、請求項124記載の方法。

30

【請求項128】

抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントを特定する方法であって、

(a) 可溶化部分に融合された標的抗体の抗原結合性フラグメントを含む可溶性の免疫化試薬を対象に導入する工程、および

(b) 標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する対象由来の抗体を特定する工程を含む、方法。

【請求項129】

抗原結合性フラグメントが、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む、請求項128記載の方法。

40

【請求項130】

抗原結合性フラグメントが一本鎖フラグメントである、請求項128または129記載の方法。

【請求項131】

抗原結合性フラグメントがscFvである、請求項130記載の方法。

【請求項132】

抗原結合性フラグメントが、キメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在する、またはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる、請求項128～131のいずれか一項記載の方法。

【請求項133】

50

可溶化部分が、
任意でヒトIgG1 FcであるFcドメインまたはそのフラグメント
である、請求項128～132のいずれか一項記載の方法。

【請求項134】

可溶化部分が、ヒンジ領域を欠くFcドメインである、請求項133記載の方法。

【請求項135】

可溶化部分が、SEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む、請求項134記載の方法。

【請求項136】

抗体を特定する工程が、

(i) B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製
すること、

(ii) 標的抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、または抗原結合性フラグメント
を含むキメラ抗原受容体と特異的に結合する抗体の産生について、ハイブリドーマをスク
リーニングすること、および

(iii) 特異的に結合する抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、そ
れにより、抗イディオタイプ抗体を特定すること

を含む、請求項128～135のいずれか一項記載の方法。

【請求項137】

標的抗体がCD19に結合する、請求項128～136のいずれか一項記載の方法。

【請求項138】

標的抗体の抗原結合性フラグメントが抗体SJ25C1に由来し、任意で、標的抗体の抗原結
合性フラグメントが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:
24に示される軽鎖可変領域を含む、請求項128～137のいずれか一項記載の方法。

【請求項139】

標的抗体の抗原結合性フラグメントが、抗体SJ25C1に由来する一本鎖可変フラグメント
(scFv)であり、任意で、scFvが、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含む、請
求項128～138のいずれか一項記載の方法。

【請求項140】

標的抗体の抗原結合性フラグメントが抗体FMC63に由来し、任意で、標的抗体の抗原結
合性フラグメントが、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:
31に示される軽鎖可変領域を含む、請求項128～137のいずれか一項記載の方法。

【請求項141】

標的抗体の抗原結合性フラグメントが、抗体FMC63に由来する一本鎖可変フラグメント
(scFv)であり、任意で、scFvは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含む、請
求項128～137および140のいずれか一項記載の方法。

【請求項142】

細胞を枯渇させる方法であって、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである
標的抗体に特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか
一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～
64のいずれか一項記載のコンジュゲートを含む組成物を対象に投与する工程を含み、該対
象は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受
容体(CAR)を発現する細胞を投与されたことがある、方法。

【請求項143】

細胞を枯渇させる方法であって、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである
標的抗体に特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗
イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか
一項記載のコンジュゲートを含む組成物を対象に投与する工程を含み、該対象は、抗体FM
C63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を
発現する細胞を投与されたことがある、方法。

【請求項144】

10

20

30

40

50

前記枯渴が、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）を介して起こる、請求項137または請求項138記載の方法。

【請求項145】

キメラ抗原受容体（CAR）に結合する分子の有無を明らかにする方法であって、以下を含む、方法：

（a）結合試薬と、結合試薬に結合する試料由来の分子とを含む複合体を形成させるための条件のもとで、結合試薬を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させる工程であって、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む、工程、および

10

（b）複合体の有無を検出し、それにより、CARと結合する分子の有無を明らかにする工程を含む、方法。

【請求項146】

工程（a）および工程（b）を陽性対照試料に対して行う工程、ならびに、

任意で、前記分子の有無を陽性対照との比較によって明らかにする工程

をさらに含み、陽性対照試料が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートを含む、請求項145記載の方法。

20

【請求項147】

キメラ抗原受容体（CAR）に結合する分子の有無を明らかにする方法であって、以下を含む、方法：

（a）結合試薬と、結合試薬に結合する試料由来の分子とを含む複合体を形成させるための条件のもとで、結合試薬を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させる工程であって、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたは該細胞外ドメインの一部分を含む、工程、

（b）複合体の有無を検出する工程

を含む方法。

30

【請求項148】

工程（a）および工程（b）を陽性対照試料に対して行う工程、ならびに、

任意で、前記分子の有無を陽性対照との比較によって明らかにする工程

をさらに含み、陽性対照試料が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲートを含む、請求項147記載の方法。

【請求項149】

結合試薬に結合する分子が抗体である、または抗体を含む、請求項145～148のいずれか一項記載の方法。

40

【請求項150】

結合試薬が検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、請求項145～149のいずれか一項記載の方法。

【請求項151】

結合試薬が固体支持体に結合されている、または可溶性である、請求項145～150のいずれか一項記載の方法。

【請求項152】

複合体がイムノアッセイによって検出される、請求項145～153のいずれか一項記載の方法。

【請求項153】

50

イムノアッセイが、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、化学発光アッセイ、電気化学発光アッセイ、表面プラズモン共鳴（SPR）に基づくバイオセンサー（例えば、BIAcore）、フローサイトメトリー、またはウエスタンブロットである、請求項152記載の方法。

【請求項154】

イムノアッセイがメソスケールディスクアレイを含む、請求項152または請求項153記載の方法。

【請求項155】

イムノアッセイがサンドイッチアッセイまたは架橋アッセイである、請求項152～154のいずれか一項記載の方法。

【請求項156】

結合試薬が第1の結合試薬であり、かつ、複合体の有無を検出する工程が、以下：

（i）工程（a）において形成される複合体を第2の結合試薬と接触させる段階であって、第2の結合試薬が、（1）標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部を含み、かつ、（2）検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、段階、および

（ii）検出可能なシグナルの有無を評価する段階を含む、請求項145～155のいずれか一項記載の方法。

【請求項157】

第1の結合試薬が固体支持体に結合しており、任意で、第1の結合試薬が、直接的もしくは間接的にビオチンに連結されている、および/または、ストレプトアビジンを介して固体支持体に結合している、ならびに/あるいは

第2の結合試薬が可溶性である、請求項156記載の方法。

【請求項158】

第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分が同じである、請求項156または請求項157記載の方法。

【請求項159】

検出可能な標識が、蛍光標識、化学発光標識、エレクトロルミネセンス標識、比色法標識、生物発光標識もしくは放射性標識である、またはそのような標識を含む、ならびに/あるいは

検出可能なシグナルが、蛍光シグナル、化学発光シグナル、エレクトロルミネセンスシグナル、比色法シグナル、生物発光シグナルもしくは放射性シグナルである、またはそのようなシグナルを含む、

請求項150～158のいずれか一項記載の方法。

【請求項160】

検出可能な標識がSULFO-TAGである、またはSULFO-TAGを含む、請求項150～159のいずれか一項記載の方法。

【請求項161】

標的抗体の抗原結合性フラグメントが、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む、請求項145～160のいずれか一項記載の方法。

【請求項162】

標的抗体の抗原結合性フラグメントが一本鎖フラグメントである、請求項145～161のいずれか一項記載の方法。

【請求項163】

標的抗体の抗原結合性フラグメントがscFvである、請求項145～162のいずれか一項記載の方法。

【請求項164】

試料が、全血、血清または血漿を含む、請求項145～163のいずれか一項記載の方法。

【請求項165】

請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イディオタイ

10

20

30

40

50

ブ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲート、ならびに

抗イディオタイプ抗体を使用して、

SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいはSJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するための；

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択または濃縮するための；

SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するための

説明書

10

を含む、製造物品。

【請求項166】

請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲート、ならびに

抗イディオタイプ抗体を使用して、

FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいはFMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するための；

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択または濃縮するための；

20

FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するための

説明書

を含む、製造物品。

【請求項167】

以下を含む、製造物品：

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外ドメインを含む結合試薬であって、該細胞外ドメインまたはその一部分が標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む、結合試薬；ならびに

請求項12～31、33～36および38～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲート。

30

【請求項168】

結合試薬が第1の結合試薬であり、製造物品が、CARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む第2の結合試薬をさらに含む、請求項167記載の製造物品。

【請求項169】

第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分が同じである、請求項167または請求項168記載の製造物品。

【請求項170】

イムノアッセイを使用して、結合試薬に結合する分子の有無について試料をアッセイするために、結合試薬を使用するための、任意で、第1および第2の結合試薬を使用するための、説明書

40

をさらに含み、

任意で、イムノアッセイが架橋イムノアッセイまたはサンドイッチイムノアッセイであり、任意で、試料が、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象から得られている、請求項167～169のいずれか一項記載の製造物品。

【請求項171】

以下を含む、製造物品：

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外ドメインを含む結合試薬であって、該細胞外ドメインまたはその一部分

50

が標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む、結合試薬；ならびに

請求項1～11および29～32、34～37および39～60のいずれか一項記載の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントあるいは請求項61～64のいずれか一項記載のコンジュゲート。

【請求項172】

結合試薬が第1の結合試薬であり、製造物品が、CARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む第2の結合試薬をさらに含む、請求項171記載の製造物品。

【請求項173】

第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分が同じである、請求項171または請求項172記載の製造物品。

10

【請求項174】

イムノアッセイを使用して、結合試薬に結合する分子の有無について試料をアッセイするために、結合試薬を使用するための、任意で、第1および第2の結合試薬を使用するための、説明書をさらに含み、

任意で、イムノアッセイが架橋イムノアッセイまたはサンドイッチイムノアッセイであり、任意で、試料が、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象から得られている、請求項171～173のいずれか一項記載の製造物品。

【請求項175】

結合試薬、任意で、第1および/または第2の結合試薬が検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、請求項167～174のいずれか一項記載の製造物品。

20

【請求項176】

第1および第2の結合試薬の一方が固体支持体に付着されているかまたは固体支持体に付着させることができ、かつ、第1および第2の結合試薬の他方が検出可能な標識であるかまたは検出可能なシグナルを生じさせることができる、請求項168～170および172～175のいずれか一項記載の製造物品。

【請求項177】

固体支持体をさらに含み、任意で、第1および第2の結合試薬の一方が、直接的または間接的にビオチンに連結され、かつ、固体支持体がストレプトアビジン被覆表面を含む、請求項176記載の方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は米国仮特許出願第62/369,008号（2016年7月29日出願、発明の名称「抗体および関連方法」）の優先権の恩典を主張し、その内容は本明細書により、その全体がすべての目的のために参照により組み入れられる。

【0002】

40

配列表の参照による組み込み

本出願は電子的フォーマットでの配列表と一緒に提出されている。配列表は、735042006540SeqList.TXT（2017年7月15日作成、サイズ:86,050バイト）と題されるファイルとして提供される。配列表の電子的フォーマットでの情報はその全体が参照により組み入れられる。

【0003】

分野

本開示はいくつかの局面において、抗CD19抗体部分を、具体的には、キメラ抗原受容体（CAR）を含めて様々な組換え受容体に存在する抗CD19抗体部分を特異的に認識する抗イディオタイプ抗体に関する。本開示はさらに、そのような組換え受容体を発現する細胞（

50

例えば、抗CD19 CAR T細胞など)の特異的な特定または選択を行うための抗イディオタイプ抗体の使用に関する。本開示はさらに、そのような細胞を特異的に活性化するための抗イディオタイプ抗体の使用に関する。

【背景技術】

【0004】

背景

様々な方法が、組換え受容体(例えば、細胞外の抗体・抗原結合ドメインを含有するキメラ抗原受容体(CAR)など)を発現する工学的に改変された細胞を使用する養子細胞療法のために利用可能である。様々な戦略が、そのような細胞の活性を、対象に対してインビトロまたはインビボのいずれかで評価するために利用可能である。改善された方法が、CAR発現細胞の活性を特異的に評価するために必要である。そのような必要性を満たす試薬、組成物および製造物品が提供される。

10

【発明の概要】

【0005】

概要

本明細書には、抗体フラグメント(scFvなど)を含む抗体に、また、抗体フラグメント(scFvなど)を含むキメラ分子、例えば、キメラ抗原受容体などに特異的に結合する作用物質が提供される。また、そのような作用物質が結合する表面(例えば、固体表面など、例えば、プレートまたはビーズ)を含む組成物および製造物品を含めて、そのような作用物質を含有する組成物および製造物品が提供される。本明細書において提供される態様にはまた、抗体またはキメラ分子を含有する、または含有する可能性がある細胞または療法の、検出、使用、操作および/または刺激のためであることを含めて、例えば、CAR発現細胞の検出、刺激または使用などにおいて、そのような作用物質、組成物および物品を使用するという使用および方法が挙げられる。

20

【0006】

いくつかの局面において、抗体は、SJ25C1と称される抗体の可変領域(1つまたは複数)および/またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいはSJ25C1と称される抗体の可変領域(1つまたは複数)および/またはその抗原結合性フラグメントを含有する標的抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいはそのような抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む。いくつかの態様において、作用物質、例えば、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性(ならびに/あるいは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性)を含有する軽鎖可変(VL)領域、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性(ならびに/あるいは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性)を含有する重鎖可変(VH)領域を含有する。

30

【0007】

本明細書には、SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性(ならびに/あるいは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性)を含有するVL領域、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性(ならびに/あるいは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性)を含有するVH領域を含有する抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

40

【0008】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 11もしくは84に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)、または、SEQ ID NO: 1に示されるVH配列に含まれるCDR-H3を含有する重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 14もしくは87に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)、または、SEQ ID NO: 5に示されるVL配列に含ま

50

れるCDR-L3を含有する軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含有する。

【 0 0 0 9 】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列およびCDR-H2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含有するCDR-H1およびCDR-H2を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列およびCDR-L2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含有するCDR-L1およびCDR-L2を含有する。

【 0 0 1 0 】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 9、78、79または80に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82または83に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 11または84に示されるCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 12または85に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 13または86に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 14または87に示されるCDR-L3を含有する。

10

【 0 0 1 1 】

本明細書には、SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含有するCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含有する抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

20

【 0 0 1 2 】

本明細書には、SEQ ID NO: 9、78、79または80のアミノ酸配列を含有するCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82または83のアミノ酸配列を含有するCDR-H2、およびSEQ ID NO: 11または84として示されるアミノ酸配列を含有するCDR-H3、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 12または85のアミノ酸配列を含有するCDR-L1、SEQ ID NO: 13または86のアミノ酸配列を含有するCDR-L2、およびSEQ ID NO: 14または87のアミノ酸配列を含有するCDR-L3を含有する抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【 0 0 1 3 】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントのVH領域はSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含有し、ならびに/あるいは、抗体またはフラグメントのVL領域はSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含有する。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントのVH領域はSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含有し、かつ、抗体またはフラグメントのVL領域はSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含有する。

30

【 0 0 1 4 】

いくつかの態様において、作用物質は、FMC63と称される抗体の可変領域 (1つまたは複数) またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいはFMC63と称される抗体の可変領域 (1つまたは複数) またはその抗原結合性フラグメントを含有する標的抗体に、特異的に結合する、ならびに/あるいは、そのような抗体フラグメントを含有するキメラ分子に対して、例えば、FMC63に由来する抗体可変領域またはその一部分を含有する結合ドメインを例えばscFvの形態などで有するCARなどに対して特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、作用物質、例えば、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有する軽鎖可変 (VL) 領域、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性 (ならびに/あるいは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性) を含有する重鎖可変 (VH) 領域を含有する。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性 (ならびに/ある

40

50

は少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性)を含むVL領域、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性(ならびに/あるいは少なくとも95%もしくは99%の配列同一性、または100%の同一性)を含むVH領域を含有する。

【0015】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、

以下において、 X_3 はTまたはSであり、 X_5 はTまたはSであり、 X_6 はDまたはRであり、 X_8 はYまたはWであり、かつ X_{10} はKまたはNであるアミノ酸配列
GYX₃FX₅X₆YX₈MX₁₀ (SEQ ID NO: 108)

を含む、重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)と；

以下において、 X_4 はDまたはMであり、 X_6 はNまたはHであり、 X_8 はNまたはSであり、 X_9 はNまたはDであり、 X_{10} はGまたはSであり、 X_{11} はGまたはEであり、 X_{13} はDまたはRであり、 X_{14} はYまたはLであり、 X_{17} はNまたはKであり、かつ X_{20} はGまたはDであるアミノ酸配列
WIGX₄IX₆PX₈X₉X₁₀X₁₁TX₁₃X₁₄NQX₁₇FKX₂₀ (SEQ ID NO: 109)

を含む、重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)と；

以下において、 X_2 はRまたはSであり、 X_3 はEまたはIであり、 X_4 はGまたはYであり、 X_5 はNまたはYであり、 X_6 はNまたはEであり、 X_7 はYまたはヌルであり、 X_8 はGまたはヌルであり、 X_9 はSまたはヌルであり、 X_{10} はRまたはヌルであり、 X_{11} はDまたはヌルであり、 X_{12} はAまたはヌルであり、 X_{13} はMまたはヌルであり、 X_{14} はDまたはEであり、かつ X_{15} はYまたはAであるアミノ酸配列

AX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄X₁₅ (SEQ ID NO: 110)

を含む、重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)と

を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、

以下において、 X_1 はSまたはRであり、 X_3 はSまたはRであり、 X_4 はSまたはGであり、 X_5 はGまたはNであり、 X_6 はVまたはIであり、 X_7 はIまたはHであり、 X_8 はNまたはヌルであり、 X_{10} はMまたはLであり、かつ X_{11} はYまたはAであるアミノ酸配列
X₁AX₃X₄X₅X₆X₇X₈YX₁₀X₁₁WY (SEQ ID NO: 111)

を含む、軽鎖相補性決定領域3(CDR-L1)と；

以下において、 X_1 はPまたはLであり、 X_2 はWまたはLであり、 X_3 はIまたはVであり、 X_5 はLまたはNであり、 X_6 はTまたはAであり、 X_7 はSまたはKであり、 X_8 はNまたはTであり、かつ

X_{11} はSまたはDであるアミノ酸配列
X₁X₂X₃YX₅X₆X₇X₈LAX₁₁ (SEQ ID NO: 112)

を含む、軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と；

以下において、 X_2 はQまたはHであり、 X_3 はWまたはFであり、 X_4 はSまたはWであり、 X_5 はSまたはWであり、 X_6 はNまたはTであり、かつ X_8 はLまたはYであるアミノ酸配列
QX₂X₃X₄X₅X₆PX₈T (SEQ ID NO: 113)

を含む、軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)と、を含有する。

【0016】

いくつかの態様において、相補性決定領域3(CDR-H3)は、SEQ ID NO: 94もしくは104に示されるアミノ酸配列を含有し、または、SEQ ID NO: 36もしくは58に示されるVH配列に含まれるCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)は、SEQ ID NO: 97もしくは107に示されるアミノ酸配列を含有し、または、SEQ ID NO: 40もしくは62に示されるVL配列に含まれるCDR-L3を含有する。

【0017】

いくつかの態様において、VH領域は、SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列およびCDR-H2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1およびCDR-H2を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列およびCDR-L2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1およびCDR-L2を含有する。

【0018】

10

20

30

40

50

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 88、89、90、98、99または100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 91、92、93、101、102または103に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 94または104に示されるCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 95または105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 96または106に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 97または107に示されるCDR-L3を含有する。

【0019】

本明細書には、SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含有するCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含有する抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

10

【0020】

本明細書には、SEQ ID NO: 88、89、90、98、99または100のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO: 91、92、93、101、102または103のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO: 94または104として示されるアミノ酸配列を含むCDR-H3、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 95または105のアミノ酸配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO: 96または106のアミノ酸配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO: 97または107のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0021】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO: 36または58のアミノ酸配列を含有し、ならびに/あるいは、抗体またはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO: 40または62のアミノ酸配列を含む。いくつかの例において、抗体またはフラグメントのVH領域は、SEQ ID NO: 36または58のアミノ酸配列を含み、かつ、抗体またはフラグメントのVL領域は、SEQ ID NO: 40または62のアミノ酸配列を含む。

20

【0022】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 44、88、89または90に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 45、91、92または93に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 46または94に示されるCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 47または95に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 48または96に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 49または97に示されるCDR-L3を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 65、98、99または100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 66、101、102または103に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 67または104に示されるCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 68または105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 69または106に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 100または107に示されるCDR-L3を含有する。

30

【0023】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 36に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 40に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含有する。

40

【0024】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、VH領域は、SEQ ID NO: 58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含有し、ならびに/あるいは、VL領域は、SEQ ID NO: 62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含有する。

【0025】

50

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントのVH領域はSEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは、抗体またはフラグメントのVL領域はSEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を含む。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントのVH領域はSEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは、抗体またはフラグメントのVL領域はSEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を含む。

【0026】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントは一本鎖フラグメントである。いくつかの局面において、フラグメントは、柔軟なリンカーによってつながれる抗体可変領域を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、フラグメントはscFvを含有する。

10

【0027】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含有し、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含むscFvである。いくつかの態様において、標的抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含有し、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含むscFvである。

【0028】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントが特異的に結合するエピトープと同じであるかまたは重複する、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントのエピトープに特異的に結合する。

20

【0029】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在し、または、キメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれ、ならびに/あるいは、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは、CARの細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に含有されるかまたはCARの細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる標的抗体または抗原結合性フラグメントと、特異的に結合する。いくつかの態様において、標的抗体または抗原結合性フラグメントはscFvであり、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントはCARのscFvにおけるエピトープに特異的に結合する。

30

【0030】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントは、キメラ抗原受容体の細胞外部分に含まれる抗体SJ25C1由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)に特異的に結合し、任意で、抗体SJ25C1由来のscFvは、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含有し、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントは、キメラ抗原受容体の細胞外部分に含まれる抗体FMC63由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)に特異的に結合し、任意で、抗体FMC63由来のscFvは、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含有し、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含有する。

40

【0031】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは、標的抗体または抗原結合性フラグメントの相補性決定領域(CDR)のすべてまたは一部分の内部にあるエピトープ、あるいは標的抗体または抗原結合性フラグメントの相補性決定領域(CDR)のすべてまたは一部分を含むエピトープに特異的に結合する。

50

【0032】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、CARは、スペーサーを介して抗原結合ドメインに連結される膜貫通ドメインをさらに含有する。いくつかの態様において、スペーサーは、任意でヒトCD28であるCD28からの細胞外部分を含有する。いくつかの局面において、CD28からの細胞外部分は、SEQ ID NO: 27に示されるアミノ酸の配列を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、膜貫通ドメインは、任意でヒトCD28であるCD28の膜貫通部分を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントはCARのスペーサードメインにおけるエピトープに結合しない。

【0033】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントは、SEQ ID NO: 27に示されるアミノ酸配列の配列を任意で含有するCD28の細胞外部分を任意で含有する、任意でヒトCD28であってもよいCD28またはその一部分に結合しない、または特異的に結合しない。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントは、任意でヒトIgG1 FcドメインであるFcドメインにおけるエピトープに結合しない。

【0034】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントはヒトCD19に特異的に結合する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは、別のCARの細胞外の抗原結合ドメインに任意で含まれる別の抗CD19抗体とは交差反応しない。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは別のCARとは交差反応しない。

【0035】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは、標的抗体または抗原結合性フラグメントを含有するCARのアゴニスト抗体である。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体またはフラグメントは、標的抗体または抗原結合性フラグメントを含有するCARのアンタゴニストである。

【0036】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントはヒト化される。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは組換え体である。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントはモノクローナルである。

【0037】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは抗原結合性フラグメントである。いくつかの局面において、抗原結合性フラグメントは、フラグメント抗原結合 (Fab) フラグメント、F(ab')₂ フラグメント、Fab' フラグメント、Fv フラグメント、一本鎖可変フラグメント (scFv) または単一ドメイン抗体の中から選択される。

【0038】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分を含有する。いくつかの態様において、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分は、CH2ドメインおよびCH3ドメインを含有するFc領域または該Fcの一部分を含有する。いくつかの局面において、定常領域はヒトIgGに由来する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントはインタクトな抗体または全長抗体である。

【0039】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、上記態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントと、異種分子または異種部分とを含有するコンジュゲートが提供される。いくつかの態様において、異種分子または異種部分は標識である。いくつかの局面において、標識は、蛍光色素、蛍光タンパク質、放射性同位体、発色団、金属イオン、金粒子、銀粒子、磁性粒子、ポリペプチド、酵素、ストレプトアビジン

、ビオチン、発光化合物またはオリゴヌクレオチドから選択される。いくつかの例において、異種分子または異種部分は、タンパク質、ペプチド、核酸または小分子であり、任意で、これらは、毒素、Strep-Tagであるかまたは、毒素、Strep-Tagを含有する。

【0040】

いくつかの態様において、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントの重鎖および/または軽鎖をコードする核酸分子が提供される。いくつかの局面において、核酸分子は、

(i) SEQ ID NO: 15に示される重鎖可変領域、(ii) SEQ ID NO: 15に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは、

(iv) SEQ ID NO: 19に示される軽鎖可変領域、(v) SEQ ID NO: 19に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列を含有する。

【0041】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、核酸分子は、

(i) SEQ ID NO: 17に示される重鎖、(ii) SEQ ID NO: 17に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは、

(iv) SEQ ID NO: 21に示される軽鎖、(v) SEQ ID NO: 21に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列を含有する。

【0042】

いくつかの態様において、核酸分子は、

(i) SEQ ID NO: 50もしくは71に示される重鎖可変領域、(ii) SEQ ID NO: 50もしくは71に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは、

(iv) SEQ ID NO: 54もしくは75に示される軽鎖可変領域、(v) SEQ ID NO: 54もしくは75に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列を含有する。いくつかの態様において、核酸分子は、

(i) SEQ ID NO: 52もしくは73に示される重鎖、(ii) SEQ ID NO: 52もしくは73に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(iii) (i)もしくは(ii)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは、

(iv) SEQ ID NO: 56もしくは76に示される軽鎖、(v) SEQ ID NO: 56もしくは76に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または(vi) (iv)もしくは(v)の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列を含有する。いくつかの態様において、重鎖および/または軽鎖をコードするヌクレオチド配列はシグナル配列を含有する。

【0043】

本明細書には、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる核酸分子を含有するベクターが提供される。本明細書にはまた、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは本明細書において記載される態様のいずれか一つによる核酸分子を含有する細胞が提供される。

【0044】

10

20

30

40

50

本明細書には、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを製造する方法であって、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる核酸分子または本明細書において記載される態様のいずれか一つによるベクターによってコードされる重鎖および/または軽鎖を適切な宿主細胞において発現させること、および該抗体を回収または単離することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントを製造する方法は、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる細胞を、重鎖および/または軽鎖が発現される条件のもとで培養し、抗体を回収する、または単離することを含む。本明細書にはまた、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる方法によって製造される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

10

【0045】

いくつかの態様において、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、本明細書において記載される態様のいずれか一つによるコンジュゲート、あるいは本明細書において記載される態様のいずれか一つによる細胞を含有する組成物が提供される。任意のそのような態様のいくつかにおいて、組成物は、薬学的に許容される賦形剤をさらに含有する。

【0046】

いくつかの態様において、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、本明細書において記載される態様のいずれか一つによるコンジュゲート、本明細書において記載される態様のいずれか一つによる核酸のうちの1つまたは複数と、任意で、使用説明書とを含有するキットが提供される。いくつかの例において、キットは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいはコンジュゲートを固定化するための試薬または支持体をさらに含有し、ただし、該試薬または支持体は、ビーズ、カラム、マイクロウエル、スティック、フィルター、ストリップ、または可溶性のオリゴマー型ストレプトアビジンムテイン試薬である。

20

【0047】

提供された作用物質のいずれか（例えば、抗イディオタイプ抗体など）を使用する検出方法もまた提供される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメント、例えば、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有するCARなどを検出する方法であって、（a）標的抗体（例えば、抗体SJ25C1に由来する可変領域、または抗体FMC63に由来する可変領域、あるいはそのような抗体のいずれかの抗原結合性フラグメントに由来する可変領域を有する標的抗体など）を含有する組成物を抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントと接触させること、ならびに（b）標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出すること、および/または、標的抗体もしくは作用物質の有無を検出することを含む方法が提供される。

30

【0048】

いくつかの態様において、方法は、（a）抗体FMC63または抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有する、または含有する可能性がある組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートと接触させること、ならびに（b）標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出すること、および/または、標的抗体もしくは作用物質の有無を検出することを含む。

40

【0049】

いくつかの局面において、標的抗体または抗原結合性フラグメントは細胞に結合されているかまたは細胞の表面に発現されており、かつ、（b）において検出することは、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む。いくつかの例において、細胞はその表面に、標的抗体または標的抗原結合性フラグメントを含有するCARを発現する。

【0050】

50

いくつかの態様において、提供された方法は、上記態様のいずれかの標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有するCAR、例えば、FMC63またはSJ25Cに由来する可変ドメインを含有するCARなどを検出することを伴う。いくつかの局面において、方法は、(a) 抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つによるコンジュゲートと接触させること、ならびに (b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む。いくつかの態様において、方法は、(a) 抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートと接触させること、ならびに (b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは検出のために直接的または間接的に標識される。

10

20

30

40

50

【0051】

いくつかの態様において、細胞集団から細胞を選択する方法であって、(a) 標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞集団、または標的抗体に結合した細胞を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つによるコンジュゲートと接触させること、ここで標的抗体は抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントであること、ならびに (b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択することを含む方法を提供する。いくつかの態様において、方法は、(a) 標的抗体を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞集団、または標的抗体に結合した細胞を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートと接触させること、ここで標的抗体は抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントであること、ならびに (b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択することを含む。

【0052】

いくつかの例において、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞は、アフィニティーに基づく分離によって選択される。いくつかの局面において、アフィニティーに基づく分離は、イムノアフィニティーに基づく分離である。任意のそのような態様のいくつかにおいて、アフィニティーに基づく分離はフローサイトメトリーによる分離である。いくつかの態様において、アフィニティーに基づく分離は、磁気活性化細胞選別 (magnetic-activated cell sorting) による分離である。いくつかの局面において、アフィニティーに基づく分離は、アフィニティークロマトグラフィーを含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体は支持体または固定相に可逆的に結合されるかまたは固定化される。

【0053】

提供された方法にはまた、作用物質を使用して細胞を刺激するための方法、例えば、所与の分子 (例えば、抗イディオタイプ抗体によって認識される標的抗体である、またはそのような標的抗体を含有するCARなど) を含有する細胞を刺激するための方法などが挙げられる。いくつかの局面において、方法は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞を含有するインプット組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートとインキュベ

トし、それにより、刺激された細胞を含有するアウトプット組成物を生じさせることを伴う。いくつかの態様において、方法は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体（CAR）を発現する細胞を含有するインプット組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートとインキュベートし、それにより、刺激された細胞を含有するアウトプット組成物を生じさせることを含む。

【0054】

いくつかの態様において、方法は、キメラ受容体（例えば、抗Id抗体によって認識されるCARなど）を発現する細胞の増殖、活性化、刺激、サイトカイン放出または他の機能的結果（例えば、活性化マーカーのアップレギュレーションまたはサイトカインの放出もしくはは産生など）をもたらす。いくつかの局面において、そのような増殖または他の機能的な応答もしくははリードアウト（readout）が、そのような細胞と、T細胞の増殖を刺激する作用物質および/または条件（例えば、抗CD3/CD28ビーズおよび/または架橋された抗CD3など）とのインキュベーションによって誘発されるのと類似する、またはそれ以上である程度にそのような細胞において誘発される。いくつかの局面において、方法は、抗イディオタイプ抗体を架橋することは伴わない。これらの態様のいずれかのいくつかの局面において、抗イディオタイプ作用物質は、抗イディオタイプ抗体の架橋を伴わない場合において、指定された増殖または機能的結果またはそれらの程度を誘発することができる。いくつかの局面において、本明細書における抗イディオタイプ作用物質は、抗Id抗体の架橋または二次的作用物質の使用を必要とすることなく、標的受容体を発現するT細胞または他の免疫細胞の特定の機能的結果を刺激することができる、または引き起こすことができることにおいて好都合である。いくつかの局面において、結果が、可溶性形態またはプレート結合形態の抗イディオタイプ抗体を用いて達成される。いくつかの局面において、結果が、ビーズにカップリングされた抗イディオタイプ抗体を用いて達成される。

10

20

【0055】

いくつかの態様において、細胞組成物を製造する方法であって、（a）キメラ抗原受容体（CAR）をコードする核酸分子を細胞に導入し、それにより、インプット組成物を生じさせること、および（b）インプット組成物を、CARの抗原受容体に対して特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、細胞組成物を製造することを含む方法を提供する。

30

【0056】

いくつかの局面において、CARは、CD19に特異的に結合する標的抗体を含有する。いくつかの態様において、標的抗体は抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントである。いくつかの場合において、標的抗体は抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つの抗体FMC63である標的抗体に特異的に結合する。

40

【0057】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、（a）において導入することは、ウイルス形質導入、転移、エレクトロポレーションまたは化学的トランスフェクションによって核酸分子を細胞に導入することを含む。いくつかの例において、（a）において導入することは、核酸分子を含有するレトロウイルスベクターによる形質導入によって核酸分子を細胞に導入することを含み、任意で、ウイルスベクターはレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである。いくつかの局面において、（a）において導入することは、核酸分子を含有するトランスポゾンによる転移によって核酸分子を細胞に導入すること

50

を含む。いくつかの例において、(a)において導入することは、核酸分子を含むベクターのエレクトロポレーションまたはトランスフェクションによって核酸分子を細胞に導入することを含む。

【0058】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、方法はさらに、細胞を工程(a)の前に活性化する工程を含む。いくつかの局面において、細胞を活性化する工程は、細胞をCD3のアゴニストと、任意で、CD28のアゴニストと接触させることを含む。いくつかの例において、細胞を活性化する工程は、細胞を、アゴニスト的な抗CD3抗体および抗CD28抗体を含有する試薬と接触させることを含む。

【0059】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントがCARに結合し、それにより、シグナルをインプット組成物における1つまたは複数の細胞において誘導または調節する条件のもとでインキュベーションが実施される。そのような態様のいずれにおいても、細胞はT細胞を含有する。いくつかの例において、T細胞は、CD4+および/またはCD8+のT細胞を含有する。

【0060】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは固体支持体に固定化され、任意で、固体支持体は、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含有する試薬を含有し、あるいはそのような試薬にコンジュゲートされる。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは可溶性試薬に固定化され、任意で、可溶性試薬は抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位であるか、あるいは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含有する。いくつかの局面において、試薬はストレプトアビジンを含む。

【0061】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、インキュベーションは、少なくともまたはおよそ少なくとも5分間、10分間、30分間、60分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間である。

【0062】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、インプット組成物は、組成物における総細胞に対する百分率として、60%未満もしくは約60%未満、50%未満もしくは約50%未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満のCAR発現細胞を含有する。

【0063】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、アウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、インプット組成物におけるCAR発現細胞の数と比較して、1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍またはそれ以上を超えて増加し、ならびに/あるいは、組成物における総細胞と比較した場合のアウトプット組成物におけるCAR発現の百分率が、10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%またはそれ以上を超えて増大する。

【0064】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、導入および/またはインキュベーションの前に、細胞は、CAR発現細胞についての選択または濃縮は行われぬ。

【0065】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含有する。

10

20

30

40

50

【0066】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合性フラグメントを精製する方法であって、(a)抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有する組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つによるコンジュゲートと接触させること、ならびに(b)抗イディオタイプ抗体を含有する複合体を単離することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、方法は、(a)抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有する組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する記載された態様のいずれか一つの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートと接触させること、ならびに(b)抗イディオタイプ抗体を含む複合体を単離することを含む。

10

【0067】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体を含有する複合体は、アフィニティーに基づく分離によって単離される。いくつかの局面において、アフィニティーに基づく分離は、イムノアフィニティーに基づく分離である。いくつかの例において、アフィニティーに基づく分離は、磁気に基づく分離である。いくつかの態様において、アフィニティーに基づく分離はアフィニティークロマトグラフィーを含む。

20

【0068】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントを特定する方法であって、(a)可溶化部分に融合された標的抗体の抗原結合性フラグメントを含有する可溶性の免疫化試薬を対象に導入すること、および(b)標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する対象由来の抗体を特定することを含む方法が提供される。

20

【0069】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗原結合性フラグメントは標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含有する。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントは一本鎖フラグメントである。いくつかの局面において、抗原結合性フラグメントはscFvである。任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗原結合性フラグメントはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在し、またはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる。

30

【0070】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、可溶化部分は、任意でヒトIgG1 FcであるFcドメインまたはそのフラグメントである。いくつかの局面において、可溶化部分は、ヒンジ領域を欠くFcドメインである。いくつかの例において、可溶化部分は、SEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含有する。

【0071】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗体を特定することは、(i)B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製すること、(ii)ハイブリドーマを、標的抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいは抗原結合性フラグメントを含有するキメラ抗原受容体と特異的に結合する抗体の産生についてスクリーニングすること、および(iii)特異的に結合する抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、それにより、抗イディオタイプ抗体を特定することを含む。

40

【0072】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体はCD19に結合する。いくつかの態様において、標的抗体の抗原結合性フラグメントは抗体SJ25C1に由来し、任意で、標的抗体の抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体の抗原結合性フラグメントは、抗体SJ25C1に由来する一本鎖可変フラグ

50

メント (scFv) であり、任意で、scFvは、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含有する。いくつかの態様において、標的抗体の抗原結合性フラグメントは抗体FMC63に由来し、任意で、標的抗体の抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含有する。いくつかの態様において、標的抗体の抗原結合性フラグメントは、抗体FMC63に由来する一本鎖可変フラグメント (scFv) であり、任意で、scFvは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含有する。

【0073】

いくつかの態様において、細胞を枯渇させる方法であって、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する本明細書において記載される態様のいずれか一つによる抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つによるコンジュゲートを含む組成物を対象に投与することを含み、対象は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞が投与されたことがある、方法が提供される。いくつかの態様において、方法は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する本明細書において記載される態様のいずれか一つの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは記載された態様のいずれか一つのコンジュゲートを含む組成物を対象に投与することを含み、対象は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞が投与されたことがある。いくつかの態様において、枯渇化は、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害 (ADCC) を介して起こる。

10

20

【0074】

本明細書には、キメラ抗原受容体 (CAR) に結合する分子の有無を明らかにする方法であって、(a) 結合試薬と、結合試薬に結合する試料由来の分子とを含有する複合体を形成させるための条件のもとで、結合試薬を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させる工程であって、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有するCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む、工程、および (b) 複合体の有無を検出し、それにより、CARと結合する分子の有無を明らかにする工程を含む方法が提供される。いくつかの態様において、方法はさらに、工程 (a) および工程 (b) を陽性対照試料に対して行うこと、ならびに、任意で、前記分子の有無を陽性対照との比較によって明らかにすることを含み、陽性対照試料が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントのいずれか、あるいは本明細書において記載されるコンジュゲートのいずれかを含有する。

30

【0075】

本明細書には、キメラ抗原受容体 (CAR) に結合する分子の有無を明らかにする方法であって、(a) 結合試薬と、結合試薬に結合する試料由来の分子とを含む複合体を形成させるための条件のもとで、結合試薬を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するCARにより工学的に改変された細胞を含有する細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させる工程であって、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたは該細胞外ドメインの一部分を含む、工程、および (b) 複合体の有無を検出する工程を含む方法が提供される。いくつかの態様において、方法はさらに、工程 (a) および工程 (b) を陽性対照試料に対して行うこと、ならびに、任意で、前記分子の有無を陽性対照との比較によって明らかにすることを含み、陽性対照試料が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する本明細書において記載されるような抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントのいずれか、あるいは本明細書において記載されるコンジュゲートのいずれかを含有する。

40

【0076】

50

任意のそのような態様のいくつかにおいて、結合試薬に結合する分子は抗体であるかまたは抗体を含有する。いくつかの態様において、結合試薬は検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる。いくつかの例において、結合試薬は固体支持体に結合しているかまたは可溶性である。

【0077】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、複合体はイムノアッセイによって検出される。いくつかの例において、イムノアッセイは、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、化学発光アッセイ、電気化学発光アッセイ、表面プラズモン共鳴 (SPR) に基づくバイオセンサー (例えば、BIAcore)、フローサイトメトリー、またはウエスタンブロットである。いくつかの態様において、イムノアッセイはメソスケールディスカバリー (meso scale discovery) を含む。いくつかの場合において、イムノアッセイはサンドイッチアッセイまたは架橋アッセイである。

10

【0078】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、結合試薬は第1の結合試薬であり、かつ、複合体の有無を検出することは、下記の工程を含む: (i) 工程 (a) において形成される複合体を第2の結合試薬と接触させる段階であって、第2の結合試薬が、(1) 標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含有し、かつ、(2) 検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、段階、および (ii) 検出可能なシグナルの有無を評価する段階。いくつかの局面において、第1の結合試薬は固体支持体に結合しており、任意で、第1の結合試薬は、直接的もしくは間接的にビオチンに連結され、および/または、ストレプトアビジンを介して固体支持体に結合され、ならびに/あるいは、第2の結合試薬は可溶性である。いくつかの場合において、第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分は同じである。

20

【0079】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、検出可能な標識は、蛍光標識、化学発光標識、エレクトロルミネセンス標識、比色法標識、生物発光標識もしくは放射性標識であるかまたはそのような標識を含有し、ならびに/あるいは、検出可能なシグナルは、蛍光シグナル、化学発光シグナル、エレクトロルミネセンスシグナル、比色法シグナル、生物発光シグナルもしくは放射性シグナルであるかまたはそのようなシグナルを含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、検出可能な標識はSULFO-TAGであるかまたはSULFO-TAGを含有する。

30

【0080】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体の抗原結合性フラグメントは標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含有する。任意のそのような態様のいくつかにおいて、標的抗体の抗原結合性フラグメントは一本鎖フラグメントである。いくつかの態様において、標的抗体の抗原結合性フラグメントはscFvである。

【0081】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、試料は、全血、血清または血漿を含む。

【0082】

本明細書には、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントのいずれか、あるいは記載されるコンジュゲートのいずれか、ならびに、抗イディオタイプ抗体を使用して、SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいはSJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するための、また、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントを含有するキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択または濃縮するための、また、SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するための説明書、を含有する製造物品が提供される。

40

【0083】

50

本明細書には、本明細書において記載されるような抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントのいずれか、あるいは本明細書において記載されるコンジュゲートのいずれか、ならびに、抗イディオタイプ抗体を使用して、FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいはFMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するための、また、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択または濃縮するための、また、FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するための説明書、を含有する製造物品が提供される。

【0084】

本明細書には、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) の細胞外ドメインを含む結合試薬であって、該細胞外ドメインまたはその一部分が標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有する結合試薬と、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント、あるいは本明細書において記載されるコンジュゲートのいずれかとを含有する製造物品が提供される。いくつかの態様において、結合試薬は第1の結合試薬であり、製造物品はさらに、CARの細胞外ドメインまたはその一部分を含有する第2の結合試薬を含む。

【0085】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分は同じである。

【0086】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、製造物品は、免疫アッセイを使用して、結合試薬に結合する分子の有無について試料をアッセイするために、結合試薬を使用するための、任意で、第1および第2の結合試薬を使用するための説明書をさらに含み、任意で、免疫アッセイが架橋免疫アッセイまたはサンドイッチ免疫アッセイであり、任意で、試料は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象から得られている。

【0087】

本明細書には、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) の細胞外ドメインを含有する結合試薬であって、細胞外ドメインまたはその一部分が標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有する、結合試薬と、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントあるいは本明細書において記載されるコンジュゲートとを含有する製造物品が提供される。

【0088】

いくつかの態様において、結合試薬は第1の結合試薬であり、製造物品は、CARの細胞外ドメインまたはその一部分を含有する第2の結合試薬をさらに含有する。いくつかの局面において、第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分は同じである。

【0089】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、製造物品は、免疫アッセイを使用して、結合試薬に結合する分子の有無について試料をアッセイするために、結合試薬を使用するための、任意で、第1および第2の結合試薬を使用するための説明書をさらに含み、任意で、免疫アッセイが架橋免疫アッセイまたはサンドイッチ免疫アッセイであり、任意で、試料は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象から得られている。

【0090】

いくつかの態様において、結合試薬、任意で、第1および/または第2の結合試薬は検出

10

20

30

40

50

可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる。いくつかの場合において、第1および第2の結合試薬の一方は、固体支持体に付着されているかまたは固体支持体に付着させることができ、かつ、第1および第2の結合試薬の他方は、検出可能な標識であるかまたは検出可能なシグナルを生じさせることができる。いくつかの態様において、製造物品はさらに固体支持体を含み、ただし、任意で、第1および第2の結合試薬の一方が、直接的または間接的にビオチンに連結され、かつ、固体支持体がストレプトアビジン被覆表面を含む。

【図面の簡単な説明】

【0091】

【図1】SJ25C1由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体クローンA-1（抗ID A-1）が、Erk 1/2リン酸化を、SJ25C1由来のCARにより工学的に改変されたJurkat細胞において刺激する、機能的活性を評価するためのフローサイトメトリーの結果を示す。抗CD3抗体による活性化を陽性対照として含めた。非刺激またはアイソタイプ対照刺激の細胞を陰性対照として含めた。

10

【図2A】抗CD3抗体（OKT3）、抗ID A-1抗イディオタイプ抗体、または抗ID B-1抗イディオタイプ抗体による刺激の後でフローサイトメトリーを使用して色素希釈によって評価された場合の、SJ25C1由来の結合ドメイン（図2A）を含有するCARを発現するT細胞の増殖についてのアッセイからの結果を示す。非刺激細胞を陰性対照として含めた。

【図2B】抗CD3抗体（OKT3）、抗ID A-1抗イディオタイプ抗体、または抗ID B-1抗イディオタイプ抗体による刺激の後でフローサイトメトリーを使用して色素希釈によって評価された場合の、FMC63由来の結合ドメイン（図2B）を含有するCARを発現するT細胞の増殖についてのアッセイからの結果を示す。非刺激細胞を陰性対照として含めた。

20

【図2C-1】フローサイトメトリーを使用して色素希釈によって評価された場合の、CARの結合ドメインを認識するプレート結合-抗イディオタイプ抗体によって刺激されることの存在下で培養した後における、（色素標識された）T細胞のモック形質導入増殖およびCAR形質導入増殖についてのアッセイからの結果を示す。

【図2C-2】フローサイトメトリーを使用して色素希釈によって評価された場合の、CARの結合ドメインを認識するプレート結合-抗イディオタイプ抗体によって刺激されることの存在下で培養した後における、（色素標識された）T細胞のモック形質導入増殖およびCAR形質導入増殖についてのアッセイからの結果を示す。

30

【図2C-3】フローサイトメトリーを使用して色素希釈によって評価された場合の、CARの結合ドメインを認識するプレート結合-抗イディオタイプ抗体によって刺激されることの存在下で培養した後における、（色素標識された）T細胞のモック形質導入増殖およびCAR形質導入増殖についてのアッセイからの結果を示す。

【図3】プレート結合-抗CD3抗体（OKT3）、抗ID A-1、または抗ID B-1による刺激の後でフローサイトメトリーによって評価された場合の、SJ25C1由来の可変領域を有するCARを発現するCD4⁺ T細胞またはCD8⁺ T細胞におけるT細胞活性化の2つのマーカー（CD69およびCD25）の発現の評価についての結果を示す。

【図4】プレート結合-抗CD3抗体（OKT3）、抗ID A-1、または抗ID B-1、あるいは陰性対照の非標的抗イディオタイプ抗体による刺激の後でフローサイトメトリーによって評価された場合の、FMC63由来の可変領域を有する結合ドメインを含むCARを発現するCD4⁺ T細胞またはCD8⁺ T細胞におけるT細胞活性化の2つのマーカー（CD69およびCD25）の発現の評価についての結果を示す。非刺激細胞を陰性対照として含めた。

40

【図5】CAR結合ドメインを認識する抗ID B-1抗体および抗ID B-2抗体を所与の濃度範囲で陽性対照として使用する、抗CAR抗体を検出するための架橋ELISAからの結果を示す。

【図6】抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズ、または対照のCD3/CD28抗体被覆ビーズの示された比率によりサイトカインの存在下または非存在下で刺激されるEGFRt⁺/CD4⁺ T細胞の増殖倍率および累積細胞数をそれぞれ示す。

【図7】抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズ、または対照のCD3/CD28抗体被覆ビーズの示された比率によりサイトカインの存在下または非存在下で刺激される

50

EGFRt + /CD8 + T細胞の増殖倍率および累積細胞数をそれぞれ示す。

【図 8】培養の3日目、7日目、10日目および14日目にフローサイトメトリーによって評価された場合の、抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズ、または対照のCD3/CD28抗体被覆ビーズの示された比率によるサイトカインの存在下または非存在下での刺激の後における、抗EGFR抗体による染色について陽性、したがって、形質導入マーカ-EGFRtについて陽性であるCD4 + T細胞のPD-1発現レベルを示す。

【図 9】培養の3日目、7日目、10日目および14日目にフローサイトメトリーによって評価された場合、抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズ、または対照のCD3/CD28抗体被覆ビーズの示された比率によるサイトカインの存在下または非存在下での刺激の後においてフローサイトメトリーによって評価されるような、FMC63由来CARを発現するCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞の生存性を示す。

【図 10 A - 1】FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズによる刺激の後における、FMC63由来のCARを発現するT細胞のIL-2についての細胞内サイトカイン染色を示す。EGFRtの代用形質導入マーカ-について陽性または陰性（EGFR + またはEGFRt -）であるCD8 + T細胞についての結果が示される。

【図 10 A - 2】FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズによる刺激の後における、FMC63由来のCARを発現するT細胞のTNF についての細胞内サイトカイン染色を示す。EGFRtの代用形質導入マーカ-について陽性または陰性（EGFR + またはEGFRt -）であるCD8 + T細胞についての結果が示される。

【図 10 A - 3】FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズによる刺激の後における、FMC63由来のCARを発現するT細胞のIFN についての細胞内サイトカイン染色を示す。EGFRtの代用形質導入マーカ-について陽性または陰性（EGFR + またはEGFRt -）であるCD8 + T細胞についての結果が示される。

【図 10 B - 1】抗原発現するK562-CD19細胞による刺激の後における、FMC63由来のCARを発現するT細胞のIL-2、およびTNF についての細胞内サイトカイン染色を示す。CAR発現の代用として抗EGFR抗体について陽性であるCD8 + T細胞の結果が示される。

【図 10 B - 2】抗原発現するK562-CD19細胞による刺激の後における、FMC63由来のCARを発現するT細胞のIFN についての細胞内サイトカイン染色を示す。CAR発現の代用として抗EGFR抗体について陽性であるCD8 + T細胞の結果が示される。

【図 11】抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズ、または対照の抗CD3/抗CD28抗体被覆ビーズの示された比率によるサイトカインの存在下または非存在下での刺激の後における、FMC63由来scFv由来のCARを発現するT細胞の14日間の培養期間にわたる連続刺激アッセイでの集団倍加数を示す。EGFRtの代用形質導入マーカ-について陽性であるCD4 + T細胞（EGFRt + /CD4 + ）、またはEGFRtについて陽性であるCD8 + T細胞（EGFRt + /CD8 + ）についての結果が示される。

【図 12 - 1】図12A～図12Cは、単独で培養される、または、FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズとの共培養物として培養される、FMC63由来のCARを発現するCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞の刺激後の結果を示す。結果が、2名の異なるドナーについて示される。図12Aは、EGFRtの代用形質導入マーカ-について陽性であった培養物中のCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞（EGFRt + /CD4 + またはEGFRt + /CD8 + ）の増殖倍数を示す。

【図 12 - 2】図12A～図12Cは、単独で培養される、または、FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズとの共培養物として培養される、FMC63由来のCARを発現するCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞の刺激後の結果を示す。結果が、2名の異なるドナーについて示される。図12Bは、EGFRtについて陽性であった培養物中のCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞（EGFRt + /CD4 + またはEGFRt + /CD8 + ）の頻度を示す。図12Cは、培養物中のCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞の生存性を示す。

【図 13】図13Aおよび図13Bは、単独で培養される、または、FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）で被覆されたビーズとの共培養物として培養される、FMC63由来のCARを発現するCD4 + T細胞またはCD8 + T細胞の刺激の後における培養の5日目

10

20

30

40

50

、7日目および9日目でのT細胞表面マーカーについてのフローサイトメトリーの結果を示す。図13Aは、EGFRtの代用形質導入マーカーについて陽性であった培養物中のCD4+ T細胞またはCD8+ T細胞（EGFRt+/CD4+またはEGFRt+/CD8+）におけるPD-1の表面発現を示す。図13Bは、CAR発現についての代用として抗EGFR抗体について陽性であった培養物中のCD4+ T細胞またはCD8+ T細胞（EGFRt+/CD4+またはEGFRt+/CD8+）におけるCD25の表面発現を示す。

【図14A】CD19発現K562細胞またはPMA/イオノマイシンのいずれかとの培養で増殖していた、FMC63由来CARを発現するT細胞を含有する、解凍された組成物に存在するCD4+ T細胞またはCD8+ T細胞のフローサイトメトリーによって評価された場合の、TNF、IFNおよびIL-2の細胞内サイトカインレベルを示す。単独での、または共培養物としてのCD4+ T細胞およびCD8+ T細胞におけるサイトカインのレベルが、解凍時（d=0）、または抗ID B-1コンジュゲート化ビーズの存在下でのさらに9日間のさらなる培養の後において示される。

【図14B】CD19発現K562細胞またはPMA/イオノマイシンのいずれかとの培養で増殖していた、FMC63由来CARを発現するT細胞を含有する、解凍された組成物に存在するCD4+ T細胞またはCD8+ T細胞のフローサイトメトリーによって評価された場合の、CD25またはKi67について陽性である細胞の頻度を示す。単独での、または共培養物としてのCD4+ T細胞およびCD8+ T細胞におけるマーカーのレベルが、解凍時（d=0）、または抗ID B-1コンジュゲート化ビーズの存在下でのさらに9日間のさらなる培養の後において、示される。

【図15】図15Aおよび図15Bは、細胞を抗EGFR抗体またはFMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1および抗ID B-2）により染色した結果を描くグラフを示す。図15Aは、異なる濃度の抗体により染色された細胞の平均蛍光強度を描くグラフを示す。細胞は、PBMCと、CAR発現細胞との混合物を含んでいた。図15Bは、異なる濃度の抗体により染色された細胞において検出される、FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）でのCAR発現細胞の百分率を描くグラフを示す。細胞は、PBMCと、CAR発現細胞との混合物、および単独でのPBMCを含んでいた。

【発明を実施するための形態】

【0092】

詳細な説明

本明細書には、抗CD19抗体部分（例えば、キメラ抗原受容体を含めて様々な組換え受容体に存在する抗CD19抗体部分など）を特異的に認識する作用物質、例えば、抗イディオタイプ抗体および抗原結合性フラグメント（例えば、scFvを含めて、一本鎖フラグメントなど）などが提供される。また、標的抗体またはフラグメントを発現する、または含む細胞（例えば、抗CD19 CAR T細胞など）を特異的に特定するための、選択するための、ならびに/あるいは刺激するための、および/または活性化するためのものを含めて、その使用および使用方法、ならびにそのような作用物質を含む組成物および製造物品が提供される。いくつかの態様において、提供された抗体は、様々な抗CD19 CAR（例えば、細胞表面に結合しているかまたは発現しているCARなど）の特異的な特定および/または選択のために使用することができ、また、標的CARを発現する細胞（例えば、CAR T細胞など）を特異的に活性化するためにも使用することができる。いくつかの態様において、SJ25C1またはFMC63と称される抗CD19抗体に対して特異的である抗体、または、そのような抗体に由来する可変領域を含有する抗体およびCAR、ならびに/あるいは、それらに含まれるイディオトープを含有する抗体を含めてそのような抗体に由来する抗体フラグメントが提供される。

【0093】

いくつかの局面において、提供された抗イディオタイプ抗体は、CARを発現する細胞、具体的には、抗CD19抗体scFvの細胞外ドメイン、または認識されたイディオタイプを含有する細胞外ドメインを含有するCARを発現する細胞を検出するための、特定するための、操作するための、および/または変化させるための、および/または工学的に改変するための従来試薬と比較して、様々な利点をもたらす。ある特定の利用可能な方法において、試料におけるCARまたはCAR発現細胞の有無または量の検出（ならびに/あるいはCARの刺激

または操作)が、代用分子(例えば、CARをコードする構築物に含まれ、したがって、その発現についての間接的マーカーまたは代用マーカーとして役立つ分子など)の有無または量を評価することによって行われる。ある特定の利用可能な方法において、検出が、一般的な抗体試薬、および/または、例えば、抗原結合領域以外は類似する、もしくは同一であるドメインを有し得る他のCARと比較して、評価される特定のCARについて特異的でない試薬を使用して行われ、この場合、例えば、そのような抗体には、CARドメインが由来した種に由来するスペーサーまたは他のドメインを認識する抗種抗体、ならびに/あるいは、標的のスペーサー領域において、また、同様に他のキメラ受容体において使用される特定の構成成分を認識する抗体が含まれることがある。CARの有無を検出するために設計されたある特定の利用可能な方法において、検出が、CAR定常領域を認識する作用物質を使用して行われる。ある特定の利用可能な方法において、CAR細胞が、一般的な試薬(例えば、抗CD3/CD28を認識する作用物質など)の使用により刺激される。ある特定の方法では、CARの組換えリガンド(例えば、CD19-Fc)が使用される。ある特定の状況におけるそのような方法は、完全に満足できるものでないことがあり、および/または、ある特定の制限を有することがある。いくつかの場合において、CARリガンド(例えば、CD19など)は、例えば、複雑なフローサイトメトリーパネルでの使用については、必ずしも完全に効果的でないことがある。改善された感度および/または選択性を提供する方法および作用物質を含めて、改善された方法および作用物質が必要とされる。本明細書には、そのようなニーズを満たす態様が提供される。

10

20

【0094】

提供された抗イディオタイプ抗体および抗原結合性フラグメントはいくつかの態様において、標的抗体リガンドに伴う低い結合アフィニティー、および標的抗体定常領域に向けられる抗体試薬に伴う非特異的結合の課題を克服し、これにより、その標的抗体またはその抗原結合性フラグメントについての大きいアフィニティーおよび特異性の両方を有する試薬を提供する。いくつかの態様において、提供された抗体は、その標的抗体または抗原結合性フラグメント(例えば、SJ25C1またはFMC63と称される抗CD19抗体など)について、CARの検出または特定ののために現在利用可能なCD19-Fcおよび他の試薬と比較して、より大きい特異性および結合アフィニティーを呈する。

【0095】

さらに、ある特定の態様において、その標的抗体または抗原結合性フラグメントを含むキメラ受容体のアゴニストまたはアンタゴニストとして選択され得る抗イディオタイプ抗体および抗原結合性フラグメントは、そのようなキメラ受容体とその表面に結合しているかまたは発現している細胞の選択的な検出、単離、除去および/または枯渇化(例えば、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)を介する殺傷)、ならびに/あるいは刺激または活性化を可能にする。本明細書には、SJ25C1またはFMC63と称される抗CD19抗体に由来する細胞外の結合ドメインを含有するCARを刺激する(例えば、活性化など)活性を呈する抗イディオタイプ抗体アゴニストが提供される。いくつかの局面において、そのような抗体は、CAR発現細胞の作製および調製のためのプロセスにおける使用を含めて、特異的CAR発現細胞を刺激する方法、および増殖させる方法において使用することができる。

30

40

【0096】

本明細書にはまた、提供された抗イディオタイプ抗体およびフラグメントをコードする核酸、そして、これらの抗イディオタイプ抗体およびフラグメントを発現する細胞(例えば、組換え細胞など)、ならびに、これらの抗イディオタイプ抗体およびフラグメントを製造するための細胞(例えば、組換え細胞など)が提供される。また、抗イディオタイプ抗体およびフラグメント、同様にまた、抗イディオタイプ抗体およびフラグメントを発現する、または含有する細胞を作製する方法、および使用する方法が提供される。

【0097】

本願において言及する刊行物は、特許文書、科学論文およびデータベースを含めてすべて、個々の刊行物が個別に参照により本明細書に組み入れられた場合と同じ程度に、参照によりその全体があらゆる目的で本明細書に組み入れられる。本明細書において示す定義

50

が、参照により本明細書に組み入れられる特許、出願、出願公開および他の刊行物において示された定義に反するか、または他の形で一致しない場合は、本明細書において示す定義が、参照により本明細書に組み入れられる定義に優先する。

【0098】

本明細書において使用されるセクション見出しは構成上の目的のためだけであり、記載される主題を限定するものとして解釈してはならない。

【0099】

1. 抗イディオタイプ抗体

いくつかの局面において、結合性分子、例えば、標的抗CD19抗体部分の特異的に認識する抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント（「抗ID」）などが提供される。いくつかの態様において、提供された抗体は、SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである、あるいはSJ25C1に由来する抗体または抗原結合性フラグメントである、標的抗CD19抗体を認識する。いくつかの態様において、提供された抗体は、FMC63またはその抗原結合性フラグメントである、あるいはFMC63に由来する抗体または抗原結合性フラグメントである、標的抗CD19抗体を認識する。

【0100】

SJ25C1は、ヒト起源のCD19を発現するNalm-1細胞およびNalm-16細胞に対して惹起されたマウスモノクローナルIgG1抗体である（Ling, N.R., ら（1987）. Leucocyte typing II 1.302）。SJ25C1抗体は、SEQ ID NO: 114～116にそれぞれ示されるCDRH1、H2およびH3、ならびにSEQ ID NO: 117～119にそれぞれ示されるCDRL1、L2およびL3の配列を含む。SJ25C1抗体は、SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（V_H）と、SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域（V_L）とを含む。

【0101】

いくつかの態様において、標的抗体はSJ25C1またはSJ25C1由来の抗体である。いくつかの態様において、SJ25C1由来の抗体は、SJ25C1のV_Hおよび/またはV_L、SJ25C1のイディオタイプ、SJ25C1のパラトープ、あるいはSJ25C1の1つまたは複数の相補性決定領域（CDR）を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、SJ25C1またはSJ25C1由来の抗体である標的抗体は、SEQ ID NO: 23に示されるSJ25C1のV_H、またはSEQ ID NO: 23に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 24に示されるSJ25C1のV_L、またはSEQ ID NO: 24に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、SJ25C1またはSJ25C1由来の抗体である標的抗体は、SEQ ID NO: 23に示されるSJ25C1のV_H、またはSEQ ID NO: 23に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体と、SEQ ID NO: 24に示されるSJ25C1のV_L、またはSEQ ID NO: 24に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体とを含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 23およびSEQ ID NO: 24にそれぞれ示されるSJ25C1のV_HおよびV_Lを含む。いくつかの態様において、変異体は、SEQ ID NO: 23および/またはSEQ ID NO: 24に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の配列同一性を有する。

【0102】

いくつかの態様において、SJ25C1またはSJ25C1由来の抗体である標的抗体は、SEQ ID NO: 23に示されるSJ25C1 V_Hの1つまたは複数の重鎖CDR（CDR-H）（例えば、SEQ ID NO: 114～116に示される重鎖CDR（CDR-H）など）、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 24に示されるSJ25C1 V_Lの1つまたは複数の軽鎖CDR（CDR-L）（例えば、SEQ ID NO: 117～119に示される軽鎖CDR（CDR-L）など）を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、SJ25C1のCDR-H3（例えば、SEQ ID NO: 116に示されるCDR-H3）および/またはSJ25C1のCDR-L3（例えば、SEQ ID NO: 119に示されるCDR-L3）を含む。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、SJ25C1のCDR-H3およびCDR-L3（例えば、SEQ ID NO: 116および119にそれぞれ示さ

10

20

30

40

50

れるCDR-H3およびCDR-L3)を含む。いくつかの態様において、SJ25C1またはSJ25C1由来の抗体である標的抗体は、SJ25C1のCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 114、115、116にそれぞれ示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)の1つまたは複数、ならびに/あるいは、SJ25C1のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 117、118、119にそれぞれ示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)の1つまたは複数を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、SJ25C1またはSJ25C1由来の抗体である標的抗体は、SJ25C1のCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 114、115、116にそれぞれ示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)、ならびに/あるいは、SJ25C1のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 117、118、119にそれぞれ示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは抗原結合性フラグメントを含み、例えば、フラグメント抗原結合(Fab)、F(ab')₂、Fab'、フラグメント可変(Fv)または一本鎖Fv(scFv)などを含む。例えば、Bejcek, B.E.ら(1995).Cancer research.55(11):2346-2351を参照のこと。

10

【0103】

FMC63は、ヒト起源のCD19を発現するJVM3細胞に対して惹起されたマウスモノクローナルIgG1抗体である(Nicholsonら(1997).Molecular Immunology.34(16-17):1157-1165)。FMC63抗体は、SEQ ID NO: 120~122にそれぞれ示されるCDRH1、H2およびH3、ならびに、SEQ ID NO: 123~125にそれぞれ示されるCDRL1、L2およびL3の配列を含む。FMC63抗体は、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(V_H)と、SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(V_L)とを含む。

20

【0104】

いくつかの態様において、標的抗体はFMC63またはFMC63由来の抗体である。いくつかの態様において、FMC63由来の抗体は、FMC63のV_Hおよび/またはV_L、FMC63のイデオタイプ、FMC63のパラトープ、あるいはFMC63の1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、FMC63またはFMC63由来の抗体である標的抗体は、SEQ ID NO: 30に示されるFMC63のV_H、またはSEQ ID NO: 30に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 31に示されるFMC63のV_L、またはSEQ ID NO: 31に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、FMC63またはFMC63由来の抗体である標的抗体は、SEQ ID NO: 30に示されるFMC63のV_H、またはSEQ ID NO: 30に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体、および、SEQ ID NO: 31に示されるFMC63のV_L、またはSEQ ID NO: 31に対する少なくとも90%の配列同一性を有するその変異体を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 30およびSEQ ID NO: 31にそれぞれ示されるFMC63のV_HおよびV_Lを含む。いくつかの態様において、変異体は、SEQ ID NO: 30および/またはSEQ ID NO: 31に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の配列同一性を有する。

30

40

【0105】

いくつかの態様において、FMC63またはFMC63由来の抗体である標的抗体は、SEQ ID NO: 30に示されるFMC63 V_Hの1つまたは複数の重鎖CDR(CDR-H)(例えば、SEQ ID NO: 120~122に示される重鎖CDR(CDR-H)など)、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 31に示されるFMC63 V_Lの1つまたは複数の軽鎖CDR(CDR-L)(例えば、SEQ ID NO: 123~125に示される軽鎖CDR(CDR-L)など)を含む抗体または抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、FMC63のCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 122に示されるCDR-H3)および/またはFMC63のCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 125に示さ

50

れるCDR-L3)を含む。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、FMC63のCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 122に示されるCDR-H3)およびCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 125に示されるCDR-L3)を含む。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、FMC63のCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 120、121、122にそれぞれ示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)の1つまたは複数、ならびに/あるいは、FMC63のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 123、124、125にそれぞれ示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)の1つまたは複数を含む。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、FMC63のCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 120、121、122にそれぞれ示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)、ならびに/あるいは、FMC63のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 123、124、125にそれぞれ示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)を含む。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは、FMC63のCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3(例えば、SEQ ID NO: 120、121、122にそれぞれ示されるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3)、ならびに、FMC63のCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3(例えば、SEQ ID NO: 123、124、125にそれぞれ示されるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3)を含む。いくつかの態様において、抗体または抗原結合性フラグメントは抗原結合性フラグメントを含み、例えば、フラグメント抗原結合(Fab)、F(ab')₂、Fab'、フラグメント可変(Fv)または一本鎖Fv(scFv)などを含む。

10

【0106】

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、SJ25C1またはFMC63に由来する可変ドメイン(Fv)(例えば、一本鎖Fv(scFv)など)に特異的に結合する抗体を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、Fvの特定のエピトープまたは領域に対して、一般には、1つまたは複数の相補性決定領域を含むエピトープまたは領域に対して特異的に結合する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、Fvパラトープと重複するエピトープまたは領域に特異的に結合する。

20

【0107】

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、標的キメラ抗原受容体(CAR)の細胞外ドメインの一部として含まれるSJ25C1由来またはFMC63由来の抗CD19部分に特異的に結合する抗体を含む。いくつかの態様において、標的CARは、SJ25C1抗体分子またはFMC63抗体分子あるいはSJ25C1抗体またはFMC63抗体の抗原結合性フラグメントまたは抗原結合部分を含む。いくつかの態様において、標的CARは、抗体SJ25C1または抗体FMC63のVH鎖およびVL鎖に由来するscFvである抗原結合ドメインを含む。いくつかの態様において、抗体SJ25C1または抗体FMC63に由来するscFvを含む抗CD19 CARに特異的に結合する抗イディオタイプ抗体が提供される。CARの例示的特徴が以下でさらに記載される。

30

【0108】

本明細書における用語「抗体」は最も広義に使用され、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を包含し、インタクトな抗体および機能的な(抗原結合性)抗体フラグメント、例えば、フラグメント抗原結合性(Fab)フラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fab'フラグメント、Fvフラグメント、組換えIgG(rIgG)フラグメント、一本鎖抗体フラグメント(一本鎖可変フラグメント(scFv)および単一ドメイン抗体(例えば、sdAb、sdFv、ナノボディ)フラグメントを含む)を包含する。この用語は、遺伝子改変された形態および/または他の方法で改変された形態の免疫グロブリン、例えば、イントラボディ(intrabody)、ペプチボディ(peptibody)、キメラ抗体、完全ヒト抗体、ヒト化抗体、およびヘテロコンジュゲート抗体、多重特異性(例えば、二重特異性)抗体、ダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディ、タンデム型ジ-scFv、タンデム型トリ-scFvなどを包含する。特に明記しない限り、用語「抗体」は、その機能的な抗体フラグメントを包含するように理解されなければならない。この用語はまた、インタクトな抗体または完全長抗体を包含し、これには、IgGおよびそのサブクラス、IgM、IgE、IgA、ならびにIgDを含めて任意のクラスまたはサブクラスの抗体が含まれる。

40

50

【0109】

用語「抗イディオタイプ抗体」は、抗体のイディオトープ（例えば、抗原結合性フラグメントなど）を特異的に認識する、抗体のイディオトープ（例えば、抗原結合性フラグメントなど）を特異的に標的とする、および/または抗体のイディオトープ（例えば、抗原結合性フラグメントなど）に特異的に結合する抗体（その抗原結合性フラグメントを含む）を指す。抗体のイディオトープには、抗体の相補性決定領域（CDR）、抗体の可変領域、ならびに/あるいはそのような可変領域および/またはそのようなCDRの部分的部分または一部分、ならびに/あるいは前記の任意の組合せのうちの1つまたは複数に含まれる残基を含み得るが、これらに必ずしも限定されない。CDRは、CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3、CDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3からなる群より選択される1つまたは複数であり得る。抗体の可変領域は、重鎖可変領域、軽鎖可変領域、または重鎖可変領域と軽鎖可変領域との組合せであり得る。抗体の重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域の部分フラグメントまたは一部分は、2個以上、5個以上、または10個以上の連続したアミノ酸、例えば、約2個～約100個、約5個～約100個、約10個～約100個、約2個～約50個、約5個～約50個、または約10個～約50個の連続したアミノ酸を抗体の重鎖可変領域または軽鎖可変領域に含むフラグメントであってもよく、イディオトープは、複数の連続しないアミノ酸区域を含んでもよい。抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域の部分フラグメントは、2個以上、5個以上、または10個以上の連続したアミノ酸、例えば、約2個～約100個、約5個～約100個、約10個～約100個、約2個～約50個、約5個～約50個、または約10個～約50個の連続したアミノ酸を可変領域に含むフラグメントであってもよく、いくつかの態様においては1つまたは複数のCDRまたはCDRフラグメントを含有してもよい。CDRフラグメントは、CDR内の連続する、または不連続である2個以上、または5個以上のアミノ酸であり得る。したがって、抗体のイディオトープは、1つもしくは複数のCDRまたは1つもしくは複数のCDRフラグメントを抗体の重鎖可変領域または軽鎖可変領域の中に含有する約2個～約100個、約5個～約100個、約10個～約100個、約2個～約50個、約5個～約50個、または約10個～約50個の連続したアミノ酸であってもよい。別の態様において、イディオトープは、抗体の可変領域（例えば、CDR部位）に位置する1個だけのアミノ酸であることがある。

10

20

【0110】

いくつかの態様において、イディオトープは、抗体の可変部分の内部における任意の1つだけの抗原決定基またはエピトープである。いくつかの場合において、イディオトープは抗体の実際の抗原結合部位と重なることができ、また、いくつかの場合においては、イディオトープは可変領域配列を抗体の抗原結合部位の外側に含んでもよい。抗体の個々のイディオトープのセットがいくつかの態様においては、そのような抗体の「イディオタイプ」として示される。

30

【0111】

「相補性決定領域」および「CDR」という用語が「超可変領域」または「HVR」と同義であって、抗原特異性および/または結合アフィニティーを付与する抗体可変領域内の不連続なアミノ酸の配列を指すことは、当技術分野において公知である。一般に、各重鎖可変領域中に3つのCDR（CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3）が存在し、各軽鎖可変領域中に3つのCDR（CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3）が存在する。「フレームワーク領域」および「FR」が、重鎖および軽鎖の可変領域の非CDR部分を指すことは、当技術分野において公知である。一般に、各完全長重鎖可変領域中に4つのFR（FR-H1、FR-H2、FR-H3、およびFR-H4）が存在し、各完全長軽鎖可変領域中に4つのFR（FR-L1、FR-L2、FR-L3、およびFR-L4）が存在する。

40

【0112】

所与のCDRまたはFRの正確なアミノ酸配列の境界は、Kabat et al. (1991) 「Sequences of Proteins of Immunological Interest」5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD（「Kabat」ナンバリングスキーム）、Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948（「Chothia」ナンバリングスキーム）、MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) 「Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography」J. Mol. Biol. 262, 732-745（「コンタクト

50

」ナンバリングスキーム)、Lefranc MP et al.「IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains」Dev Comp Immunol, 2003 Jan;27(1):55-77(「IMGT」ナンバリングスキーム)、およびHonnegger A and Pluckthun A「Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool」J Mol Biol, 2001 Jun 8;309(3):657-70(「Aho」ナンバリングスキーム)に記載されているものを含めて、いくつかある周知のスキームのいずれかを使って容易に決定することができる。

【0113】

所与のCDRまたはFRの境界は、同定に使用するスキームに依存して変動しうる。例えば、Kabatスキームは構造アライメントに基づき、一方、Chothiaスキームは構造情報に基づく。KabatスキームとChothiaスキームはどちらのナンバリングも最も一般的な抗体領域配列長に基づいており、挿入には挿入文字、例えば「30a」で適応し、一部の抗体には欠失が現れる。これら2つのスキームは一定の挿入および欠失(「インデル」)を異なる位置に置くことで、差異のあるナンバリングをもたらす。コンタクトスキームは、複合体結晶構造の解析に基づき、多くの点でChothiaナンバリングスキームに類似している。

【0114】

Kabat、Chothia、およびコンタクトスキームによってそれぞれ規定されるCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の例示的位置境界を、下記表1に列挙する。CDR-H1については、KabatナンバリングスキームとChothiaナンバリングスキームの両方を使って残基ナンバリングを列挙する。FRは、例えばFR-L1がCDR-L1とCDR-L2の間に位置するなど、CDRの間に位置する。表示のKabatナンバリングスキームは挿入をH35AおよびH35Bに置くので、Chothia CDR-H1ループの末端は、表示のKabatナンバリング法を使ってナンバリングすると、ループの長さ依存してH32とH34の間で変動することに注意されたい。

【0115】

(表1)

CDR	Kabat	Chothia	コンタクト
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L30--L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Kabatナンバリング ¹)	H31--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
CDR-H1 (Chothiaナンバリング ²)	H31--H35	H26--H32	H30--H35
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H93--H101

1 - Kabat et al. (1991)「Sequences of Proteins of Immunological Interest」5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD

2 - Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273, 927-948

【0116】

したがって、別段の指定がある場合を除き、所与の抗体またはその一領域(例えばその可変領域)の「CDR」、すなわち「相補性決定領域」、または個々の指定されたCDR(例えばCDR-H1、CDR-H2)は、上述のスキームのいずれかによって規定される相補性決定領域(またはその指定相補性決定領域)を包含すると理解すべきである。例えば、ある特定CDR(例えばCDR-H3)が所与のV_Hアミノ酸配列またはV_Lアミノ酸配列中の対応するCDRのアミノ酸配列を含有するという場合、そのようなCDRは上述のスキームのいずれかによって規定される可変領域内の対応するCDR(例えばCDR-H3)の配列を有すると理解すべきである。いくつかの態様では、指定されたCDR配列が明示される。

【0117】

同様に、別段の指定がある場合を除き、所与の抗体またはその一領域(例えばその可変領域)のFRまたは個々の指定されたFR(例えばFR-H1、FR-H2)は、公知のスキームのいず

れかによって規定されるフレームワーク領域（またはその指定フレームワーク領域）を包含すると理解すべきである。いくつかの例では、特定のCDR、FR、または複数のFRもしくは複数のCDRを同定するためのスキームが、Kabat、Chothia、またはコンタクト法によって規定されるCDRなどというように、指定される。他の場合には、CDRまたはFRの特定アミノ酸配列が与えられる。

【0118】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体重鎖または抗体軽鎖のうち、抗原への抗体の結合に関与するドメインを指す。ネイティブ抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン（それぞれ V_H および V_L ）は一般に類似する構造を有し、各ドメインは4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と3つのCDRとを含んでいる（例えばKindt et al. *Kuby Immunology*, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい）。抗原結合特性を付与するには単一の V_H ドメインまたは V_L ドメインで十分でありうる。さらにまた、特定の抗原に結合する抗体は、その抗原に結合する抗体からの V_H ドメインまたは V_L ドメインを使って、それぞれ相補的な V_L ドメインまたは V_H ドメインのライブラリーをスクリーニングすることにより、単離することができる。例えばPortolano et al., *J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson et al., *Nature* 352:624-628 (1991)を参照されたい。

10

【0119】

ここに提供する抗体には抗体フラグメントが含まれる。「抗体フラグメント」とは、インタクトな抗体ではない分子であって、インタクトな抗体のうち、インタクトな抗体が結合する抗原に結合する部分を含む分子を指す。抗体フラグメントの例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、 $F(ab')_2$ ；ダイアボディ；線状抗体；一本鎖抗体分子（例えばscFv）；および抗体フラグメントから形成された多重特異性抗体があるが、それらに限定されるわけではない。特定の態様において、抗体は、可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む一本鎖抗体フラグメント、例えばscFvである。

20

【0120】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全部もしくは一部または抗体の軽鎖可変ドメインの全部もしくは一部を含む抗体フラグメントである。一定の態様において、単ドメイン抗体はヒト単ドメイン抗体である。

【0121】

抗体フラグメントは、例えば限定するわけではないが、インタクトな抗体のタンパク質分解的消化および組換え宿主細胞による生産などといった、さまざまな技法によって製造することができる。いくつかの態様において、抗体は組換え生産されたフラグメント、例えば自然には見いだされない編成を含むフラグメント、例えば2つ以上の抗体領域または抗体鎖が合成リンカー（例えばペプチドリンカー）で連結されているもの、および/または天然のインタクトな抗体の酵素消化では生産され得ないものである。いくつかの局面において、抗体フラグメントはscFvである。

30

【0122】

「ヒト化」抗体は、すべてまたは実質的にすべてのCDRアミノ酸残基が非ヒトCDRに由来し、かつ、すべてまたは実質的にすべてのフレームワーク領域（FR）アミノ酸残基がヒトFRに由来する抗体である。いくつかの態様において、非ヒト抗体（例えば、マウス抗体）のヒト化形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含有するキメラ抗体である。ある特定の態様において、ヒト化抗体は、非ヒト種からの1つまたは複数の相補性決定領域（CDR）と、ヒト免疫グロブリン分子からのフレームワーク領域（FR）とを有する、非ヒト種に由来する抗体である。いくつかの態様において、ヒト化抗体は任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部分を含み得る。非ヒト抗体の「ヒト化形態」とは、元になる非ヒト抗体の特異性およびアフィニティーを保ちつつ、典型的にはヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化を受けた該非ヒト抗体の変異体を指す。いくつかの態様において、ヒト化抗体におけるいくつかのFR残基が、例えば、抗体の特異性またはアフィニティーを回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、CDR残基の由来源である

40

50

抗体)の対応残基で置換される。(例えば、Queen、米国特許第5,585,089号、およびWinter、米国特許第5,225,539号を参照のこと。)そのようなキメラな、かつヒト化されたモノクローナル抗体は当技術分野において公知の組換えDNA技術によって製造することができる。

【0123】

ある特定の態様において、ヒト化抗体は、ヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)であり、該レシピエントの重鎖可変領域からの残基が、所望の特異性、アフィニティーおよび/または能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)(例えば、マウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類など)の重鎖可変領域からの残基によって置換される。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのFR残基が、対応する非ヒト残基によって置換される。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体において見いだされない残基を含むことがある。いくつかの態様において、ヒトの可変重鎖および可変軽鎖をコードする核酸配列が、ヒト(アクセプター)配列の1つまたは複数のCDR配列を、非ヒト抗体配列(ドナー配列)におけるそれぞれのCDRをコードする配列によって置き換えるために変化させられる。いくつかの態様において、ヒトアクセプター配列は、異なる遺伝子に由来するFRを含むことがある。特定の態様において、ヒト化抗体は、超可変ループのすべてまたは実質的にすべてが非ヒト免疫グロブリンの超可変ループに対応し、かつ、FRのすべてまたは実質的にすべてがヒト免疫グロブリン配列のFRである少なくとも1つの可変ドメインの、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含むであろう。いくつかの態様において、ヒト化抗体は任意で、免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部分もまた、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域(Fc)の少なくとも一部分もまた含むであろう。さらなる詳細については、例えば、Jonesら、Nature 321:522-525 (1986); Riechmannら、Nature 332:323-329 (1988); およびPresta, Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596 (1992)を参照のこと。例えば、VaswaniおよびHamilton, Ann.Allergy, Asthma & Immunol.1:105-115 (1998); Harris, Biochem.Soc.Transactions 23:1035-1038 (1995); Hurle およびGross, Curr.Op.Biotech.5:428-433 (1994); ならびに米国特許第6,982,321号および同第7,087,409号(これらは参照によって本明細書に組み入れられる)もまた参照のこと。いくつかの態様において、本明細書には、ヒト化抗イディオタイプ抗体が提供される。

【0124】

特定の態様において、抗体、例えば、抗イディオタイプ抗体がヒト化される。ある特定の態様において、抗体は任意の適切な公知手段によってヒト化される。例えば、いくつかの態様において、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入される1つまたは複数のアミノ酸残基を有することができる。これらの非ヒトアミノ酸残基は「インポート」残基として示されることが多く、この「インポート」残基は典型的には、「インポート」可変ドメインから取られる。特定の態様において、ヒト化を本質的には、Winterおよび共同研究者の方法(Jonesら(1986) Nature 321:522-525; Riechmannら(1988) Nature 332:323-327; Verhoeyenら(1988) Science 239:1534-1536)に従うことによって、例えば、超可変領域配列をヒト抗体の対応配列に代わって使用することによって行うことができる。したがって、そのような「ヒト化」抗体は、実質的にインタクトでないヒト可変ドメインが非ヒト種からの対応配列によって置換されているキメラ抗体である(米国特許第4,816,567号)。ある特定の態様において、ヒト化抗体は、いくつかの超可変領域残基と、おそらくはいくつかのFR残基とが齧歯類抗体における類似部位からの残基によって置換されるヒト抗体である。

【0125】

続いて、全長抗体をコードする配列を、得られた可変重鎖配列および可変軽鎖配列をヒトの定常重鎖領域および定常軽鎖領域につなぐことによって得ることができる。適切なヒト定常軽鎖配列には、カッパおよびラムダの定常軽鎖配列が含まれる。適切なヒト定常重鎖配列には、IgG1、IgG2、および免疫刺激特性を与えているIgG1変異体をコードする配列が含まれる。そのような変異体は、補体および/または抗体に依存的な細胞性細胞傷害を

活性化する能力が低下していることがあり、米国特許第5,624,821号;WO99/58572、米国特許第6,737,056号に記載される。適切な定常重鎖にはまた、置換E233P、L234V、L235A、A327G、A330S、P331Sと、残基236の欠失とを含むIgG1が含まれる。別の態様において、全長抗体は、IgA、IgD、IgE、IgM、IgYまたはIgWの配列を含む。

【0126】

適切なヒトドナー配列を、マウスドナー配列によってコードされるペプチド配列を一群のヒト配列に対して配列比較することによって、好ましくは、ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子または成熟抗体遺伝子によってコードされる配列に対して配列比較することによって決定することができる。大きい配列相同性を有するヒト配列、好ましくは最大の相同性が決定されたヒト配列が、ヒト化プロセスのためのアクセプター配列として役立ち得る。

10

【0127】

ヒトCDRをマウスCDRに交換することに加えて、ヒトドナー配列におけるさらなる操作が、最適化された特性（例えば、抗原のアフィニティーなど）を有するヒト化抗体をコードする配列を得るために行われることがある。

【0128】

さらには、改変されたヒトアクセプター抗体可変ドメイン配列もまた、非ヒトドナー配列に対応する軽鎖可変領域の位置4、35、38、43、44、46、58、62、64、65、66、67、68、69、73、85、98、および重鎖可変領域の位置2、4、36、39、43、45、69、70、74、75、76、78、92のうちの（Kabatナンバリングシステムに従う）1つまたは複数のアミノ酸をコードするようにされることがある（CarterおよびPresta、米国特許第6,407,213号）。

20

【0129】

特定の態様において、抗体は、抗原についての大きいアフィニティーおよび他の好ましい生物学的特性を保持しながらヒト化されることが一般に望ましい。この目的を達成するために、いくつかの態様において、ヒト化抗体が、親配列および様々な概念的ヒト化産物を、親配列およびヒト化配列の三次元モデルを使用して分析するプロセスによって調製される。三次元の免疫グロブリンモデルが一般に入手可能であり、当業者にはよく知られている。選択された候補免疫グロブリン配列の確からしい三次元立体配座構造を例示し、表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらの表示体を詳しく調べることにより、候補免疫グロブリン配列の機能発現における残基の起こり得る役割の分析、すなわち、候補免疫グロブリンがその抗原に結合する能力に影響を及ぼす残基の分析が可能になる。このようにして、FR残基をレシピエント配列および移入配列から選択し、組み合わせ、その結果、所望の抗体特性が、例えば、標的抗原（1つまたは複数）についての増大したアフィニティーなどが達成されるようにすることができる。一般には、超可変領域残基が、抗原結合に影響を与えることにおいて直接的かつ最も実質的に関与する。

30

【0130】

特定の態様において、ヒト化抗体を作製する際に使用されるためのヒト可変ドメイン（軽鎖および重鎖の両方）の選択が、抗原性を低下させるために重要であり得る。いわゆる「最良適合」法によれば、齧歯類抗体の可変ドメインの配列が、公知のヒト可変ドメイン配列のライブラリー全体に対してスクリーニングされる。その後、齧歯類の配列に最も近いヒト配列がヒト化抗体のためのヒトフレームワークとして受け入れられる。例えば、Simsら（1993）*J. Immunol.* 151:2296; Chothiaら（1987）*J. Mol. Biol.* 196:901を参照のこと。別の方法では、軽鎖または重鎖の特定のサブグループのすべてのヒト抗体のコンセンサス配列に由来する特定のフレームワークが使用される。同じフレームワークが、いくつかの異なるヒト化抗体のために使用されることがある。例えば、Carterら（1992）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285; Prestaら（1993）*J. Immunol.*, 151:2623を参照のこと。

40

【0131】

ここに提供する抗体はヒト抗体である。「ヒト抗体」は、ヒトまたはヒト細胞によって生産されるアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を持つか、ヒト抗体レパトリーまたは他のヒト抗体コード配列（例えばヒト抗体ライブラリー）を利用する非ヒト供給源によっ

50

て生産されるアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を持つ抗体である。非ヒト抗原結合領域を含む非ヒト抗体のヒト化型、例えばCDRのすべてまたは実質上すべてが非ヒトであるものは、この用語から除外される。

【0132】

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を持つインタクトな抗体を生産するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することによって調製しうる。そのような動物は、典型的には、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部であって、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換えているか、染色体外に存在するか、動物の染色体にランダムに組み込まれているものを含有する。そのようなトランスジェニック動物において内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に不活化されている。ヒト抗体は、ヒトレパートリーに由来する抗体コード配列を含有するファージディスプレイおよび無細胞ライブラリーを含むヒト抗体ライブラリーからも誘導されうる。

10

【0133】

ここに提供する抗体には、モノクローナル抗体（モノクローナル抗体フラグメントを含む）が含まれる。本明細書において使用する「モノクローナル抗体」という用語は、実質上均一な抗体の集団から得られる抗体またはそのような集団内にある抗体を指す。すなわち集団を構成する個々の抗体は、天然の突然変異を含有する変異体またはモノクローナル抗体調製物の生産中に生じる変異体が考えられる点を除けば同一であり、そのような変異体の存在量は一般に微量である。典型的には異なるエピトープを指向する異なる抗体を含むポリクローナル調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、ある抗原上の単一エピトープを指向する。この用語は、何らかの特定の方法による抗体の生産を必要とすると解釈してはならない。モノクローナル抗体は、例えば限定するわけではないが、ハイブリドーマからの生成、組換えDNA法、ファージディスプレイ、および他の抗体ディスプレイ法など、さまざまな技法によって製造しうる。

20

【0134】

A. SJ25C1由来の抗体

いくつかの態様において、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである、あるいは抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントに由来する標的抗CD19抗体に対して特異的な抗イディオタイプ抗体が提供される。いくつかの態様において、提供された抗体または抗原結合性フラグメントはSJ25C1由来のscFvに対して特異的である。

30

【0135】

いくつかの態様において、SEQ ID NO: 1に示されるV_H領域のアミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む、例えば、該アミノ酸配列に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を含む重鎖可変（V_H）領域を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0136】

いくつかの態様において、SEQ ID NO: 11もしくは84に示されるアミノ酸配列を有する重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）、および/またはSEQ ID NO: 1に示される重鎖可変（V_H）配列に含まれるCDR-H3を含有する重鎖可変（V_H）領域を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

40

【0137】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO: 9、78、79もしくは80に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、および/またはSEQ ID NO: 1に示されるV_H配列に含まれるCDR-H1、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 10、81、82もしくは83に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域2（CDR-H2）、および/またはSEQ ID NO: 1に示されるV_H配列に含まれるCDR-H2を含む。

【0138】

重鎖相補性決定領域1（CDR-H1）、CDR-H2およびCDR-H3を含む重鎖可変（V_H）領域を含み、CDR-H1が、SEQ ID NO: 9、78、79もしくは80に示されるアミノ酸配列を含み、CDR-H2

50

が、SEQ ID NO: 10、81、82もしくは83に示されるアミノ酸配列を含み、および/またはCDR-H3が、SEQ ID NO: 11もしくは84に示されるアミノ酸配列を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。いくつかの態様において、SEQ ID NO: 9、78、79もしくは80に示されるアミノ酸配列を有するCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82もしくは83に示されるアミノ酸配列を有するCDR-H2、および、SEQ ID NO: 11もしくは84に示されるアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0139】

SEQ ID NO: 1に示されるV_H領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3のアミノ酸配列をそれぞれ含む重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、CDR-H2およびCDR-H3を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

10

【0140】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO: 1に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも90%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列および/またはFR4配列を含有する。いくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO: 1に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列および/またはFR4配列を含有する。いくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO: 1に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3およびFR4に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列およびFR4配列を含有する。

20

【0141】

そのような態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO: 1に示されるアミノ酸の配列を有する。

【0142】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは重鎖のみであり、V_Hのみであり、および/または、V_Lもしくはその抗原結合部分を含まず、ならびに/あるいは、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントの抗原結合部位は重鎖由来の残基のみを含む、および/または軽鎖由来の残基を含まない。

30

【0143】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは軽鎖可変 (V_L) 領域を含有せず、CDR-L1、CDR-L2および/またはCDR-L3を含有せず、ならびに/あるいは、V_H領域のみを含有する単ドメイン抗体 (sdAb) である。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、記載されるようないずれかに由来するV_H領域を含有するだけであるsdAbである。

【0144】

上記V_H領域配列のいずれかを含有する抗イディオタイプ抗体またはフラグメントのいずれかのいくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは軽鎖可変 (V_L) 領域をさらに含む。いくつかのそのような態様において、V_L領域は、SEQ ID NO: 5に示されるV_L領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有し、例えば、SEQ ID NO: 5に示されるV_L領域アミノ酸配列に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を有する。

40

【0145】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 14または87に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含む。任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 14または87に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) を含む。

【0146】

50

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 12もしくは85に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、および/またはSEQ ID NO: 5に示される V_L 配列に含まれるCDR-L1、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 13もしくは86に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および/またはSEQ ID NO: 5に示される V_L 配列に含まれるCDR-L2を含む。任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 12もしくは85に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、および/またはSEQ ID NO: 5に示される V_L 配列に含まれるCDR-L1、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 13もしくは86に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および/またはSEQ ID NO: 5に示される V_L 配列に含まれるCDR-L2を含む。

10

【0147】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 12もしくは85に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L1、SEQ ID NO: 13もしくは86に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L2、および、SEQ ID NO: 14もしくは57に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L3を含む。

【0148】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 5に示される V_L 領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む。

【0149】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 5に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも90%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1)、FR2、FR3および/またはFR4を含む。いくつかの態様において、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 5に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列および/またはFR4配列を含む。いくつかの態様において、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 5に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3およびFR4に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列およびFR4配列を含む。

20

30

【0150】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 5に示されるアミノ酸配列を有する。

【0151】

SEQ ID NO: 1に示される V_H 領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 5に示される軽鎖可変 (V_L) 領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0152】

SEQ ID NO: 1および5に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するアミノ酸配列をそれぞれ有する V_H 領域および V_L 領域を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

40

【0153】

いくつかの態様において、SEQ ID NO: 1および5に示されるアミノ酸配列をそれぞれ有する V_H 領域および V_L 領域を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0154】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_H 領域および V_L 領域はSEQ ID NO: 1および5のアミノ酸配列をそれぞれ含む。

【0155】

50

いくつかの態様において、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントに対して特異的な抗イディオタイプ抗体は一本鎖抗体フラグメントであり、例えば、scFvまたはダイアボディなどである。いくつかの態様において、一本鎖抗体は、2つの抗体ドメインまたは領域（例えば、可変重鎖（ V_H ）領域および可変軽鎖（ V_L ）など）をつなぐ1つまたは複数のリンカーを含む。リンカーは典型的にはペプチドリンカーであり、例えば、柔軟性および/または可溶性のペプチドリンカーである。リンカーには、グリシンおよびセリン、ならびに/あるいは、場合によってはトレオニンに富むリンカーが挙げられる。いくつかの態様において、リンカーはさらに、溶解性を改善することができる荷電残基（例えば、リシンおよび/またはグルタミン酸など）を含む。いくつかの態様において、リンカーはさらに、1つまたは複数のプロリンを含む。

10

【0156】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体はインタクトな抗体または全長抗体である。いくつかの態様において、抗IDは免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分（例えば、1つまたは複数の定常領域ドメインなど）を含有してもよい。いくつかの態様において、定常領域は軽鎖定常領域（CL）および/または重鎖定常領域1（CH1）を含む。いくつかの態様において、抗IDはCH2ドメインおよび/またはCH3ドメインを含み、例えば、Fc領域などを含む。いくつかの態様において、Fc領域はヒトIgG（例えば、IgG1またはIgG4など）のFc領域である。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 2に示されるCHドメインまたはその一部分、あるいは、SEQ ID NO: 2またはその一部分に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含有する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 6に示されるCLドメインまたはその一部分、あるいは、SEQ ID NO: 6またはその一部分に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含有する。

20

【0157】

いくつかの態様において、SJ25C1について特異的な抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 3に示される重鎖配列、または、SEQ ID NO: 3に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%もしくは99%の配列同一性を呈する配列を含み、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 7に示される軽鎖配列、または、SEQ ID NO: 7に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%もしくは99%の配列同一性を呈する配列を含む。いくつかの態様において、SJ25C1について特異的な抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 3に示される重鎖配列、および/またはSEQ ID NO: 7に示される軽鎖配列を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体の重鎖および/または軽鎖はシグナルペプチドをさらに含む。いくつかの場合において、シグナルペプチドは、SEQ ID NO: 4またはSEQ ID NO: 8に示される配列を有する。

30

【0158】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントは、フラグメント抗原結合（Fab）フラグメント、 $F(ab')_2$ フラグメント、Fab'フラグメント、Fvフラグメント、一本鎖可変フラグメント（scFv）または単一ドメイン抗体からなる群より選択される。

40

【0159】

したがって、2つの抗イディオタイプ抗体ドメインまたは領域（例えば、 V_H ドメインと V_L ドメインなど）をつなぐリンカー（1つまたは複数）を典型的には含む一本鎖抗体フラグメント（例えば、scFvおよびダイアボディなど）、特にヒト一本鎖フラグメントが提供される。リンカーは典型的にはペプチドリンカーであり、例えば、柔軟性および/または可溶性のペプチドリンカー、例えば、グリシンおよびセリンに富むリンカーなどである。

【0160】

いくつかの局面において、グリシンおよびセリン（および/またはトレオニン）に富む

50

リンカーは、少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98または99%のそのようなアミノ酸を含む。いくつかの態様において、リンカーは、少なくとも50%、55%、60%、70%もしくは75%または少なくとも約50%、55%、60%、70%もしくは75%のグリシン、セリンおよび/またはトレオニンを含む。いくつかの態様において、リンカーは実質的にはもっぱら、グリシン、セリンおよび/またはトレオニンで構成される。リンカーは、一般には長さが約5個～約50個の間のアミノ酸であり、典型的には長さが10個または約10個と、30個または約30個の間のアミノ酸であり、例えば、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個または30個のアミノ酸であり、いくつかの例では長さが10個～25個の間のアミノ酸である。例示的リンカーとして、

10

配列

GGGS (3GS; SEQ ID NO: 29)またはGGGGS (4GS; SEQ ID NO: 26)

の様々な繰り返し数を有するリンカー、例えば、そのような配列の、2回、3回、4回～5回の間での繰り返しを有するリンカーなどが挙げられる。例示的リンカーとして、

SEQ ID NO: 25 (GGGGSGGGGSGGGGS)

に示される配列を有するリンカー、または該配列からなるリンカーが挙げられる。例示的リンカーとしてはさらに、

SEQ ID NO: 33 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG)

に示される配列を有するリンカー、または該配列からなるリンカーが挙げられる。

20

【0161】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体には、単離された抗体が含まれる。いくつかの態様において、抗IDは、ヒト化型、組換え型および/またはモノクローナルである。いくつかの態様において、抗IDはヒト型である。

【0162】

いくつかの態様において、SJ25C1について特異的な抗イディオタイプ抗体はヒト化される。特定の態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体のすべてまたは実質的にすべてのCDRアミノ酸残基が、抗SJ25C1非ヒトCDRに由来する。いくつかの態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含む。

【0163】

ある特定の態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体には、ヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)であって、該レシピエントの重鎖可変領域からの残基が、SJ25C1について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体の重鎖可変領域からの残基によって置換されるものが含まれる。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのFR残基が、対応する非ヒト残基によって置換される。いくつかの態様において、ヒト化抗体は、異なる遺伝子に由来するFRを含有する。いくつかの態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、免疫グロブリン定常領域(Fc)の少なくとも一部分を含有し、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域(Fc)の少なくとも一部を含有する。

30

【0164】

いくつかの態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、非ヒトドナー配列に対応する軽鎖可変領域の位置4、35、38、43、44、46、58、62、64、65、66、67、68、69、73、85、98(Kabat)、および重鎖可変領域の位置2、4、36、39、43、45、69、70、74、75、76、78、92(Kabat)のうちの1つまたは複数のアミノ酸残基をコードするようにされている改変されたヒトアクセプター抗体可変ドメイン配列を含有する。

40

【0165】

ある特定の態様において、SJ25C1について特異的な抗イディオタイプ抗体はヒト化される。特定の態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SJ25C1について特異的である非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、および

50

CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の領域の1つまたは複数を含有する。いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の領域のいくつかまたはすべてが、1つまたは複数のアミノ酸修飾を含有する。いくつかの態様において、非ヒトアミノ酸残基をヒト残基で置換する修飾。特定の態様において、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つまたは複数が、ヒト抗体のFR領域に挿入される。特定の態様において、非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3は、SEQ ID NO: 1および5に示されるアミノ酸配列をそれぞれ有するVH領域およびVL領域のCDRである。いくつかの態様において、SJ25C1について特異的な抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3のすべてが、ヒト抗体のFRに挿入される。特定の態様において、これらのCDR領域およびFR領域は、Kab 10
atスキーム、Chothiasスキーム、AbMスキームおよび/またはコンタクトスキームによって特定されるような領域である。

【0166】

特定の態様において、SJ25C1について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つもしくは複数量またはすべてが、ヒト抗体のフレームワーク領域に挿入される。ある特定の態様において、ヒト抗体は、IgA抗体、IgD抗体、IgE抗体、IgG抗体およびIgM抗体である。特定の態様において、ヒト抗体は、ヒトIgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMのサブクラスの1つであり、例えば、ヒトIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁またはIgA₂である。いくつかの態様において、SJ25C1について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つもしくは複数量またはすべてが、ヒト抗体から得られる、および/またはヒト抗体に由来する抗原結合領域のフレームワーク領域に挿入される。ある特定の態様において、抗原結合性フラグメントは、ヒトIgA抗体、IgD抗体、IgE抗体、IgG抗体およびIgM抗体から得られ、ならびに/あるいはそれらに由来する。ヒト免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造および三次元配置は周知のものであり、例えば、AbbasらCellular and Mol. Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders, Co., 2000)において大まかに記載される。いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ヒト抗体と、1つまたは複数の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合性または非共有結合性の会合によって形成されるより大きい融合分子の一部であり得る。 20

【0167】

いくつかの態様において、SJ25C1について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つもしくは複数量またはすべてが、Fc領域のすべてまたは一部分を有するヒト抗体またはその抗原結合性フラグメントのフレームワーク領域に挿入される。ある特定の態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体はFc領域のすべてまたは一部分を含有する。いくつかの態様において、Fc領域は、1つまたは複数の修飾、例えば、1つまたは複数のアミノ酸位置におけるアミノ酸修飾（例えば、置換、挿入または欠失）などを有する。そのような修飾を、例えば、半減期を改善するために、1つまたは複数のタイプのFc受容体への結合を改変するために、ならびに/あるいはエフェクター機能を改変するために行うことができる。いくつかの態様において、修飾されたFc領域は、修飾されていないFc領域の結合と比較して、Fc 40
Rに対する修飾された（例えば、低下した）結合を有する。ある特定の態様において、ヒト化抗イディオタイプ抗体は、修飾されていないFc領域の結合と比較して、Fc受容体に対する改変された（例えば、低下した）結合を有する修飾されたFc領域のすべてまたは一部分を含有する。Fc受容体に対するその結合を改変させるFc修飾の限定されない例が、例えば、米国特許第7,217,797号および同第7,732,570号、ならびに米国特許出願公開第2010/0143254号および同第2010/0143254号に記載される。

【0168】

ある特定の態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 132に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 133に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。特定の態様において、SJ25C1について特異的なヒト 50

化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 134に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 135に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。いくつかの態様において、SJ25C1について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 136に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 137に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。

【0169】

B. FMC63由来の抗体

いくつかの態様において、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである、あるいは抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントに由来する、標的抗CD19抗体に対して特異的な抗イディオタイプ抗体が提供される。いくつかの態様において、提供された抗体または抗原結合性フラグメントはFMC63由来のscFvに対して特異的である。

【0170】

いくつかの態様において、SEQ ID NO: 36または58に示されるV_H領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む、例えば、該アミノ酸配列に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を含む重鎖可変(V_H)領域を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0171】

いくつかの態様において、

以下において、X₃はTまたはSであり、X₅はTまたはSであり、X₆はDまたはRであり、X₈はYまたはWであり、かつX₁₀はKまたはNであるアミノ酸配列

GYX₃FX₅X₆YX₈MX₁₀ (SEQ ID NO: 108)

を含有する、重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1) ; および/または、

以下において、X₄はDまたはMであり、X₆はNまたはHであり、X₈はNまたはSであり、X₉はNまたはDであり、X₁₀はGまたはSであり、X₁₁はGまたはEであり、X₁₃はDまたはRであり、X₁₄はYまたはLであり、X₁₇はNまたはKであり、かつX₂₀はGまたはDであるアミノ酸配列

WIGX₄IX₆PX₈X₉X₁₀X₁₁TX₁₃X₁₄NQX₁₇FKX₂₀ (SEQ ID NO: 109)

を含有する、重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2) ; および/または、

以下において、X₂はRまたはSであり、X₃はEまたはIであり、X₄はGまたはYであり、X₅はNまたはYであり、X₆はNまたはEであり、X₇はYまたはヌルであり、X₈はGまたはヌルであり、X₉はSまたはヌルであり、X₁₀はRまたはヌルであり、X₁₁はDまたはヌルであり、X₁₂はAまたはヌルであり、X₁₃はMまたはヌルであり、X₁₄はDまたはEであり、かつX₁₅はYまたはAであるアミノ酸配列

AX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄X₁₅ (SEQ ID NO: 110)

を含有する、重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3)

を有するVH領域を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0172】

いくつかの態様において、SEQ ID NO: 46、67、94もしくは104に示されるアミノ酸配列を有する重鎖相補性決定領域3 (CDR-H3) 、 および/またはSEQ ID NO: 36もしくは58に示される重鎖可変(V_H)配列に含まれるCDR-H3を含有する重鎖可変(VH)領域を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0173】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO: 44、65、88、89、90、98、99もしくは100に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1) 、 および/またはSEQ ID NO: 36もしくは58に示されるV_H配列に含まれるCDR-H1、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 45、66、91、92、93、101、102もしくは103に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域2 (CDR-H2) 、 および/またはSEQ ID NO: 36もしくは58に示されるV_H配列に含まれるCDR-H2を含む。

【0174】

重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1) 、 CDR-H2およびCDR-H3を含む重鎖可変(VH)領域を含

10

20

30

40

50

み、CDR-H1が、SEQ ID NO: 44、65、88、89、90、98、99もしくは100に示されるアミノ酸配列を含み、CDR-H2が、SEQ ID NO: 45、66、91、92、93、101、102もしくは103に示されるアミノ酸配列を含み、および/またはCDR-H3が、SEQ ID NO: 46、67、94もしくは104に示されるアミノ酸配列を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。いくつかの態様において、SEQ ID NO: 44、65、88、89、90、98、99もしくは100に示されるアミノ酸配列を有するCDR-H1、SEQ ID NO: 45、66、91、92、93、101、102もしくは103に示されるアミノ酸配列を有するCDR-H2、および、SEQ ID NO: 46、67、94もしくは104に示されるアミノ酸配列を有するCDR-H3を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0175】

SEQ ID NO: 36もしくは58に示されるV_H領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3のアミノ酸配列をそれぞれ含む重鎖相補性決定領域1 (CDR-H1)、CDR-H2およびCDR-H3を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0176】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 44、88、89もしくは90に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 45、91、92もしくは93に示されるCDR-H2、および/またはSEQ ID NO: 46もしくは94に示されるCDR-H3を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 65、98、99もしくは100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 66、101、102もしくは103に示されるCDR-H2、および/またはSEQ ID NO: 67もしくは104に示されるCDR-H3をそれぞれ含む。

【0177】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO: 36または58に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも90%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列および/またはFR4配列を含有する。いくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO: 36または58に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列および/またはFR4配列を含有する。いくつかの態様において、V_H領域は、SEQ ID NO: 36または58に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3およびFR4に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列およびFR4配列を含有する。

【0178】

そのような態様のいずれかのいくつかにおいて、V_H領域は、SEQ ID NO: 36または58に示されるアミノ酸の配列を有する。

【0179】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは重鎖のみであり、V_Hのみであり、および/または、V_Lもしくはその抗原結合部分を含まず、ならびに/あるいは、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントの抗原結合部位は重鎖由来の残基のみを含む、および/または軽鎖由来の残基を含まない。

【0180】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは軽鎖可変 (V_L) 領域を含有せず、CDR-L1、CDR-L2および/またはCDR-L3を含有せず、ならびに/あるいは、V_H領域のみを含有する単一ドメイン抗体 (sdAb) である。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、記載されるようないずれかに由来するV_H領域を含有するだけであるsdAbである。

【0181】

上記V_H領域配列のいずれかを含有する抗イディオタイプ抗体またはフラグメントのいずれかのいくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはフラグメントは軽鎖可変 (

10

20

30

40

50

V_L)領域をさらに含む。いくつかのそのような態様において、V_L領域は、SEQ ID NO: 40 または62に示されるV_L領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有し、例えば、SEQ ID NO: 40または62に示されるV_L領域アミノ酸配列に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を有する。

【0182】

いくつかの態様において、

以下において、X₁はSまたはRであり、X₃はSまたはRであり、X₄はSまたはGであり、X₅はGまたはNであり、X₆はVまたはIであり、X₇はIまたはHであり、X₈はNまたはヌルであり、X₁₀はMまたはLであり、かつX₁₁はYまたはAであるアミノ酸配列 X₁AX₃X₄X₅X₆X₇X₈YX₁₀X₁₁WY (SEQ ID NO: 111)

10

を含有する、軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1) ; および/または、

以下において、X₁はPまたはLであり、X₂はWまたはLであり、X₃はIまたはVであり、X₅はLまたはNであり、X₆はTまたはAであり、X₇はSまたはKであり、X₈はNまたはTであり、かつX₁₁はSまたはDであるアミノ酸配列 X₁X₂X₃YX₅X₆X₇X₈LAX₁₁ (SEQ ID NO: 112)

を含有する、軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2) ; および/または、

以下において、X₂はQまたはHであり、X₃はWまたはFであり、X₄はSまたはWであり、X₅はSまたはWであり、X₆はNまたはTであり、かつX₈はLまたはYであるアミノ酸配列 QX₂X₃X₄X₅X₆PX₈T (SEQ ID NO: 113)

を含有する、軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)

20

を有するVH領域を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

【0183】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 49、97、70または107に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含む。任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 49、97、70または107に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3)を含む。

【0184】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 47、68、95もしくは105に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、および/またはSEQ ID NO: 40もしくは62に示されるV_L配列に含まれるCDR-L1、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 48、69、96もしくは106に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および/またはSEQ ID NO: 40もしくは62に示されるV_L配列に含まれるCDR-L2を含む。任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 47、68、95もしくは105に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域1 (CDR-L1)、および/またはSEQ ID NO: 40もしくは62に示されるV_L配列に含まれるCDR-L1、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 48、69、96もしくは106に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖相補性決定領域2 (CDR-L2)、および/またはSEQ ID NO: 40もしくは62に示されるV_L配列に含まれるCDR-L2を含む。

30

【0185】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 47、68、95もしくは105に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L1、SEQ ID NO: 48、69、96もしくは106に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L2、および、SEQ ID NO: 49、97、70もしくは107に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L3を含む。

40

【0186】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、V_L領域は、SEQ ID NO: 40または62に示されるV_L領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む。

【0187】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 47もしくは95に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 48もしくは96に示されるCDR-

50

L2、および/またはSEQ ID NO: 49もしくは97に示されるCDR-L3を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO: 68もしくは105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 69もしくは106に示されるCDR-L2、および/またはSEQ ID NO: 70もしくは107に示されるCDR-L3をそれぞれ含む。

【0188】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 40または62に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも90%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1)、FR2、FR3および/またはFR4を含む。いくつかの態様において、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 40または62に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3および/またはFR4に対する少なくとも91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列および/またはFR4配列を含む。いくつかの態様において、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 40または62に示されるアミノ酸配列のFR1、FR2、FR3およびFR4に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、98%、99%の配列同一性をそれぞれ有するフレームワーク領域1 (FR1) 配列、FR2配列、FR3配列およびFR4配列を含む。

10

【0189】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、 V_L 領域は、SEQ ID NO: 40または62に示されるアミノ酸配列を有する。

【0190】

SEQ ID NO: 36または58に示される V_H 領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 40または62に示される軽鎖可変 (V_L) 領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列を含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

20

【0191】

SEQ ID NO: 36または58に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する V_H 領域と、SEQ ID NO: 40または62に対する少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する V_L 領域とを含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。

30

【0192】

いくつかの態様において、SEQ ID NO: 36または58に示されるアミノ酸配列を有する V_H 領域と、SEQ ID NO: 40または62に示されるアミノ酸配列を有する V_L 領域とを含む抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが提供される。いくつかの態様において、提供された抗体は、SEQ ID NO: 36に示される V_H 領域と、SEQ ID NO: 40に示される V_L 領域とを含有する。いくつかの態様において、提供された抗体は、SEQ ID NO: 58に示される V_H 領域と、SEQ ID NO: 62に示される V_L 領域とを含有する。

【0193】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は一本鎖抗体フラグメントであり、例えば、scFvまたはダイアボディなどである。いくつかの態様において、一本鎖抗体は、2つの抗体ドメインまたは領域 (例えば、可変重鎖 (V_H) 領域および可変軽鎖 (V_L) など) をつなぐ1つまたは複数のリンカーを含む。リンカーは典型的にはペプチドリンカーであり、例えば、柔軟性および/または可溶性のペプチドリンカーである。リンカーには、グリシンおよびセリン、ならびに/あるいは、場合によってはトレオニンに富むリンカーが挙げられる。いくつかの態様において、リンカーはさらに、溶解性を改善することができる荷電残基 (例えば、リシンおよび/またはグルタミン酸など) を含む。いくつかの態様において、リンカーはさらに、1つまたは複数のプロリンを含む。

40

【0194】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体はインタクトな抗体または全長抗体で

50

ある。いくつかの態様において、抗IDは免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分（例えば、1つまたは複数の定常領域ドメインなど）を含有してもよい。いくつかの態様において、定常領域は軽鎖定常領域（CL）および/または重鎖定常領域1（CH1）を含む。いくつかの態様において、抗IDはCH2ドメインおよび/またはCH3ドメインを含み、例えば、Fc領域などを含む。いくつかの態様において、Fc領域はヒトIgG（例えば、IgG1またはIgG4など）のFc領域である。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 37または59に示されるCHドメインまたはその一部分、あるいは、SEQ ID NO: 37もしくは59またはその一部分に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含有する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 41または63に示されるCLドメインまたはその一部分、あるいは、SEQ ID NO: 41もしくは63またはその一部分に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含有する。

10

20

30

40

50

【0195】

いくつかの態様において、FMC63について特異的な抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 38もしくは60に示される重鎖配列、または、SEQ ID NO: 38もしくは60に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%もしくは99%の配列同一性を呈する配列を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 42もしくは63に示される軽鎖配列、または、SEQ ID NO: 42もしくは63に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%もしくは99%の配列同一性を呈する配列を含む。いくつかの態様において、FMC63について特異的な抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 38に示される重鎖配列、および/またはSEQ ID NO: 42に示される軽鎖配列を含む。いくつかの態様において、FMC63について特異的な抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 60に示される重鎖配列、および/またはSEQ ID NO: 63に示される軽鎖配列を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体の重鎖および/または軽鎖はシグナルペプチドをさらに含む。いくつかの場合において、シグナルペプチドは、SEQ ID NO: 39、43、61または64に示される配列を有する。

【0196】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントは、フラグメント抗原結合（Fab）フラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fab'フラグメント、Fvフラグメント、一本鎖可変フラグメント（scFv）または単一ドメイン抗体からなる群より選択される。

【0197】

したがって、2つの抗イディオタイプ抗体ドメインまたは領域（例えば、V_HドメインとV_Lドメインなど）をつなぐリンカー（1つまたは複数）を典型的には含む一本鎖抗体フラグメント（例えば、scFvおよびダイアポディなど）、特にヒト一本鎖フラグメントが提供される。リンカーは典型的にはペプチドリンカーであり、例えば、柔軟性および/または可溶性のペプチドリンカー、例えば、グリシンおよびセリンに富むリンカーなどである。

【0198】

いくつかの局面において、グリシンおよびセリン（および/またはトレオニン）に富むリンカーは、少なくとも80、85、90、91、92、93、94、95、96、97、98または99%のそのようなアミノ酸を含む。いくつかの態様において、リンカーは、少なくとも50%、55%、60%、70%もしくは75%または少なくとも約50%、55%、60%、70%もしくは75%のグリシン、セリンおよび/またはトレオニンを含む。いくつかの態様において、リンカーは実質的にはもっぱら、グリシン、セリンおよび/またはトレオニンで構成される。リンカーは、一般には長さが約5個～約50個の間のアミノ酸であり、典型的には長さが10個または約10個と、30個または約30個の間のアミノ酸であり、例えば、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、26個、27個、28個、29個または30個のアミノ酸であり、いくつかの例では長さが10個～25個の間の

アミノ酸である。例示的リンカーとして、

配列

GGGS (3GS; SEQ ID NO: 29) または GGGGS (4GS; SEQ ID NO: 26)

の様々な繰り返し数を有するリンカー、例えば、そのような配列の、2回、3回、4回～5回の間での繰り返しを有するリンカーなどが挙げられる。例示的リンカーとして、SEQ ID NO: 25 (GGGGSGGGGSGGGGS)

に示される配列を有するリンカー、または該配列からなるリンカーが挙げられる。例示的リンカーとしてはさらに、

SEQ ID NO: 33 (GSTSGSGKPGSGEGSTKG)

に示される配列を有するリンカー、または該配列からなるリンカーが挙げられる。

10

【0199】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体には、単離された抗体が含まれる。いくつかの態様において、抗IDは、ヒト化型、組換え型および/またはモノクローナルである。いくつかの態様において、抗IDはヒト型である。

【0200】

いくつかの態様において、FMC63について特異的な抗イディオタイプ抗体はヒト化される。特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体のすべてまたは実質的にすべてのCDRアミノ酸残基が、非ヒトの抗FMC63 CDRに由来する。いくつかの態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含む。

20

【0201】

ある特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体には、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）であって、該レシピエントの重鎖可変領域からの残基が、FMC63について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体の重鎖可変領域からの残基によって置換されるものが含まれる。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのFR残基が、対応する非ヒト残基によって置換される。いくつかの態様において、ヒト化抗体は、異なる遺伝子に由来するFRを含有する。いくつかの態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部分を含有し、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域（Fc）の少なくとも一部分を含有する。

30

【0202】

いくつかの態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、非ヒトドナー配列に対応する軽鎖可変領域の位置4、35、38、43、44、46、58、62、64、65、66、67、68、69、73、85、98（Kabat）、および重鎖可変領域の位置2、4、36、39、43、45、69、70、74、75、76、78、92（Kabat）のうちの1つまたは複数のアミノ酸残基をコードするようにされている改変されたヒトアクセプター抗体可変ドメイン配列を含有する。

【0203】

ある特定の態様において、FMC63について特異的な抗イディオタイプ抗体はヒト化される。特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、FMC63について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つまたは複数を含む。いくつかの態様において、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の領域のいくつかまたはすべてが、1つまたは複数のアミノ酸修飾を含有する。いくつかの態様において、非ヒトアミノ酸残基をヒト残基で置換する修飾。特定の態様において、CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つまたは複数が、ヒトFR領域に挿入される。特定の態様において、非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3は、SEQ ID NO: 36または58に示されるアミノ酸配列を有するVH領域のCDRである。ある特定の態様において、非ヒト抗イディオタイプVH領域のCDRは、SEQ ID NO: 44、65、88、89、90、98、99もしくは100に示されるアミノ酸配列とともに含有するCDR-H1、SEQ ID NO: 45、66

40

50

、91、92、93、101、102もしくは103に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-H2、および/または、SEQ ID NO: 46、67、94もしくは104に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-H3であるかあるいは、該CDR-H1、該CDR-H2および/または該CDR-H3を含む。いくつかの態様において、非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3は、SEQ ID NO: 40または62に示されるアミノ酸配列を有するVL領域のCDRである。いくつかの態様において、非ヒト抗イディオタイプVL領域のCDRは、SEQ ID NO: 47、68、95または105に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L1、SEQ ID NO: 48、69、96または106に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L2、および、SEQ ID NO: 49、97、70または107に示されるアミノ酸配列を含有するCDR-L3であるかあるいは、該CDR-L1、該CDR-L2および該CDR-L3を含む。いくつかの態様において、FMC63について特異的な抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の領域のすべてが、ヒト抗体のFRに挿入される。特定の態様において、これらのCDR領域およびFR領域は、Kabatスキーム、Chothiaスキーム、AbMスキームおよび/またはコンタクトスキームによって特定されるような領域である。

10

20

30

40

50

【0204】

特定の態様において、FMC63について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つもしくは複数またはすべてが、ヒト抗体のフレームワーク領域に挿入される。ある特定の態様において、ヒト抗体は、IgA抗体、IgD抗体、IgE抗体、IgG抗体およびIgM抗体である。特定の態様において、ヒト抗体は、ヒトIgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMのサブクラスの1つであり、例えば、ヒトIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁またはIgA₂である。いくつかの態様において、FMC63について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つもしくは複数またはすべてが、ヒト抗体から得られる、および/またはヒト抗体に由来する抗原結合領域のフレームワーク領域に挿入される。ある特定の態様において、抗原結合性フラグメントは、ヒトIgA抗体、IgD抗体、IgE抗体、IgG抗体およびIgM抗体から得られ、ならびに/あるいはそれらに由来する。ヒト免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造および三次元配置は周知のものであり、例えば、AbbasらCellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B.Saunders, Co., 2000)において大まかに記載される。いくつかの態様において、ヒト抗体またはその抗原結合性フラグメントは、ヒト抗体と、1つまたは複数の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合性または非共有結合性の会合によって形成されるより大きい融合分子の一部であり得る。

【0205】

いくつかの態様において、FMC63について特異的な非ヒト抗イディオタイプ抗体のCDR-L1、CDR-L2、CDR-L3、およびCDR-H1、CDR-H2、CDR-H3の1つもしくは複数またはすべてが、Fc領域のすべてまたは一部分を有するヒト抗体またはその抗原結合性フラグメントのフレームワーク領域に挿入される。ある特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体はFc領域のすべてまたは一部分を含有する。いくつかの態様において、Fc領域は、1つまたは複数の修飾、例えば、1つまたは複数のアミノ酸位置におけるアミノ酸修飾（例えば、置換、挿入または欠失）などを有する。そのような修飾を、例えば、半減期を改善するために、1つまたは複数のタイプのFc受容体への結合を改変するために、ならびに/あるいはエフェクター機能を改変するために行うことができる。いくつかの態様において、修飾されたFc領域は、修飾されていないFc領域の結合と比較して、FcRに対する修飾された（例えば、低下した）結合を有する。ある特定の態様において、ヒト化抗イディオタイプ抗体は、修飾されていないFc領域の結合と比較して、Fc受容体に対する改変された（例えば、低下した）結合を有する修飾されたFc領域のすべてまたは一部分を含有する。Fc受容体に対するその結合を改変させるFc修飾の限定されない例が、例えば、米国特許第7,217,797号および同第7,732,570号、ならびに米国特許出願公開第2010/0143254号および同第2010/0143254号に記載される。

【0206】

ある特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ

ID NO: 138に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 139に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 140に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 141に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。いくつかの態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 142に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 143に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。ある特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 144に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 145に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。特定の態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 146に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 147に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。いくつかの態様において、FMC63について特異的なヒト化抗イディオタイプ抗体は、SEQ ID NO: 148に示されるアミノ酸配列を含有する重鎖と、SEQ ID NO: 149に示されるアミノ酸配列を含有する軽鎖とを有する。

10

20

30

40

50

【0207】

C. 例示的特徴

本明細書において提供される抗イディオタイプ抗体は、様々な公知のアッセイによって特定されることがあり、あるいはその物理的/化学的特性および/または生物学的活性についてスクリーニングされることがあり、あるいはその物理的/化学的特性および/または生物学的活性について特徴づけられることがある。一局面において、抗イディオタイプ抗体は、その抗原結合活性について、例えば、公知の方法、例えば、ELISA、ウエスタンブロットティングおよび/またはフローサイトメトリーアッセイ（細胞に基づく結合アッセイを含む）などによって、例えば、標的抗CD19抗体部分を提示する細胞への抗イディオタイプ抗体（例えば、蛍光マーカーにコンジュゲートされる、またはタグ付けされる抗イディオタイプ抗体）の結合を、いくつかの場合には標的抗CD19抗体部分を発現しない細胞を使用する結果と比較して評価することによって試験される。結合アフィニティーが、KdまたはEC50として測定されることがある。

【0208】

提供された抗体のいずれかのいくつかの態様において、例えば、上記セクションAにおける提供された抗体のいずれかのいくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はSJ25C1であるかまたはSJ25C1に由来する抗体である。

【0209】

提供された抗体のいずれかのいくつかの態様において、例えば、上記セクションBにおける提供された抗体のいずれかのいくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はFMC63であるかまたはFMC63に由来する抗体である。

【0210】

競合アッセイが、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体のいずれかと競合する抗体を特定するために使用されることがある。抗イディオタイプ抗体およびリファレンス抗体が結合するエピトープをマッピングするためのアッセイもまた使用されることがあり、公知である。

【0211】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、標的抗CD19抗体部分と異なる抗CD19抗体部分とは交差反応しない。いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はSJ25C1抗体に由来する。いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はSJ25C1抗体に由来し、抗イディオタイプ抗体は、FMC63抗体に由来する抗CD19抗体部分とは交差反応しない（すなわち、SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を含むV_Hと、SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を含むV_Lとを含む抗CD19抗体とは交差反応しない）。いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はFMC63抗体に由来する。いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はFMC63抗体に由来し、抗イディオタイプ抗体は、SJ25C1抗体に由来する抗CD19抗体部分とは交差反応しない（すなわち、SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を含むV_Hと、SEQ ID NO: 24のアミノ酸

配列を含むV_Lとを含む抗CD19抗体とは交差反応しない)。

【0212】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、融合タンパク質(例えば、組換え受容体など)の一部である標的抗CD19抗体部分に特異的に結合する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、標的抗CD19抗体部分の外側に存在する融合タンパク質内のどのようなエピトープにも結合しない。例えば、いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分キメラ抗原受容体(CAR)の抗原結合ドメインであるかまたはその一部であり、抗イディオタイプ抗体は、抗原結合ドメインの外側に存在するどのようなエピトープとも結合しない。いくつかの態様において、CARの抗原結合ドメインはscFvを含む、またはscFvからなる。

10

【0213】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CARに含まれるscFvである標的抗CD19抗体部分に特異的に結合する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、標的抗CD19 scFvの1つまたは複数の相補性決定領域(CDR)と重複するエピトープに特異的に結合する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、scFvの外側に存在するCAR内のどのようなエピトープとも結合しない。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体はリファレンス抗体に結合しない。いくつかの態様において、リファレンス抗体は、標的抗体と同じ抗原に対して、例えば、CD19に対して特異的に結合し、ならびに/あるいは、標的抗体の対応するフレームワーク領域(1つまたは複数)に対する少なくとも90%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を有する1つまたは複数の可変重鎖フレームワーク領域および/または可変軽鎖フレームワーク領域を含み(いくつかの局面において、前記1つまたは複数のフレームワーク領域は、重鎖および/または軽鎖のFR1、FR2、FR3および/またはFR4を含む)、ならびに/あるいは、標的抗体と同じ重鎖v遺伝子および/または軽鎖v遺伝子(あるいはv遺伝子使用法)を含有し、および/または標的抗体と同じv遺伝子配列に由来する。いくつかの局面において、リファレンス抗体はFMC63である。いくつかの局面において、リファレンス抗体はSJ25C1である。いくつかの態様において、CARは、scFvをその膜貫通ドメインに連結するスペーサーを含み、抗イディオタイプ抗体はスペーサー内のどのようなエピトープとも結合しない。いくつかの態様において、スペーサーは、CD28に由来する配列であり、例えば、CD28からの細胞外部分などである。いくつかの態様において、スペーサーはSEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、Fcドメイン(例えば、IgG1のFcドメインなど)におけるどのようなエピトープとも結合しない。いくつかの態様において、Fcドメインは、ヒンジ領域を欠くIgG1 Fcドメインである。いくつかの態様において、FcドメインはSEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を含む。

20

30

【0214】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、異なるCARと交差反応しない。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、異なる抗CD19 CARと交差反応しない。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、標的抗CD19 scFvと比較して1つまたは複数の異なるイデオトープを有する抗CD19抗体部分(例えば、リファレンス抗体の抗CD19抗体部分)と交差反応しない。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、SJ25C1抗体に由来するCARの標的抗CD19 scFvについて特異的である。いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はSJ25C1抗体に由来し、抗イディオタイプ抗体は、FMC63抗体に由来する抗CD19抗体部分を含むCARと交差反応しない。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、FMC63抗体に由来するCARの標的抗CD19 scFvについて特異的である。いくつかの態様において、標的抗CD19抗体部分はFMC63抗体に由来し、抗イディオタイプ抗体は、SJ25C1抗体に由来する抗CD19抗体部分を含むCARと交差反応しない。

40

【0215】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体はCARのアゴニストである。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体はCARのアンタゴニストである。

【0216】

50

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、いくつかの公知方法のいずれかによって測定した場合、少なくとも一定のアフィニティーで、標的抗CD19部分（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）と結合する能力を有する。いくつかの態様において、アフィニティーが平衡解離定数（ K_D ）によって表される。いくつかの態様において、アフィニティーが EC_{50} によって表される。ある特定の態様において、抗CD19部分に対する抗イディオタイプ抗体の結合アフィニティー（ EC_{50} ）および/または解離定数は、100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、25 nM、20 nM、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2もしくは1 nMまたはそれ未満、あるいは約100 nM、50 nM、40 nM、30 nM、25 nM、20 nM、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2もしくは1 nMまたはそれ未満である、例えば、1 nMまたは約1 nMと、15 nMまたは約15 nMの間などであり、例えば、5 nMまたは約5 nMと、10 nMまたは約10 nMの間である。1つの態様において、標的抗CD19部分とは無関係な部分に対する抗イディオタイプ抗体の結合の程度が、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）によって測定された場合、標的抗CD19部分に対する該抗体の結合の10%未満であり、または10%であり、または約10%である。

10

【0217】

D. 核酸

また、抗体および/またはその部分、例えば鎖をコードする核酸も提供する。ここに提供する核酸には、本明細書に記載する抗イディオタイプ抗体をコードするものが含まれる。核酸は、天然および/または非天然ヌクレオチドおよび塩基を包含するもの、例えば主鎖修飾を持つものなどを含みうる。「核酸分子」、「核酸」および「ポリヌクレオチド」という用語は可換的に使用することができ、ヌクレオチドのポリマーを指す。そのようなヌクレオチドのポリマーは天然および/または非天然ヌクレオチドを含有することができ、DNA、RNA、およびPNAを含むが、それらに限定されるわけではない。「核酸配列」とは、核酸分子またはポリヌクレオチドを構成するヌクレオチドの線状配列を指す。例示的核酸および例示的ベクターは、SEQ ID NO:15~22、50~57、71~77として示す配列を有するもの、およびそのCDRコード部分、ならびにそれらに対して少なくとも90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%または少なくとも約90、91、92、93、94、95、96、97、98、もしくは99%の同一性を含有する配列である。核酸は、イディオタイプ抗体の V_L を含むアミノ酸配列および/または V_H を含むアミノ酸配列（例えば抗体の軽鎖および/または重鎖）をコードしうる。

20

30

【0218】

また、前記核酸を含有するベクター、前記ベクターを含有する宿主細胞、例えば抗体を生産するためのものも提供する。また、前記抗体を生産するための方法も提供する。さらに別の態様では、前述の核酸を含む1つまたは複数のベクター（例えば発現ベクター）が提供される。さらに別の態様では、前述の核酸を含む宿主細胞が提供される。そのような態様において、宿主細胞は、（1）抗体の V_L を含むアミノ酸配列と抗体の V_H を含むアミノ酸配列とをコードする核酸を含むベクターを含む（例えば前記ベクターで形質転換されている）か、または（2）抗体の V_L を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1ベクターと抗体の V_H を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2ベクターとを含む（例えば前記ベクターで形質転換されている）。いくつかの態様では、抗イディオタイプ抗体を製造する方法であって、上で述べた抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を、抗体の発現に適した条件下で培養する工程、および任意で、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から抗体を回収する工程を含む方法が提供される。

40

【0219】

E. 抗体を製造する方法

また、抗イディオタイプ抗体、例えば提供する任意の態様のものを製造する方法も提供する。いくつかの態様では、抗イディオタイプ抗体の組換え生産のために、抗体（例えば上述のもの）をコードする核酸を単離し、さらなるクローニングおよび/または宿主細胞における発現のために、1つまたは複数のベクターに挿入しうる。そのような核酸は、従

50

来の手法を使って（例えば抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合する能力を有するオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離し、配列決定することができる。

【0220】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母などの真核微生物も、抗体をコードするベクターにとって適切なクローニング宿主または発現宿主であり、これには、ヒト細胞におけるグリコシル化経路を模倣しまたはそれとほぼ同じになるようにグリコシル化経路が修飾されていて、その結果、部分的または完全にヒトグリコシル化パターンを持つ抗体を生産する真菌株および酵母株が含まれる。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409-1414 (2004) および Liら、*Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006) を参照されたい。

10

【0221】

ポリペプチドを発現させるために使用しうる例示的真核細胞には、COS7細胞を含むCOS細胞；293-6E細胞を含む293細胞；CHO-S、DG44.Lec13 CHO細胞、およびFUT8 CHO細胞を含むCHO細胞；PER.C6（登録商標）細胞；およびNSO細胞などがあるが、それらに限定されるわけではない。いくつかの態様では、抗体重鎖および/または抗体軽鎖を酵母で発現させる。例えば米国特許出願公開第2006/0270045号（A1）を参照されたい。いくつかの態様では、特定の真核宿主細胞が、重鎖および/または軽鎖に所望の翻訳後修飾を加えるその能力に基づいて選択される。例えば、いくつかの態様において、CHO細胞は、293細胞中で生産される同じポリペプチドよりもシアリル化のレベルが高いポリペプチドを生産する。

20

【0222】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は無細胞系において生産される。例示的無細胞系は、例えばSitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498:229-44 (2009)；Spirin, *Trends Biotechnol.* 22:538-45 (2004)；Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003) に記載されている。

【0223】

ここに提供する態様にはさらに、抗体および他の結合タンパク質を発現し生産するためのベクターおよび宿主細胞ならびに他の発現系、例えば真核宿主細胞および原核宿主細胞、例えば細菌、糸状菌、および酵母、ならびに哺乳動物細胞、例えばヒト細胞、ならびに無細胞発現系が含まれる。

30

【0224】

抗イディオタイプ抗体または抗体部分はヒト化抗体またはヒト抗体とすることができる。「ヒト化」抗体は、すべてまたは実質的にすべてのCDRアミノ酸残基が非ヒトCDRに由来し、かつ、すべてまたは実質的にすべてのFRアミノ酸残基がヒトFRに由来する抗体である。ヒト化抗体は任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。非ヒト抗体の「ヒト化形態」とは、元になる非ヒト抗体の特異性およびアフィニティーを保ちつつ、典型的にはヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化を受けた該非ヒト抗体の変異体を指す。いくつかの態様において、ヒト化抗体におけるいくつかのFR残基が、例えば、抗体の特異性またはアフィニティーを回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、CDR残基の由来源である抗体）の対応残基で置換される。

40

【0225】

提供された抗イディオタイプ抗体または抗体部分には、ヒト抗体が挙げられる。「ヒト抗体」は、ヒトまたはヒト細胞、あるいは、ヒト抗体ライブラリーを含めて、ヒト抗体レパートリーまたは他のヒト抗体コード配列を利用する非ヒト供給源によって産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する抗体である。この用語からは、非ヒト抗原結合領域を含む非ヒト抗体のヒト化形態、例えば、すべてまたは実質的にすべてのCDRが非ヒトである非ヒト抗体のヒト化形態などは除外される。

【0226】

ヒト抗体は、インタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクトな抗体を抗原チャレンジに应答して産生するように改変されているトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって調製されることがある。そのような動物は典型的には、内因性の

50

免疫グロブリン遺伝子座を置き換える、あるいは染色体外に存在する、または動物の染色体にランダムに組み込まれるヒト免疫グロブリン遺伝子座のすべてまたは一部分を含有する。そのようなトランスジェニック動物では、内因性の免疫グロブリン遺伝子座は一般には不活性化されている。ヒト抗体はまた、ヒトレパートリーに由来する抗体コード配列を含有するヒト抗体ライブラリー（ファージディスプレイおよび無細胞ライブラリーを含む）に由来することがある。

【0227】

F. イムノコンジュゲート

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、イムノコンジュゲート（抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲート）であるか、イムノコンジュゲート（抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲート）の一部であり、ここでは、抗体が1つまたは複数の異種分子、例えば限定するわけではないが、細胞毒性作用物質、またはイメージング作用物質にコンジュゲートされている。細胞毒性作用物質には、放射性同位体（例えばAt211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212およびLuの放射性同位体）；化学療法剤（例えばメイタンシノイド、タキサン類、メトトレキサート、アドリアマイシン（adriamycin）、ピンカルカロイド（ピンクリスチン、ピンブラスチン、エトポシド）、ドキソルピシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルピシンまたは他のインターカレート剤）；成長阻害性作用物質；酵素およびそのフラグメント、例えば核酸分解酵素；抗生物質；毒素、例えば低分子量毒素または酵素活性毒素などがあるが、それらに限定されるわけではない。いくつかの態様において、抗体は、1つまたは複数の細胞毒性作用物質、例えば化学療法剤もしくは化学療法薬、成長阻害性作用物質、毒素（例えば細菌、真菌、植物、もしくは動物由来のタンパク質毒素、酵素活性毒素、またはそれらのフラグメント）、または放射性同位体にコンジュゲートされる。

【0228】

抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートには、抗イディオタイプ抗体が1つまたは複数の薬物、例えば限定するわけではないがメイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、同第5,416,064号および欧州特許第0 425 235号B1参照）；アウリスタチン、例えばモノメチルアウリスタチン薬物部分DEおよびDF（MMAEおよびMMAF）（米国特許第5,635,483号および同第5,780,588号、および同第7,498,298号参照）；ドラスタチン；カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第5,712,374号、同第5,714,586号、同第5,739,116号、同第5,767,285号、同第5,770,701号、同第5,770,710号、同第5,773,001号、および同第5,877,296号；Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)；およびLode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)参照）；アントラサイクリン、例えばダウノマイシンまたはドキソルピシン（Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006)；Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006)；Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005)；Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000)；Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12: 1529-1532 (2002)；King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002)；および米国特許第6,630,579号参照）；メトトレキサート；ピンデシン；タキサン、例えばドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、およびオルタタキセル；トリコテセン；ならびにCC1065にコンジュゲートされている抗体-薬物コンジュゲート（ADC）が含まれる。

【0229】

また、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートには、抗体が酵素活性毒素またはそのフラグメント、例えば限定するわけではないがジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合性活性フラグメント、エキソトキシンA鎖（緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*）由来）、リシンA鎖、アプリンA鎖、モデッシンA鎖、アルファ-サルシン、シナアブラギリ（*Aleurites fordii*）タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（*Phytolaca americana*）タンパク質（PAPI、PAPII、およびPAP-S）、ツルレイシ（*Momordica charantia*）インヒビター、クルシン、クロチン、サボンソウ（*Saponaria officinalis*）インヒビター、ゲロニン、マイトゲリン（mitogellin）、レストリクトシン（restrictocin）、フ

10

20

30

40

50

エノマイシン (phenomycin)、エノマイシン (enomycin)、およびトリコテセン (tricot hecene) にコンジュゲートされているものが含まれる。

【0230】

また、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートには、抗体が、放射性原子にコンジュゲートされてラジオコンジュゲートを形成しているものも含まれる。例示的放射性同位体には、At²¹¹、I¹³¹、I¹²⁵、Y⁹⁰、Re¹⁸⁶、Re¹⁸⁸、Sm¹⁵³、Bi²¹²、P³²、Pb²¹²およびLuの放射性同位体などがある。

【0231】

抗イディオタイプ抗体と細胞毒性作用物質とのコンジュゲートは、いくつかある公知のタンパク質カップリング剤 (例えばリンカー) のどれを使って製造してもよい (Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987); W094/11026参照)。リンカーは、細胞における細胞毒性薬の放出を容易にする「切断可能なリンカー」、例えば酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー、およびジスルフィド含有リンカーであってよい (Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131 (1992); 米国特許第5,208,020号)。

【0232】

また、検出可能なシグナルを間接的または直接的に生じさせることができる標識 (例えば、検出可能な標識など) に結合された抗イディオタイプ抗体を含む抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートが提供される。これらの抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートは研究用途または診断用途に使用することができる。標識は好ましくは、検出可能なシグナルを間接的または直接的にもたすことができる。例えば、標識は放射線不透過性であってもよく、あるいは、放射性同位体 (例えば、³H、¹⁴C、³²P、³⁵S、¹²³I、¹²⁵I、¹³¹Iなど)、蛍光性化合物 (蛍光団) または化学発光性化合物 (発色団) (例えば、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミンまたはルシフェリンなど)、酵素 (例えば、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼまたはセイヨウワサビペルオキシダーゼなど)、画像化剤または金属イオンであってもよい。いくつかの態様において、標識は、シンチグラフィ-研究のための放射性原子 (例えば、⁹⁹Tcまたは¹²³I)、または核磁気共鳴 (NMR) 画像化 (これはまた磁気共鳴画像化 (MRI) としても公知である) のためのスピン標識 (例えば、ジルコニウム-89、ヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガンまたは鉄など) である。ジルコニウム-89は、錯体が様々な金属キレート化剤に対して、また、コンジュゲートが抗体に対して、例えば、PET画像化のために形成されることがある (W02001/056983)。

【0233】

検出可能な標識の例には、放射性ヌクレオチド、酵素、補酵素、蛍光体、化学発光体、色素原、酵素基質または補因子、酵素阻害剤、補欠分子族複合体、フリーラジカル、粒子および色素などが含まれるが、これらに限定されない。適切な酵素の例には、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが含まれる。適切な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン/ビオチン、およびアビジン/ビオチンが含まれる。適切な蛍光性材料の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリン、クマリン、Alexa 488、オレゴングリーン488、ローダミングリーン、Alexa 532、Cy3、Bodipy 588/586、Alexa 586、TAMRA、Rox、Alexa 594、テキサスレッド、Bodipy 630/650、Cy5、Alexa 647、IR Dye 680、IR Dye 680、IR Dye 700 DX、Cy5.5、Alexa 750、IR Dye 800CW、IR Dye 800、Atto 532、およびAtto 465が含まれる。

【0234】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートは間接的に検出可能である。例えば、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートについて特異的であり、かつ検出可能な標識を含有する二次抗体を使用して、該抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートを検出することができる。

10

20

30

40

50

【0235】

多重特異性抗体

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は多重特異性である。多重特異性の結合性分子には、例えば、二重特異性を含めて、多重特異性の抗体が挙げられる。多重特異性の結合パートナー、例えば、抗体は、同じ抗原または異なる抗原に存在していてもよい少なくとも2つの異なる部位に対する結合特異性を有する。ある特定の態様において、結合特異性の一方が抗CD19抗体部分に対して、であり、他方が別の抗原に対して、である。ある特定の態様において、二重特異性抗体は、抗CD19抗体部分の2つの異なるエピトープに結合してもよい。二重特異性抗体はまた、抗CD19抗体部分を表面に発現する細胞（例えば、抗CD19 CAR T細胞など）に細胞毒性作用物質を局在化させるために使用されることがある。二重特異性抗体は全長抗体または抗体フラグメントとして調製することができる。二重特異性抗体には、多重特異性の一本鎖抗体、例えば、ダイアボディ、トリアボディおよびテトラボディ、タンデム型ジ-scFvおよびタンデム型トリ-scFvなどが挙げられる。

10

【0236】

G. 変異体

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体の配列と比較して、1つまたは複数のアミノ酸変化（例えば、置換、欠失、挿入および/または変異など）を含む。例示的変異体には、抗イディオタイプ抗体の結合アフィニティーおよび/または他の生物学的特性を改善するために設計される変異体が含まれる。抗イディオタイプ抗体のアミノ酸配列変異体は、抗イディオタイプ抗体をコードするヌクレオチド配列の中に適当な修飾を導入することによって、またはペプチド合成によって調製されることがある。そのような修飾には、例えば、抗イディオタイプ抗体のアミノ酸配列からの欠失、および/または抗イディオタイプ抗体のアミノ酸配列への挿入、および/または抗イディオタイプ抗体のアミノ酸配列の内部における残基の置換が含まれる。最終構築物が所望の特徴（例えば、抗原結合性）を有する限り、欠失、挿入および置換を自由に組み合わせて、最終構築物に到達することができる。

20

【0237】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、例えば、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体配列と比較して、1つまたは複数のアミノ酸置換を含む。置換突然変異導入のための関心対象部位には、CDRおよびFRが含まれる。アミノ酸置換が関心対象の抗イディオタイプ抗体に導入され、その産物が、所望の活性について、例えば、保持/改善された抗原結合、低下した免疫原性、改善された半減期、および/または改善されたエフェクター機能（例えば、抗体依存性細胞性細胞傷害（ADCC）もしくは補体依存性細胞傷害（CDC）を促進し得ることなど）について、スクリーニングされることがある。いくつかの態様において、変異型の抗イディオタイプ抗体は、標的抗CD19抗体またはそのフラグメントに対する保持された、または改善された結合を呈する。例えば、いくつかの態様において、変異型の抗イディオタイプ抗体は、標的抗CD19抗体に対する結合アフィニティーにおいて、非修飾の抗イディオタイプ抗体と比較して少なくとも約10%（例えば、少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、1000%またはそれ以上のいずれかなど）の増大を示す。

30

40

【0238】

いくつかの態様では、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗体）のCDR内の1つまたは複数の残基が置換される。いくつかの態様では、例えばヒト個体への投与時の免疫原性の可能性を低減させるなどの目的で、生殖細胞系配列、例えば生殖細胞系（例えばヒト生殖細胞系）に見いだされる抗体配列へと、配列または配列中の位置が復帰するように、置換が加えられる。

【0239】

いくつかの態様では、CDR「ホットスポット」、体細胞成熟過程に高い頻度で突然変異を起こすコドンがコードする残基（例えばChowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)を参照されたい）、および/または抗原と接触する残基に改変を加え、その結果

50

として生じる変異体 V_H または V_L を結合アフィニティーについて試験する。二次ライブラリーを構築してそこから再選択することによる親和性成熟については、例えばHoogenboomらがMethods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Humana Press, Totowa, NJ, (2001))に記載している。親和性成熟のいくつかの態様では、さまざまな方法(例えばエラープロードPCR、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指定突然変異導入法)のいずれかによって、成熟のために選ばれた可変遺伝子に多様性が導入される。次に、二次ライブラリーを作成する。次に、そのライブラリーをスクリーニングして、所望のアフィニティーを持つ抗体変異体をすべて同定する。多様性を導入するための別の方法では、数個のCDR残基(例えば一度に4~6残基)をランダム化するCDR指向的アプローチをとる。例えばアラニンスキャニング突然変異導入またはモデリングを使って抗原結合に
10
関与するCDR残基を特異的に同定することができる。特にCDR-H3およびCDR-L3は標的とすることが多い。

【0240】

一定の態様において、置換、挿入、または欠失は、前述の改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、1つまたは複数のCDR内に存在しうる。例えば、結合アフィニティーを実質的に低減しない保存的改変(例えば本明細書にいう保存的置換)をCDRに加える。そのような改変は、例えばCDR中の抗原接触残基以外に存在しうる。上で述べた変異体 V_H および V_L 配列の一定の態様では、各CDRが無改変であるか、1つ以下、2つ以下または3つ以下のアミノ酸置換を含有する。

【0241】

アミノ酸配列挿入には、長さが1残基から100残基以上を含有するポリペプチドまでの範囲にわたるアミノ末端融合および/またはカルボキシル末端融合、ならびに1つまたは複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入物の例には、N末端メチオニル残基を持つ抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体のN末端またはC末端の、酵素への、または抗体の血清中半減期を増加させるポリペプチドへの融合物が含まれる。

【0242】

修飾

一定の態様では、例えばアミノ酸配列を改変することによって1つまたは複数のグリコシル化部位を除去または挿入することにより、かつ/または例えば一定の細胞株を使ってグリコシル化部位に取り付けられるオリゴ糖を修飾することにより、抗体を改変すること
30
で、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させる。

【0243】

例示的修飾、変異体および細胞株は、例えば特許出願公開番号US2003/0157108、US2004/0093621、US2003/0157108; WO2000/61739; WO2001/29246; US2003/0115614; US2002/0164328; US2004/0093621; US2004/0132140; US2004/0110704; US2004/0110282; US2004/0109865; WO2003/085119; WO2003/084570; WO2005/035586; WO2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87:614 (2004); Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986); 米国特許出願公開番号US2003/0157108 A1、Presta, L; およびWO2004/056312 A1、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006); およびWO2003/085107; WO2003/011878 (Jean-Mairet et al.); 米国特許第6,602,684号 (Umana et al.); およびUS2005/0123546 (Umana et al.); WO1997/30087 (Patel et al.); WO1998/58964 (Raju, S.); およびWO1999/22764 (Raju, S.)に記載されている。

【0244】

修飾抗体には、Fc領域に1つまたは複数のアミノ酸修飾を有するもの、例えば1つまたは複数のアミノ酸位置にアミノ酸修飾(例えば置換)を含むヒトFc領域配列または定常領域の他の部分(例えばヒトIgG1、IgG2、IgG3またはIgG4 Fc領域)を有するものが含まれる。

【0245】

10

20

30

40

50

そのような修飾は、例えば半減期を改良するために、1タイプまたは複数タイプのFc受容体への結合を改変するために、かつ/またはエフェクター機能を改変するために行うことができる。

【0246】

また、変異体には、例えば作用物質およびリンカー-作用物質のコンジュゲーションに使用してイムノコンジュゲートを生産するために、アクセス可能な部位に反応性チオール基を生じさせる目的で、抗体の1つまたは複数の残基がシステイン残基で置換されているシステイン改変抗体、例えば「チオMAb (thioMAb)」および他のシステイン改変変異体も含まれる。システイン改変抗体は、例えば米国特許第7,855,275号および同第7,521,541号に記載されている。

10

【0247】

いくつかの態様では、追加の非タンパク質性部分、例えば水溶性ポリマーを含有するように、抗体が修飾される。例示的ポリマーには、ポリエチレングリコール (PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキサラン、ポリ-1,3,6-トリオキサラン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸 (ホモポリマーまたはランダムコポリマー)、およびデキストランまたはポリ (n-ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール (例えばグリセロール)、ポリビニルアルコール、およびそれらの混合物などがあるが、それらに限定されるわけではない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性ゆえに、製造に際して利点を有しうる。ポリマーは任意の分子量であってよく、分枝ポリマーであっても、非分枝ポリマーであってもよい。抗体に取り付けられるポリマーの数はさまざまであってよく、2つ以上のポリマーが取り付けられる場合、それらは同じ分子であることも異なる分子であることもできる。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および/またはタイプは、例えば限定するわけではないが、改良しようとする抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が所定の条件下で治療に使用されるかどうかなどの考察に基づいて決定することができる。

20

【0248】

III. 抗イディオタイプ抗体の特定方法

30

いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントを、例えば、該標的抗体またはそのフラグメントを含む免疫原を用いたハイブリドーマ法 (例えば、Kohler and Milstein, Nature, 256:495 (1975)、およびSergeevaら, Blood, 117(16):4262-4272を参照のこと) を使用することなどによって特定する方法が提供される。免疫原は、標的抗体またはフラグメントに融合された免疫原性増強部分を含むことがある。そのような免疫原性増強部分は、限定されることなく、免疫原の溶解性および半減期を増大させることを含む様々な特性を有することがある。例示的な免疫原性増強部分には、Fcドメインまたはそのフラグメントが含まれる。いくつかの態様において、免疫原性増強部分はFcドメイン (例えば、任意でヒトIgG1であるIgG1などに由来するFcドメイン) である。いくつかの態様において、免疫原性増強部分は、ヒンジ領域のすべてまたは一部分を欠くFcドメイン (例えば、任意でヒトIgG1であるIgG1などに由来するFcドメイン) である。

40

【0249】

いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントを特定する方法であって、(a) 免疫原性増強部分に融合された標的抗体の抗原結合性フラグメントを含む可溶性免疫原を対象に導入すること、および(b) 標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する対象由来の抗体を特定することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントは標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントは一本鎖フラグメントである

50

。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントはscFvである。いくつかの態様において、抗原結合性フラグメントはキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在し、またはキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる。

【0250】

いくつかの態様において、免疫原性増強部分は、任意でヒトIgG1 FcであるFcドメインまたはそのフラグメントである。いくつかの態様において、免疫原性増強部分は、ヒンジ領域を欠くFcドメインである。いくつかの態様において、免疫原性増強部分は、SEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む。

【0251】

いくつかの態様において、抗体を特定することは、ハイブリドーマ技術を使用して、対象によって産生される個々の抗体クローンを特定し、該クローンを標的抗体またはその抗原結合性フラグメントへの結合についてスクリーニングすることを含む。いくつかの態様において、抗体を特定することは、(i) B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製すること、(ii) ハイブリドーマを、標的抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、または抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体と特異的に結合する抗体の産生についてスクリーニングすること、および(iii) 標的抗体もしくは抗原結合性フラグメントと特異的に結合する抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、それにより、抗イディオタイプ抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、ハイブリドーマをスクリーニングすることは、標的抗体または標的抗体のイデオトープを含む標的分子、例えば、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含むscFvまたはCARまたはそれらのフラグメントなどについてのハイブリドーマ抗体の結合アフィニティーを決定することを含む。いくつかの態様において、ハイブリドーマをスクリーニングすることは、標的抗体のイデオトープを含まない非標的分子、例えば、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含まないFcもしくはそのフラグメントまたは別の抗体もしくはそのフラグメントなどについてのハイブリドーマ抗体の結合アフィニティーを決定することをさらに含み、ただし、この場合、ハイブリドーマ抗体が標的分子に結合し、しかし、非標的分子には結合しないことにより、ハイブリドーマ抗体が標的分子と特異的に結合することが示される。

【0252】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、方法は、(a) Fcドメインまたはそのフラグメントに融合された標的抗体のscFvを含む可溶性免疫原を対象に導入すること、および(b) 標的抗体のイデオトープを含む分子（例えば、免疫原など）に特異的に結合する対象由来の抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、scFvはキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在し、またはキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる。いくつかの態様において、FcドメインまたはそのフラグメントはヒトIgG1 Fcまたはそのフラグメントである。いくつかの態様において、Fcドメインまたはそのフラグメントは、ヒンジ領域を欠くFcドメインである。いくつかの態様において、Fcドメインまたはそのフラグメントは、SEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体を特定することは、ハイブリドーマ技術を使用して、対象によって産生される個々の抗体クローンを特定し、該抗体クローンを、標的抗体のイデオトープを含む分子（例えば、免疫原など）への結合についてスクリーニングすることを含む。いくつかの態様において、抗体を特定することは、(i) B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製すること、(ii) ハイブリドーマを、標的抗体のイデオトープを含む分子（例えば、免疫原など）と特異的に結合する抗体の産生についてスクリーニングすること、および(iii) 標的抗体のイデオトープを含む分子（例えば、免疫原など）と特異的に結合する抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、それにより、抗イディオタイプ抗体を特

10

20

30

40

50

定することを含む。いくつかの態様において、ハイブリドーマをスクリーニングすることは、標的抗体のイディオトープを含む標的分子、例えば、免疫原、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含むscFvまたはCARまたはそれらのフラグメントなどについてのハイブリドーマ抗体の結合アフィニティーを決定することを含む。いくつかの態様において、ハイブリドーマをスクリーニングすることは、標的抗体のイディオトープを含まない非標的分子、例えば、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含まないFcもしくはそのフラグメントまたは別の抗体もしくはそのフラグメントなどについてのハイブリドーマ抗体の結合アフィニティーを決定することをさらに含み、ただし、この場合、ハイブリドーマ抗体が標的分子に結合し、しかし、非標的分子には結合しないことにより、ハイブリドーマ抗体が標的分子と特異的に結合することが示される。

10

【0253】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、方法は、(a) Fcドメインまたはそのフラグメントに融合された標的抗体のscFvを含む可溶性免疫原を対象に導入すること、ならびに(b) (i) 標的抗体のイディオトープを含む標的分子、例えば、免疫原、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含むscFvまたはCARまたはそれらのフラグメントなどに結合し、かつ(ii) 標的抗体のイディオトープを含まない非標的分子、例えば、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含まないFcもしくはそのフラグメントまたは別の抗体もしくはそのフラグメントなどには結合しない対象由来の抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、scFvはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在し、またはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる。いくつかの態様において、FcドメインまたはそのフラグメントはヒトIgG1 Fcまたはそのフラグメントである。いくつかの態様において、Fcドメインまたはそのフラグメントは、ヒンジ領域を欠くFcドメインである。いくつかの態様において、Fcドメインまたはそのフラグメントは、SEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、抗体を特定することは、ハイブリドーマ技術を使用して、対象によって産生される個々の抗体クローンを特定し、該抗体クローンを標的分子および非標的分子への結合についてスクリーニングすることを含む。いくつかの態様において、抗体を特定することは、(i) B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製すること、(ii) ハイブリドーマを、標的分子に結合するが、非標的分子には結合しない抗体の産生についてスクリーニングすること、および(iii) 標的分子に結合するが、非標的分子には結合しない抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、それにより、抗イディオタイプ抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、ハイブリドーマをスクリーニングすることは、標的分子および非標的分子についてのハイブリドーマ抗体の結合アフィニティーを決定することを含む。

20

30

【0254】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、方法は、(a) Fcドメインまたはそのフラグメントに融合されたFMC63抗体由来のscFv（例えば、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を含むscFvなど）を含む可溶性免疫原を対象に導入すること、ならびに(b) (i) FMC63抗体のイディオトープを含む標的分子、例えば、免疫原、FMC63抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含むscFvまたはCARまたはそれらのフラグメントなどに結合し、かつ(ii) FMC63抗体のイディオトープを含まない非標的分子、例えば、FMC63抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分（例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など）を含まないFcもしくはそのフラグメントまたは別の抗体もしくはそのフラグメントなどには結合しない対象由来の抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、免疫原は、任意でリンカー（例えば、SEQ ID NO: 33に示さ

40

50

れるリンカー)によって隔てられている、SEQ ID NO: 34およびSEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、免疫原はSEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、(b)において特定される抗体は免疫原に結合し、SJ25C1抗体に由来するFcドメインもしくはそのフラグメント、またはSJ25C1抗体に由来するscFv(例えば、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を含むscFvなど)を含む分子のどちらにも結合しない。いくつかの態様において、(b)において特定される抗体は、SEQ ID NO: 34または35のアミノ酸配列を含む標的分子に結合し、SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を含む非標的分子、またはSEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を含む非標的分子のどちらにも結合しない。

【0255】

任意のそのような態様のいくつかにおいて、方法は、(a)Fcドメインまたはそのフラグメントに融合されたSJ25C1抗体由来のscFv(例えば、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を含むscFvなど)を含む可溶性免疫原を対象に導入すること、ならびに(b)(i)SJ25C1抗体のイディオトープを含む標的分子、例えば、免疫原、SJ25C1抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分(例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など)を含むscFvまたはCARまたはそれらのフラグメントなどに結合し、かつ(ii)SJ25C1抗体のイディオトープを含まない非標的分子、例えば、SJ25C1抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域あるいはそれらの一部分(例えば、VH領域および/またはVL領域のCDRの1つまたは複数など)を含まないFcもしくはそのフラグメントまたは別の抗体もしくはそのフラグメントなどには結合しない対象由来の抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、免疫原は、任意でリンカー(例えば、SEQ ID NO: 33に示されるリンカー)によって隔てられている、SEQ ID NO: 28およびSEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様において、(b)において特定される抗体は免疫原に結合し、FMC63抗体に由来するFcドメインもしくはそのフラグメント、またはFMC63抗体に由来するscFv(例えば、SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を含むscFvなど)を含む分子のどちらにも結合しない。いくつかの態様において、(b)において特定される抗体は、SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を含む標的分子に結合し、SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を含む非標的分子、またはSEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を含む非標的分子のどちらにも結合しない。

【0256】

いくつかの態様において、抗体を特定することは、ハイブリドーマ技術を使用して、対象によって産生される個々の抗体クローンを特定し、該抗体クローンを標的分子および非標的分子への結合についてスクリーニングすることを含む。いくつかの態様において、抗体を特定することは、(i)B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製すること、(ii)ハイブリドーマを、標的分子に結合するが、非標的分子には結合しない抗体の産生についてスクリーニングすること、および(iii)標的分子に結合するが、非標的分子には結合しない抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、それにより、抗イディオタイプ抗体を特定することを含む。いくつかの態様において、ハイブリドーマをスクリーニングすることは、標的分子および非標的分子についてのハイブリドーマ抗体の結合アフィニティを決定することを含む。

【0257】

例示的態様において、SJ25C1に由来する抗CD19 scFvを含有する例示的な抗CD19キメラ抗原受容体(CAR)のscFv部分を認識する抗イディオタイプ抗体の特定が、以下に示される配列:

10

20

30

40

EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGDG
 DTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVDFYFDYW
 GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGT
 NVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFC
 QQYNRYPYTSGGGTKLEIKR (SEQ ID NO: 28)

を含む免疫原を使用してもたらされ得る。いくつかの態様において、免疫原は、例えば、SEQ ID NO: 32に示されるようなFcドメインまたはそのフラグメントをさらに含有することがある。

10

【0258】

例示的態様において、FMC63に由来する抗CD19 scFvを含有する例示的な抗CD19キメラ抗原受容体 (CAR) のscFv部分を認識する抗イディオタイプ抗体の特定が、以下に示される配列:

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGV
 PSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPG
 SGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLG
 VIWGSETTYNSALKSRLTIHKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYA
 MDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:34)

20

を含む免疫原を使用してもたらされ得る。

【0259】

いくつかの態様において、免疫原は、例えば、SEQ ID NO: 32に示されるようなFcドメインまたはそのフラグメントをさらに含有することがある。いくつかの態様において、FMC63に由来する抗CD19 scFvを含有する例示的な抗CD19キメラ抗原受容体 (CAR) のscFv部分を認識する抗イディオタイプ抗体の特定が、以下に示される配列:

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFS
 GSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEV
 KLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALK
 SRLTIHKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSSPCPAPE
 LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
 YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
 MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 35)

30

を含む免疫原を使用してもたらされ得る。

【0260】

III. キメラ抗原受容体 (CAR) および遺伝子改変細胞

40

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、抗体SJ25C1または抗体FMC63に由来する抗原結合部分を含有するキメラ抗原受容体 (CAR) (例えば、抗CD19 CARなど) の抗原結合部分に特異的に結合する。いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、細胞表面において、例えば、養子細胞療法に関連して使用される細胞などの表面において発現されるそのようなCARに結合する。いくつかの態様において、細胞は、遺伝子改変により導入される1つまたは複数の核酸を含み、その結果、そのような核酸の組換えCAR産物または遺伝子改変されたCAR産物を発現する。いくつかの態様において、免疫細胞内に遺伝子改変されたときのキメラ受容体はT細胞の活性を調節することができ、また、いくつかの場合にはT細胞の分化または恒常性を調節することができ、それにより、インビボにおける改善された寿命、生存および/または持続性を有する遺伝子改

50

変された細胞を、例えば、養子細胞治療法での使用などのためにもたらず。いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、標的CARを発現する工学的に改変された細胞を活性化するための方法、刺激するための方法、および/または増殖させるための方法を含めて、これらの活性の1つまたは複数を調節するための方法において使用することができる。

【0261】

いくつかの態様において、細胞は、提供された方法に従って遺伝子改変により導入される1つまたは複数の核酸を含み、その結果、そのような核酸の組換え産物または遺伝子改変産物を発現する。いくつかの態様において、核酸は異種であり、すなわち、通常の場合、細胞または細胞から得られる試料には存在しておらず、例えば、別の生物または細胞から得られる核酸（例えば、工学的に改変中の細胞、および/またはそのような細胞の由来源である生物において通常見いだされない核酸）などである。いくつかの態様において、核酸は天然に存在しておらず、例えば、複数の異なる細胞タイプからの様々なドメインをコードする核酸のキメラな組合せを含む核酸を含めて、自然界において見いだされない核酸などである。特定の態様において、核酸は、CARをコードする遺伝子を含有する。

10

【0262】

いくつかの態様において、提供された様々な方法は、同時に、あるいは連続して、あるいは遺伝子改変された細胞の製造または調製のための1つまたは複数の処理工程と同時に行われることがある。これらの方法の処理工程は、いくつかの細胞処理工程のいずれか1つまたは複数を単独または組合せで含むことがある。特定の態様において、処理工程は、1つまたは複数の核酸を用いた、例えば、組換え受容体をコードする遺伝子を含む異種ポリヌクレオチドを用いた細胞への形質導入またはトランスフェクションを含む。ある特定の態様において、細胞が、レトロウイルスベクター（例えば、細胞内での発現のための組換え産物をコードするレトロウイルスベクターなど）を含有するウイルスベクター粒子による形質導入を受ける。ある特定の態様において、細胞は、1つまたは複数の非ウイルス核酸（例えば、エピソームプラスミドまたはトランスポゾン）によるトランスフェクションを受ける。方法はさらに、および/または代替として、他の処理工程、例えば、細胞の単離、分離、選択、洗浄、懸濁、希釈、濃縮および/または処方のための工程などを含むことがある。いくつかの場合において、方法はまた、提供された方法に従っていくつかの場合には行うことができる細胞の培養、刺激または拡大（例えば、細胞を、例えば、その増殖および/または活性化を誘導するために刺激すること）のためのエキスピボ工程を含むことができる。いくつかの態様において、方法は、細胞を対象から単離し、調製し、処理し、培養し、および/または工学的に改変し、同じ対象に凍結保存前もしくは凍結保存後に再導入することを含む。

20

30

【0263】

いくつかの態様において、方法は、以下の順序で実施される処理工程を含む：細胞（例えば、初代細胞など）が最初に生物学的試料から単離される（例えば、選択または分離される）；選択された細胞が形質導入のためにウイルスベクター粒子とインキュベートされる；形質導入を受けた細胞が組成物に製剤化される。いくつかの場合において、形質導入細胞が、例えば、提供された方法などに従った、例えば、刺激試薬の存在下での刺激などによってエキスピボで活性化され、拡大され、または増殖させられる。いくつかの態様において、方法は、細胞の洗浄、懸濁、希釈および/または濃縮の中からの1つまたは複数の処理工程を含むことができ、そのような1つまたは複数の処理工程は、単離工程（例えば、分離工程または選択工程など）、形質導入工程、刺激工程および/または製剤化工程の1つまたは複数の前に、あるいはそのような工程の1つまたは複数の期間中に、あるいはそのような工程の1つまたは複数と同時に、あるいはそのような工程の1つまたは複数に続いて行うことができる。

40

【0264】

特定の態様において、トランスフェクションまたは形質導入を受ける細胞は、1つまたは複数の核酸との接触の前におけるその単離、選択または濃縮が行われない。いくつかの

50

態様において、細胞は、細胞を1つまたは複数の核酸と接触させる前におけるその選択が行われたい。いくつかの態様において、トランスフェクションまたは形質導入を受ける細胞は、細胞を1つまたは複数の核酸と接触させる前におけるその濃縮が行われたい。

【0265】

いくつかの態様において、遺伝子改変された細胞を含有する組成物を調製することに関連する細胞処理工程を含めて、提供された方法に関連して細胞を調製すること、処理すること、および/またはインキュベートすることに関連する細胞処理工程の1つまたは複数、ある種の利点を他の利用可能な方法と比較して提供することができる遠心分離チャンパーの内部空洞（例えば、形状が一般に円筒状であり、かつ、回転軸の周りに回転可能である実質的に剛性のチャンパーなど）において行うことができる。いくつかの態様において、すべての処理工程が、同じ遠心分離チャンパーにおいて行われる。いくつかの態様において、1つまたは複数の処理工程が、異なる遠心分離チャンパーにおいて、例えば、同じタイプの複数の遠心分離チャンパーなどにおいて行われる。そのような方法には、国際公開公報番号WO2016/073602に記載されるような方法のいずれもが含まれる。

10

【0266】

例示的な遠心分離チャンパーとして、Biosafe SAによって製造および販売されるものが、Sepax（登録商標）システムおよびSepax（登録商標）2システムとともに使用されるためのもの、例えば、A-200/FおよびA-200の遠心分離チャンパー、ならびにそのようなシステムとともに使用されるための様々なキットを含めて挙げられる。例示的なチャンパー、システム、ならびに処理用の機器類およびキャビネットが、例えば、米国特許第6,123,655号、米国特許第6,733,433号および米国特許出願公開第2008/0171951号、ならびに国際特許出願公開公報番号WO 00/38762に記載される（それらのそれぞれの内容はその全体が参照により本明細書に組み入れられる）。特定のプロセス（例えば、希釈、洗浄、形質導入、製剤化）に依存して、プロセスに適している特定のキットを選ぶことは当業者のレベルの範囲内である。そのようなシステムとともに使用されるための例示的なキットには、CS-430.1、CS-490.1、CS-600.1またはCS-900.2の製品名でBioSafe SAによって販売される単回使用キットが含まれるが、これらに限定されない。

20

【0267】

いくつかの態様において、システムは、該システムにおいて実行される様々な処理工程の局面を操作し、自動化し、制御し、および/またはモニターするための機器類を含めて、他の機器類とともに含められ、ならびに/あるいは他の機器類と連携させられる。この機器類はいくつかの態様において、キャビネット内に格納される。いくつかの態様において、機器類には、制御回路を含有する筐体、遠心分離機、カバー、モーター、ポンプ、センサー、ディスプレイおよびユーザーインターフェースを含むキャビネットが含まれる。例示的なデバイスが、米国特許第6,123,655号、米国特許第6,733,433号および米国特許出願公開第2008/0171951号に記載される。

30

【0268】

いくつかの態様において、システムは、一連の容器（例えば、バッグなど）、管類、ストップコック、クランプ、コネクターおよび遠心分離チャンパーを含む。いくつかの態様において、容器（例えば、バッグなど）は、形質導入またはトランスフェクションを受ける細胞と、ベクター粒子（例えば、ウイルスベクター粒子）または非ウイルスプラスミドとを同じ容器または別個の容器（例えば、同じバッグまたは別個のバッグなど）において含有する1つまたは複数の容器（例えば、バッグなど）を含む。いくつかの態様において、システムはさらに、構成成分および/または組成物を方法期間中に希釈するために、再懸濁するために、および/または洗浄するためにチャンパーおよび/または他の構成要素に引き入れられる媒体（例えば、希釈剤および/または洗浄液など）を含有する1つまたは複数の容器（例えば、バッグなど）を含む。容器は、システムにおいて1つまたは複数の位置で、例えば、投入ライン、希釈剤ライン、洗浄ライン、廃棄物ラインおよび/または排出ラインに対応する位置などで接続することができる。

40

【0269】

50

いくつかの態様において、システム（例えば、閉鎖システムなど）は無菌である。いくつかの態様において、システムの構成要素のすべての接続、例えば、コネクタを介した管類ラインと容器との間などにおける接続が、無菌条件のもとでなされる。いくつかの態様において、接続が層流のもとでなされる。いくつかの態様において、接続が、無菌接続（例えば、無菌溶接など）を管類と容器との間に生じさせる無菌接続デバイスを使用してなされる。いくつかの態様において、無菌接続デバイスは、無菌性を維持するために十分に高い熱条件のもとで、例えば、少なくとも200 の温度（例えば、少なくとも260 または300 など）などで接続をもたらす。

【0270】

いくつかの態様において、システムは使い捨て型であってもよく、例えば、単回使用キットなどであってもよい。いくつかの態様において、単回使用キットを、例えば、連続様式または半連続様式で行われるプロセスにおいて、複数回の1つまたは複数のプロセスで、例えば、少なくとも2回、3回、4回、5回またはそれ以上などで利用することができる。いくつかの態様において、システム（例えば、単回使用キットなど）が、ただ1名の患者からの細胞を処理するために用いられる。方法の様々な局面において、プロセスは、同じ閉鎖システムにおいて、例えば、同じ遠心分離チャンパーなどにおいて実施される必要はなく、しかし、異なる閉鎖システムのもとで、例えば、異なる遠心分離チャンパーなどにおいて実施することができる。いくつかの態様において、そのような異なる遠心分離チャンパーは、同じシステムと連携させられる方法、例えば、同じ遠心分離機と連携させられる方法などのそれぞれの点に存在する。いくつかの態様において、すべての処理工程が閉鎖システムで実施され、この場合、それぞれ1つまたは複数の処理工程のすべてまたはサブセットが、同じ遠心分離チャンパーまたは異なる遠心分離チャンパーにおいて実施される。

10

20

【0271】

A. 標的キメラ抗原受容体（CAR）

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体は、所望の抗原（例えば、腫瘍抗原）に対する特異性を提供し、かつ細胞内のシグナリングドメインに機能的に連結される、または接続される、抗体または抗体フラグメントの抗原結合ドメインを含有する標的CARの細胞外ドメインと特異的に結合する。いくつかの態様において、抗原結合ドメインは、抗体SJ25C1、またはSJ25C1に由来する一部分の抗体フラグメントを含む。いくつかの態様において、抗原結合ドメインは、抗体FMC63、またはFMC63に由来する一部分の抗体フラグメントを含む。いくつかの態様において、細胞内のシグナリングドメインは、一次活性化シグナルをもたらす活性化細胞内ドメイン部分（例えば、T細胞活性化ドメインなど）である。いくつかの態様において、細胞内のシグナリングドメインは、エフェクター機能を容易にするための共刺激シグナリングドメインを含有し、またはさらに含有する。

30

【0272】

いくつかの態様において、特定の抗原（あるいはマーカーまたはリガンド）に対して、例えば、特定の細胞タイプの表面に発現される抗原などに対して特異性を有するCARを発現する工学的に改変された細胞（例えば、T細胞など）が提供される。いくつかの態様において、抗原はポリペプチドである。いくつかの態様において、抗原は炭水化物または他の分子である。いくつかの態様において、抗原は、正常な細胞または組織あるいは標的でない細胞または組織と比較して、疾患または状態の細胞（例えば、腫瘍細胞または病原性細胞など）で選択的に発現し、または過剰発現する。他の態様において、抗原は、正常な細胞で発現し、および/または工学的に改変された細胞で発現する。

40

【0273】

特定の態様において、組換え受容体（例えば、キメラ受容体など）は細胞内のシグナリング領域を含有し、この領域には、細胞質シグナリングドメイン（これは可換的に細胞内のシグナリングドメインとも呼ばれる）、例えば、一次活性化シグナルをT細胞において誘導することができる細胞質（細胞内）領域などが含まれ、例えば、免疫受容体チロシン

50

活性化モチーフ (ITAM) を含むT細胞受容体 (TCR) 構成成分の細胞質シグナリングドメイン (例えば、CD3-ゼータ (CD3) 鎖のゼータ鎖の細胞質シグナリングドメインまたはその機能的な変異体もしくはシグナリング部分) が含まれる。

【0274】

いくつかの態様において、キメラ受容体は、リガンド (例えば、抗原) に特異的に結合する細胞外のリガンド結合ドメインをさらに含有する。いくつかの態様において、キメラ受容体は、抗原に特異的に結合する細胞外の抗原認識ドメインを含有するCARである。いくつかの態様において、リガンド (例えば、抗原など) は、細胞の表面に発現されるタンパク質である。いくつかの態様において、CARはTCR様CARであり、抗原は、TCRと同様に主要組織適合複合体 (MHC) 分子との関連において細胞表面で認識されるプロセッシングされたペプチド抗原 (例えば、細胞内タンパク質のペプチド抗原など) である。

10

【0275】

例示的な抗原受容体 (CARを含む)、およびそのような受容体を工学的に改変し、細胞に導入するための方法には、例えば、国際特許出願公開番号WO200014257、WO2013126726、WO2012/129514、WO2014031687、WO2013/166321、WO2013/071154、WO2013/123061、米国特許出願公開番号US2002131960、US2013287748、US20130149337、米国特許第6,451,995号、同第7,446,190号、同第8,252,592号、同第8,339,645号、同第8,398,282号、同第7,446,179号、同第6,410,319号、同第7,070,995号、同第7,265,209号、同第7,354,762号、同第7,446,191号、同第8,324,353号および同第8,479,118号、そして欧州特許出願番号EP2537416に記載されるもの、ならびに/あるいは、Sadelainら、Cancer Discov. 2013 April;3(4):388-398; Davilaら (2013) PLoS ONE 8(4):e61338; Turtleら、Curr. Opin. Immunol, 2012 October;24(5):633-39; Wuら、Cancer, 2012 March 18(2):160-75によって記載されるものがある。いくつかの局面において、抗原受容体には、米国特許第7,446,190号に記載されるようなCAR、および国際特許出願公開番号WO/2014055668 A1に記載されるものが含まれる。CARの例には、上記刊行物のいずれかに開示されるようなCAR、例えば、WO2014031687、米国特許第8,339,645号、米国特許第7,446,179号、米国特許出願公開第2013/0149337号、米国特許第7,446,190号、米国特許第8,389,282号、Kochenderferら、2013, Nature Reviews Clinical Oncology, 10, 267-276 (2013); Wangら (2012) J. Immunother. 35(9):689-701; およびBrentjensら、Sci Transl Med.2013 5(177)などに開示されるようなCARなどがある。WO2014031687、米国特許第8,339,645号、米国特許第7,446,179号、米国特許出願公開第2013/0149337号、米国特許第7,446,190号および米国特許第8,389,282号もまた参照のこと。

20

30

【0276】

いくつかの態様において、CARが、特定の抗原 (あるいはマーカーまたはリガンド) に対する特異性を伴って、例えば、養子療法によって標的化されることになる特定の細胞タイプにおいて発現される抗原 (例えば、がんマーカー)、および/または抑制応答を誘導するために意図される抗原 (例えば、正常な細胞タイプまたは非罹患の細胞タイプで発現される抗原など) に対する特異性を伴って構築される。したがって、CARは典型的には、その細胞外部分に、1つまたは複数の抗原結合性分子 (例えば、1つまたは複数の抗原結合性フラグメント、抗原結合ドメインまたは抗原結合部分、あるいは1つまたは複数の抗体可変ドメインおよび/または抗体分子など) を含む。いくつかの態様において、CARは抗体分子の (1つまたは複数の) 抗原結合部分を含み、例えば、モノクローナル抗体 (mAb) の可変重鎖 (VH) および可変軽鎖 (VL) に由来する一本鎖抗体フラグメント (scFv) などを含む。

40

【0277】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分がCARの一部として細胞表面に発現される。一般に、ペプチド-MHC複合体に対して向けられたTCR様特異性を呈する抗体または抗原結合性フラグメントを含有するCARはまた、TCR様CARと呼ばれることがある。いくつかの態様において、TCR様CARのMHC-ペプチド複合体について特異的な細胞外の抗原結合ドメインが、いくつかの局面ではリンカーおよび/または膜貫通ドメインを介して1つ

50

または複数の細胞内のシグナリング構成成分に連結される。いくつかの態様において、そのような分子は典型的には、天然の抗原受容体（例えば、TCRなど）を介するシグナル、および、任意ではあるが、共刺激受容体との組合せでそのような受容体を介するシグナルを模倣することができ、またはこれらのシグナルに近似することができる。

【0278】

いくつかの態様において、組換え受容体（例えば、キメラ受容体（例えば、CAR）など）は、抗原（またはリガンド）に結合する（例えば、特異的に結合する）リガンド結合ドメインを含む。キメラ受容体によって標的化される抗原には、養子細胞療法を介して標的とされる疾患、状態または細胞タイプとの関連で発現される抗原が挙げられる。そのような疾患および状態には、血液がん、免疫系のがん（例えば、リンパ腫、白血病および/または骨髄腫など、例えば、B、Tおよび骨髄性白血病、リンパ腫、ならびに多発性骨髄腫など）を含むがんおよび腫瘍を含めて、増殖性、新生物性および悪性の疾患および障害がある。

10

【0279】

いくつかの態様において、抗原（またはリガンド）はポリペプチドである。いくつかの態様において、抗原は炭水化物または他の分子である。いくつかの態様において、抗原（またはリガンド）は、正常な細胞または組織あるいは標的でない細胞または組織と比較して、疾患またはある状態の細胞（例えば、腫瘍細胞または病原性細胞など）において選択的に発現するかまたは過剰発現する。他の態様において、抗原は、正常な細胞で発現し、かつ/または工学的に改変された細胞で発現する。

20

【0280】

いくつかの態様において、CARは、細胞の表面に発現される抗原（例えば、インタクトな抗原など）を特異的に認識する抗体または抗原結合性フラグメント（例えば、scFv）を含有する。

【0281】

いくつかの態様において、抗原（またはリガンド）は腫瘍抗原またはがんマーカーである。いくつかの態様において、抗原（またはリガンド）は、v 6インテグリン（avb6インテグリン）、B細胞成熟抗原（BCMA）、B7-H6、炭酸脱水酵素9（CA9、これはCAIXまたはG250としてもまた公知である）、がん精巣抗原、がん/精巣抗原1B（CTAG、これはNY-ESO-1およびLAGE-2としてもまた公知である）、がん胎児性抗原（CEA）、サイクリン、サイクリンA2、C-Cモチーフケモカインリガンド1（CCL-1）、CD19、CD20、CD22、CD23、CD24、CD30、CD33、CD38、CD44、CD44v6、CD44v7/8、CD123、CD138、CD171、上皮増殖因子タンパク質（EGFR）、切断型上皮増殖因子タンパク質（tEGFR）、III型上皮増殖因子受容体変異（EGFR vIII）、上皮糖タンパク質2（EPG-2）、上皮糖タンパク質40（EPG-40）、エフリンB2、エフリン受容体A2（EPHa2）、エストロゲン受容体、Fc受容体様5（FCRL5;これはFc受容体ホモログ5またはFCRH5としてもまた公知である）、胎児アセチルコリン受容体（胎児AchR）、葉酸結合タンパク質（FBP）、葉酸受容体アルファ、胎児アセチルコリン受容体、ガングリオシドGD2、O-アセチル化GD2（OGD2）、ガングリオシドGD3、糖タンパク質100（gp100）、Her2/neu（受容体型チロシンキナーゼerbB2）、Her3（erb-B3）、Her4（erb-B4）、erbB二量体、ヒト高分子量メラノーマ関連抗原（HMW-MAA）、B型肝炎表面抗原、ヒト白血球抗原A1（HLA-A1）、ヒト白血球抗原A2（HLA-A2）、IL-22受容体アルファ（IL-22Ra）、IL-13受容体アルファ2（IL-13Ra2）、キナーゼインサートドメイン受容体（kdr）、カップ軽鎖、L1細胞接着分子（L1CAM）、L1-CAMのCE7エピトープ、ロイシンリッチリピート含有8ファミリーメンバーA（LRRRC8A）、ルイスY、メラノーマ関連抗原（MAGE）-A1、MAGE-A3、MAGE-A6、メソテリン、c-Met、マウスサイトメガロウイルス（CMV）、ムチン1（MUC1）、MUC16、ナチュラルキラーグループ2メンバーD（NKG2D）リガンド、メラニンA（MART-1）、神経細胞接着分子（NCAM）、腫瘍胎児性抗原、メラノーマの優先発現抗原（PRAME）、プロゲステロン受容体、前立腺特異的抗原、前立腺幹細胞抗原（PSCA）、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、受容体チロシンキナーゼ様オーファン受容体1（ROR1）、サバイビン、トロホブラスト糖タンパク質（5T4としてもまた公知であるTPBG）、腫瘍関連糖タ

30

40

50

ンパク質72 (TAG72)、血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR)、血管内皮増殖因子受容体2 (VEGFR2)、ウィルムス腫瘍1 (WT-1)、病原体特異的抗原、ユニバーサルタグに関連する抗原、および/またはビオチン化分子、ならびに/あるいは、HIV、HCV、HBV、HPV、および/または他の病原体、および/またはそれらの発がん型によって発現される分子、および/またはそれらに特徴的な分子、あるいはそれらについて特異的な分子である。いくつかの態様において受容体によって標的化される抗原には、B細胞悪性腫瘍に関連する抗原、例えば、いくつかの公知のB細胞マーカーのいずれかなどが含まれる。いくつかの態様において、受容体によって標的化される抗原が、CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igカッパ、Igラムダ、CD79a、CD79bまたはCD30である。

【0282】

10

いくつかの態様において、抗原は病原体特異的抗原である。いくつかの態様において、抗原は、ウイルス抗原 (例えば、HIV、HCV、HBVなどに由来するウイルス抗原など)、細菌抗原および/または寄生虫抗原である。

【0283】

いくつかの態様において受容体によって標的化される抗原には、B細胞悪性腫瘍に関連する抗原、例えば、いくつかの公知のB細胞マーカーのいずれかなどが含まれる。いくつかの態様において、受容体によって標的化される抗原が、CD20、CD19、CD22、ROR1、CD45、CD21、CD5、CD33、Igカッパ、Igラムダ、CD79a、CD79bまたはCD30である。いくつかの態様において、抗原はCD19であり、抗CD19抗体 (例えば、SJ25C1もしくはSJ25C1由来の抗原結合性フラグメント、またはFMC63もしくはFMC63由来の抗原結合性フラグメントなど) によって特異的に結合される。

20

【0284】

いくつかの態様において、抗原結合タンパク質、抗体およびそれらの抗原結合性フラグメントは、全長抗体の抗原を特異的に認識する。いくつかの態様において、抗体の重鎖および軽鎖は完全長であることが可能であり、または抗原結合部分 (Fab、F(ab')₂、Fvまたは一本鎖Fvフラグメント (scFv)) であることが可能である。他の態様において、抗体重鎖定常領域が、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEから選ばれ、具体的には、例えば、IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4から選ばれ、より具体的には、IgG1 (例えば、ヒトIgG1) から選ばれる。別の態様において、抗体軽鎖定常領域が、例えば、カッパまたはラムダから選ばれ、具体的にはカッパから選ばれる。

30

【0285】

提供された抗体には、抗体フラグメントが挙げられる。「抗体フラグメント」とは、インタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子の中で、該インタクトな抗体が結合する抗原と結合する分子を指す。抗体フラグメントの例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、ダイアポディ;線状抗体;可変重鎖 (VH) 領域、一本鎖抗体分子、例えば、scFvおよび単一ドメインVH単一抗体など;ならびに抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体があるが、それらに限定されない。特定の態様において、抗体は、可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む一本鎖抗体フラグメント (例えば、scFvなど) である。

【0286】

40

用語「可変領域」または用語「可変ドメイン」は、抗体を抗原に結合させることに関与する、抗体重鎖または抗体軽鎖のドメインを指す。ネイティブ抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン (それぞれ、VHおよびVL) は一般には、類似する構造を有しており、各ドメインが、4つの保存されたフレームワーク領域 (FR) と、3つのCDRとを含む。(例えば、Kindtら Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007) を参照のこと)。VHドメインまたはVLドメインは1つだけで、抗原結合特異性を付与するために十分であることがある。さらにまた、特定の抗原と結合する抗体が、その抗原と結合する抗体からのVHドメインまたはVLドメインを使用して、相補的なVLドメインまたはVHドメインのライブラリーをそれぞれスクリーニングするために単離されることがある。例えば、Portolanoら, J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarksonら, Nature 352:624-628 (1991) を

50

参照のこと。

【0287】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインのすべてもしくは一部分または抗体の軽鎖可変ドメインのすべてもしくは一部分を含む抗体フラグメントである。ある特定の態様において、単ドメイン抗体はヒト単ドメイン抗体である。いくつかの態様において、CARは、抗原、例えば、標的化されることになる細胞または疾患（例えば、腫瘍細胞またはがん細胞など）のがんマーカーまたは細胞表面抗原など、例えば、本明細書において記載される、または当技術分野において公知である標的抗原のいずれかなどと特異的に結合する抗体重鎖ドメインを含む。

【0288】

抗体フラグメントを、インタクトな抗体のタンパク質分解的消化、同様にまた、組換え宿主細胞による産生（これらに限定されない）を含めて様々な技法によって製造することができる。いくつかの態様において、抗体は、組換え産生されたフラグメントであり、例えば、天然には存在しない編成を含むフラグメントなどであり、例えば、2つ以上の抗体領域もしくは抗体鎖が合成リンカー（例えば、ペプチドリソリンカー）によってつながれるフラグメント、および/または天然に存在するインタクトな抗体の酵素消化によって生じなくてもよいフラグメントなどである。いくつかの態様において、抗体フラグメントはscFvである。

【0289】

「ヒト化」抗体は、すべてまたは実質的にすべてのCDRアミノ酸残基が非ヒトCDRに由来し、かつ、すべてまたは実質的にすべてのFRアミノ酸残基がヒトFRに由来する抗体である。ヒト化抗体は任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。非ヒト抗体の「ヒト化形態」とは、元になる非ヒト抗体の特異性およびアフィニティーを保ちつつ、典型的にはヒトに対する免疫原性を低減するためにヒト化を受けた該非ヒト抗体の変異体を指す。いくつかの態様において、ヒト化抗体におけるいくつかのFR残基が、例えば、抗体の特異性またはアフィニティーを回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、CDR残基の由来源である抗体）の対応残基で置換される。

【0290】

キメラ受容体（例えば、CARなど）は一般に、細胞外の抗原結合ドメイン、例えば、抗体分子（例えば、SJ25C1またはFMC63）の一部分（一般には抗体（例えば、scFv抗体フラグメント）の可変重（VH）鎖領域および/または可変軽（VL）鎖領域など）を含む。

【0291】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、抗体または抗体フラグメントを含有する細胞外部分を含む。いくつかの局面において、キメラ抗原受容体は、抗体またはフラグメントを含有する細胞外部分と、細胞内のシグナリングドメインとを含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントはscFvを含む。いくつかの態様において、scFvはSJ25C1に由来し、SEQ ID NO:28に示されるアミノ酸の配列を含む。いくつかの態様において、scFvはFMC63に由来し、SEQ ID NO:34に示されるアミノ酸の配列を含む。

【0292】

いくつかの態様において、組換え受容体（例えば、CARなど）、例えば、その抗体部分などは、スペーサーをさらに含み、この場合、スペーサーは、免疫グロブリン定常領域またはその変異体もしくは修飾型の少なくとも一部分、例えば、ヒンジ領域（例えば、IgG4ヒンジ領域）ならびに/あるいはCH1/CL領域および/またはFc領域などであってもよく、あるいは免疫グロブリン定常領域またはその変異体もしくは修飾型の少なくとも一部分、例えば、ヒンジ領域（例えば、IgG4ヒンジ領域）、ならびに/あるいはCH1/CL領域および/またはFc領域などを含んでもよい。いくつかの態様において、定常領域または定常部分は、ヒトIgG（例えば、IgG4またはIgG1など）のものである。いくつかの局面において、定常領域の前記一部分は、抗原認識構成成分（例えば、scFv）と、膜貫通ドメインとの間のスペーサー領域として役立つ。スペーサーは、スペーサーが存在しない場合と比較して、抗原結合後の細胞の応答性を増大させる長さのものが可能である。いくつかの例において、

10

20

30

40

50

スペーサーは、長さが12アミノ酸もしくは約12アミノ酸であり、または長さが最長でも12アミノ酸である。例示的スペーサーとして、少なくとも約10個～229個のアミノ酸、約10個～200個のアミノ酸、約10個～175個のアミノ酸、約10個～150個のアミノ酸、約10個～125個のアミノ酸、約10個～100個のアミノ酸、約10個～75個のアミノ酸、約10個～50個のアミノ酸、約10個～40個のアミノ酸、約10個～30個のアミノ酸、約10個～20個のアミノ酸、または約10個～15個のアミノ酸（列挙範囲のいずれかの端点の間におけるどのような整数も含む）を有するものが挙げられる。いくつかの態様において、スペーサー領域は、約12個以下のアミノ酸、約119個以下のアミノ酸、または約229個以下のアミノ酸を有する。例示的スペーサーは、IgG4ヒンジのみ、CH2ドメインおよびCH3ドメインに連結されたIgG4ヒンジ、またはCH3ドメインに連結されたIgG4ヒンジを含む。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:150に示される配列を有し、SEQ ID NO:151に示される配列によってコードされる。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:152に示される配列を有する。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:153に示される配列を有する。例示的スペーサーには、Hudecekら（2013）Clin. Cancer Res., 19:3153、国際特許出願公開番号WO2014031687、米国特許第8,822,647号または米国特許出願公開第2014/0271635号に記載されるスペーサーがあるが、それらに限定されない。

10

【0293】

いくつかの態様において、定常領域または定常部分はIgDのものである。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:154に示される配列を有する。いくつかの態様において、スペーサーは、SEQ ID NO:1、3、4および5のいずれかに対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を有する。

20

【0294】

いくつかの態様において、抗原受容体は、細胞外ドメインに直接的または間接的に連結される細胞内ドメインを含む。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、細胞外ドメインと、細胞内のシグナリングドメインとを連結する膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様において、膜貫通ドメインは細胞外ドメインに融合される。いくつかの態様において、細胞内のシグナリングドメインはITAMを含む。例えば、いくつかの局面において、抗原認識ドメイン（例えば、細胞外ドメイン）は一般には、1つまたは複数の細胞内のシグナリング構成成分、例えば、活性化をCARの場合には抗原受容体複合体（例えば、TCR複合体など）を介して模倣するシグナリング構成成分、および/またはシグナリングを別の細胞表面受容体を介して行うシグナリング構成成分などに連結される。いくつかの態様において、キメラ受容体は、細胞外ドメイン（例えば、scFv）と、細胞内のシグナリングドメインとを連結する膜貫通ドメイン、または両者の間に融合される膜貫通ドメインを含む。したがって、いくつかの態様において、抗原結合性構成成分（例えば、抗体）は1つまたは複数の膜貫通ドメインおよび細胞内のシグナリングドメインに連結される。

30

【0295】

1つの態様において、受容体（例えば、CAR）におけるドメインの1つに天然では付随する膜貫通ドメインが使用される。いくつかの例において、膜貫通ドメインは、同じまたは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインに対する前述ドメインの結合を回避して、受容体複合体の他の構成要素との相互作用を最小限に抑えるために選択され、またはアミノ酸置換によって修飾される。

40

【0296】

膜貫通ドメインはいくつかの態様において、天然供給源または合成供給源のどちらにも由来する。供給源が天然である場合、ドメインはいくつかの局面において、任意の膜結合型タンパク質または膜貫通タンパク質に由来する。膜貫通領域は、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖またはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154に由来する膜貫通領域を含む（すなわち、それらの膜貫通領域（1つまたは複数）を少なくとも含む）。あるいは、膜貫通ドメインはいくつかの態様において、合成である。いくつかの局面において、合

50

成された膜貫通ドメインは、主として疎水性残基（例えば、ロイシンおよびバリンなど）を含む。いくつかの局面において、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンのトリプレットが、合成された膜貫通ドメインの各末端に見いだされるであろう。いくつかの態様において、連結は、リンカー、スペーサーおよび/または膜貫通ドメインによる連結である。いくつかの局面において、膜貫通ドメインはCD28の膜貫通部分を含有する。

【0297】

いくつかの態様において、細胞外ドメインと、膜貫通ドメインとは、直接的または間接的に連結することができる。いくつかの態様において、細胞外ドメインと、膜貫通部とは、スペーサーによって、例えば、本明細書において記載されるいずれかのスペーサーなどによって連結される。いくつかの態様において、受容体は、膜貫通ドメインが由来する分子の細胞外部分（例えば、CD28の細胞外部分など）を含有する。

10

【0298】

細胞内シグナリングドメインには、シグナルを、天然の抗原受容体を介して模倣する、または近似するもの、シグナルを、共刺激受容体との組合せでそのような受容体を介して模倣する、または近似するもの、ならびに/あるいは、シグナルを、共刺激受容体のみを介して模倣する、または近似するものが挙げられる。いくつかの態様において、短いオリゴペプチドリナーまたはポリペプチドリナー、例えば、長さが2個~10個のアミノ酸の間であるリンカー、例えば、グリシンおよびセリンを含有するリンカー（例えば、グリシン-セリンのダブレットを含有するリンカー）などが存在し、CARの膜貫通ドメインと、細胞質シグナリングドメインとの間での連結部を形成する。

20

【0299】

T細胞活性化がいくつかの局面においては、2種類の細胞質シグナリング配列によって、すなわち、抗原依存的な一次活性化をTCR経路で開始する配列（一次細胞質シグナリング配列）と、抗原非依存的な様式で作用して、二次的な、または共刺激性のシグナルを与える配列（二次細胞質シグナリング配列）とによって媒介されるとして記述される。いくつかの局面において、CARは、そのようなシグナリング構成成分の一方または両方を含む。

【0300】

受容体（例えば、CARは）一般には、少なくとも1つの細胞内のシグナリング構成成分または複数の細胞内のシグナリング構成成分を含む。いくつかの局面において、CARは、TCR複合体の一次活性化を調節する一次細胞質シグナリング配列を含む。刺激様式で作用する一次細胞質シグナリング配列は、免疫受容体チロシン活性化モチーフすなわちITAMとして公知であるシグナリングモチーフを含有してもよい。ITAMを含有する一次細胞質シグナリング配列の例には、CD3ゼータ鎖、FcRガンマ、CD3ガンマ、CD3デルタおよびCD3イプシロンに由来するものが含まれる。いくつかの態様において、CARにおける細胞質シグナリング分子（1つまたは複数）は、CD3ゼータ由来の細胞質シグナリングドメイン、その一部分、またはCD3ゼータ由来の配列を含有する。

30

【0301】

いくつかの態様において、受容体は、TCR複合体の細胞内構成成分、例えばT細胞活性化および細胞傷害性を媒介するTCR CD3鎖、例えばCD3ゼータ鎖を含む。したがっていくつかの局面において、抗原結合部分は1つまたは複数の細胞シグナリングモジュールに連結される。いくつかの態様において、細胞シグナリングモジュールは、CD3膜貫通ドメイン、CD3細胞内シグナリングドメイン、および/または他のCD膜貫通ドメインを含む。いくつかの態様において、受容体、例えばCARは、1つまたは複数の追加分子、例えばFc受容体、CD8、CD4、CD25、またはCD16などの一部分を、さらに含む。例えば、いくつかの局面において、CARまたは他のキメラ受容体は、CD3-ゼータ（CD3-）またはFc受容体とCD8、CD4、CD25またはCD16とのキメラ分子を含む。

40

【0302】

いくつかの態様では、CARまたは他のキメラ受容体のライゲーション時に、受容体の細胞質ドメインまたは細胞内シグナリングドメインが、免疫細胞、例えばCARを発現するように工学的に改変されたT細胞の正常なエフェクター機能または応答の少なくとも1つを活

50

性化する。例えば、いくつかの状況では、CARが、細胞溶解活性またはTヘルパー活性などといったT細胞の機能、例えばサイトカインまたは他の因子の分泌などを誘導する。いくつかの態様では、例えば、もし抗原受容体構成成分または共刺激分子の細胞内シグナリングドメインの切断された一部分が、エフェクター機能シグナルを伝達するのであれば、それがインタクトな免疫刺激鎖の代わりに使用される。いくつかの態様において、1つまたは複数の細胞内シグナリングドメインは、T細胞受容体（TCR）の細胞質配列を含み、いくつかの局面では、自然状況下で前述の受容体と強調して作用することで抗原受容体エンゲージメントに続くシグナル伝達を開始させる補助受容体の細胞質配列、および/またはそのような分子の任意の誘導體または変異体、および/または同じ機能的能力を有する任意の合成配列も含む。

10

【0303】

天然TCRの場合、完全な活性化は一般に、TCRによるシグナリングを必要とするだけでなく、共刺激シグナルも必要とする。したがって、いくつかの態様では、完全な活性化を促進するために、二次シグナルまたは共刺激シグナルを生成するための構成成分も、CARに含まれる。別の態様において、CARは、共刺激シグナルを生成するための構成成分を含まない。いくつかの局面では、同じ細胞中で別のCARが発現し、それが二次シグナルまたは共刺激シグナルを生成するための構成成分を提供する。

【0304】

T細胞活性化は、いくつかの局面において、2種類の細胞質シグナリング配列、すなわちTCRによる抗原依存性一次活性化を開始するもの（一次細胞質シグナリング配列）および抗原非依存的に作用して二次シグナルまたは共刺激シグナルを与えるもの（二次細胞質シグナリング配列）によって媒介されると記述される。いくつかの局面において、CARは、そのようなシグナリング構成成分の一方または両方を含む。

20

【0305】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体はT細胞共刺激分子の細胞内ドメインを含有する。いくつかの態様において、CARは、共刺激受容体（例えば、CD28、4-1BB、OX40、DAP10およびICOSなど）のシグナリングドメインおよび/または膜貫通部分を含む。いくつかの局面において、同じCARが、活性化構成成分と、共刺激性構成成分との両方を含む。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、T細胞共刺激分子またはその機能的変異体由来する細胞内ドメインを、例えば、膜貫通ドメインと、細胞内のシグナリングドメインとの間などに含有する。いくつかの局面において、T細胞共刺激分子はCD28または41BBである。

30

【0306】

いくつかの態様において、活性化ドメインが1つのCARの内部に含まれ、これに対して、共刺激性構成成分が、別の抗原を認識する別のCARによって提供される。いくつかの態様において、CARは、活性化CARまたは刺激性CAR、共刺激性CARを含み、この場合、両者が、同じ細胞で発現される（WO2014/055668を参照のこと）。いくつかの局面において、細胞は、1つまたは複数の刺激性CARまたは活性化CAR、ならびに/あるいは共刺激性CARを含む。いくつかの態様において、細胞はさらに、阻害性CAR（iCAR、Fedorovら、*Sci. Transl. Medicine*, 5(215)（December, 2013）を参照のこと）を含み、例えば、疾患もしくは状態に伴う、および/または疾患もしくは状態について特異的である抗原ではない抗原を認識し、それにより、疾患標的化CARを介して送達される活性化シグナルを、阻害性CARがそのリガンドに結合することによって低減させて、または阻害し、例えば、オフターゲット影響を軽減するCARなどを含む。

40

【0307】

ある特定の態様において、細胞内のシグナリングドメインは、CD3（例えば、CD3-ゼータ）の細胞内ドメインに連結されるCD28の膜貫通ドメインおよびシグナリングドメインを含む。いくつかの態様において、細胞内のシグナリングドメインは、CD3ゼータの細胞内ドメインに連結されるキメラなCD28およびCD137（4-1BB、TNFRSF9）の共刺激ドメインを含む。

50

【0308】

いくつかの態様において、CARは、1つまたは複数（例えば、2つ以上）の共刺激ドメインと、活性化ドメイン（例えば、一次活性化ドメイン）とを細胞質部分に包含する。例示的CARは、CD3-ゼータ、CD28および4-1BBの細胞内構成成分を含む。

【0309】

いくつかの態様において、抗原受容体はさらにマーカーを含み、ならびに/あるいは、CARまたは他の抗原受容体を発現する細胞がさらに、受容体を発現させるための細胞の形質導入または細胞の工学的に改変を確認するために使用され得る代用マーカー（例えば、細胞表面マーカーなど）を含む。いくつかの局面において、マーカーは、CD34、NGFRまたは上皮増殖因子受容体のすべてまたは一部分（例えば、切断形態）、例えば、そのような細胞表面受容体の切断型（例えば、tEGFR）などを含む。いくつかの態様において、マーカーをコードする核酸が、リンカー配列（例えば、切断可能リンカー配列など）、例えば、T2Aをコードするポリヌクレオチドに機能的に連結される。例えば、マーカー、および、任意ではあるが、リンカー配列は、特許出願公開番号WO2014031687に開示されるようなどれもが可能である。例えば、マーカーは、リンカー配列（例えば、T2A切断可能リンカー配列など）に任意で連結される切断型EGFR（tEGFR）が可能である。様々な態様において、tEGFRは、SEQ ID NO:155または156に示されるアミノ酸配列を含有する。いくつかの態様において、tEGFRは、SEQ ID NO:155または156に示される配列に対する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%もしくは99%超または約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%もしくは99%超の配列同一性を有するアミノ酸配列を含有する。

【0310】

いくつかの態様において、マーカーは、T細胞上に天然には見いだされない分子またはT細胞の表面上に天然には見いだされない分子、例えば細胞表面タンパク質、またはその一部分である。いくつかの態様において、分子は非自己分子、例えば非自己タンパク質、すなわち細胞の養子移入を受ける宿主の免疫系によって「自己」と認識されないものである。

【0311】

いくつかの態様において、マーカーは、治療的機能を果たさず、かつ/または遺伝子光学用のマーカーとして、例えばうまく工学的に改変された細胞を選択するために使用されること以外の効果を生じない。別の態様において、マーカーは治療分子であるか、または他の形で何らかの望ましい効果を発揮する分子、例えばインビボで出会う細胞のリガンド、例えば養子移入されてリガンドと出会った時の細胞の応答を強化および/または減弱するための共刺激分子または免疫チェックポイント分子でありうる。

【0312】

場合により、CARは、第1、第2、および/または第3世代CARと呼ばれる。いくつかの局面において、第1世代CARは、抗原結合時にCD3鎖誘発性シグナルを与えるだけのものであり、いくつかの局面において、第2世代CARはそのようなシグナルと共シグナル、例えばCD28またはCD137など共刺激受容体からの細胞内シグナリングドメインとを与えるものであり、いくつかの局面において、第3世代CARは、異なる共刺激受容体の複数の共刺激ドメインを含むものである。

【0313】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、本明細書に記載する抗体またはフラグメントを含有する細胞外部分を含む。いくつかの局面において、キメラ抗原受容体は、本明細書に記載する抗体またはフラグメントを含有する細胞外部分と細胞内シグナリングドメインとを含む。いくつかの態様において、抗体またはフラグメントは、scFvまたはシングルドメインV_H抗体と、ITAMを含有する細胞内ドメインとを含む。いくつかの局面において、細胞内シグナリングドメインは、CD3-ゼータ（CD3）鎖のゼータ鎖のシグナリング

ドメインを含む。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、細胞外ドメインと細胞内シグナリング領域の間に位置する膜貫通ドメインを含む。

【0314】

いくつかの局面において、膜貫通ドメインは、CD28の膜貫通部分を含有する。細胞外ドメインと膜貫通部は直接的または間接的に連結することができる。いくつかの態様において、細胞外ドメインと膜貫通部は、スパーサー（例えば本明細書に記載するスパーサーのいずれか）によって連結される。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、T細胞共刺激分子の細胞内ドメインを、膜貫通ドメインと細胞内シグナリングドメインとの間に含有する。いくつかの局面において、T細胞共刺激分子はCD28または4-1BBである。

【0315】

例えばいくつかの態様において、CARは、抗体、例えば抗体フラグメント、CD28の膜貫通部分またはその機能的変異体であるかそれを含有する膜貫通ドメイン、ならびにCD28のシグナリング部分またはその機能的変異体およびCD3ゼータのシグナリング部分またはその機能的変異体を含む細胞内シグナリングドメインを含有する。いくつかの態様において、CARは、抗体、例えば抗体フラグメント、CD28の膜貫通部分またはその機能的変異体であるかそれを含有する膜貫通ドメイン、ならびに4-1BBのシグナリング部分またはその機能的変異体およびCD3ゼータのシグナリング部分またはその機能的変異体を含む細胞内シグナリングドメインを含有する。いくつかのそのような態様において、受容体は、Ig分子（ヒトIg分子など）の一部、例えばIgヒンジ（例えばIgG4ヒンジ）を含有するスパーサー、例えばヒンジのみのスパーサーを、さらに含む。

【0316】

いくつかの態様において、受容体（例えば、CAR）の膜貫通ドメインは、ヒトCD28の膜貫通ドメインまたはその変異体、例えば、ヒトCD28（アクセッション番号P10747.1）の27アミノ酸の膜貫通ドメインであるかあるいは、SEQ ID NO:157に示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:157に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む膜貫通ドメインである。いくつかの態様において、組換え受容体の膜貫通ドメイン含有部分は、SEQ ID NO:158に示されるアミノ酸の配列、または該配列に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上または少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を有するアミノ酸の配列を含む。

【0317】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体はT細胞共刺激分子の細胞内ドメインを含有する。いくつかの局面において、T細胞共刺激分子はCD28または4-1BBである。

【0318】

いくつかの態様において、細胞内のシグナリング領域は、ヒトCD28の細胞内の共刺激シグナリングドメインまたはその機能的変異体もしくは一部分（例えば、その41アミノ酸ドメイン、および/またはネイティブCD28タンパク質の位置186~187における、LLからGGへの置換を有するそのようなドメインなど）を含む。いくつかの態様において、細胞内のシグナリングドメインは、SEQ ID NO:159もしくは160に示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:159もしくは160に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含むことができる。いくつかの態様において、細胞内領域は、4-1BBの細胞内の共刺激シグナリングドメインまたはその機能的変異体もしくは一部分、例えば、ヒト4-1BB（アクセッション番号Q07011.1）の42アミノ酸の細胞質ドメインまたはその機能的変異体もしくは一部分など、例えば、SEQ ID NO:161に示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:161に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列などを含む。

10

20

30

40

50

【0319】

いくつかの態様において、細胞内のシグナリング領域は、ヒトCD3鎖、任意ではあるが、そのCD3ゼータ刺激性シグナリングドメインまたはその機能的変異体、例えば、ヒトCD3（アクセッション番号P20963.2）のアイソフォーム3の112 AAの細胞質ドメイン、または米国特許第7,446,190号もしくは米国特許第8,911,993号に記載されるようなCD3ゼータシグナリングドメインなどを含む。いくつかの態様において、細胞内のシグナリング領域は、SEQ ID NO:162、163もしくは164に示されるアミノ酸の配列、またはSEQ ID NO:162、163もしくは164に対する少なくとも85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%もしくはそれ以上の配列同一性を呈するアミノ酸の配列を含む。

10

【0320】

いくつかの局面において、スペーサーは、IgGのヒンジ領域だけ、例えば、IgG4またはIgG1のヒンジだけなど、例えば、SEQ ID NO:150に示されるヒンジのみのスペーサーなどを含有する。他の態様において、スペーサーは、C_H2ドメインおよび/またはC_H3ドメインに連結されるIgヒンジ（例えば、IgG4ヒンジ）である。いくつかの態様において、スペーサーは、C_H2ドメインおよびC_H3ドメインに連結されるIgヒンジ（例えば、IgG4ヒンジ）、例えば、SEQ ID NO:152に示されるIgヒンジなどである。いくつかの態様において、スペーサーは、C_H3ドメインのみに連結されるIgヒンジ（例えば、IgG4ヒンジ）、例えば、SEQ ID NO:153に示されるIgヒンジなどである。いくつかの態様において、スペーサーは、グリシン-セリンリッチな配列または他の柔軟なリンカー（例えば、公知の柔軟なリンカーなど）であるかあるいはそのような配列またはリンカーを含む。

20

【0321】

例えば、いくつかの態様において、CARは、抗体（例えば、scFvを含めて、抗体フラグメントなど）、スペーサー（例えば、免疫グロブリン分子の一部（例えば、重鎖分子のヒンジ領域および/または1つもしくは複数の定常領域など）を含有するスペーサーなど、例えば、Ig-ヒンジ含有スペーサーなど）、CD28由来の膜貫通ドメインのすべてまたは一部分を含有する膜貫通ドメイン、CD28由来の細胞内のシグナリングドメイン、ならびにCD3ゼータシグナリングドメインを含む。いくつかの態様において、CARは、抗体またはフラグメント（例えば、scFvなど）、スペーサー（例えば、Igヒンジ含有スペーサーのいずれかなど）、CD28由来の膜貫通ドメイン、4-1BB由来の細胞内のシグナリングドメイン、およびCD3ゼータ由来のシグナリングドメインを含む。

30

【0322】

いくつかの態様において、そのようなCAR構築物をコードする核酸分子はさらに、T2Aリボソームスキップエレメントをコードする配列、および/またはtEGFR配列を、例えば、CARをコードする配列の下流側に含む。いくつかの態様において、抗原受容体（例えば、CAR）を発現するT細胞はまた、切断型EGFR（EGFRt）を（例えば、2つのタンパク質を同じ構築物から発現させるためのT2Aリボソームスイッチによって隔てられているCARおよびEGFRtをコードする構築物の導入によって）非免疫原性の選択エピトープとして発現させるために作製することができ、この場合、この非免疫原性選択エピトープはその後、そのような細胞を検出するためのマーカーとして使用することができる（例えば、米国特許第8,802,374号を参照のこと）。いくつかの態様において、1つだけのプロモーターにより、自己切断ペプチドをコードする配列（例えば、2A配列）またはプロテアーゼ認識部位（例えば、フリン）をコードする配列によって互いに隔てられている2つまたは3つの遺伝子（例えば、代謝経路を調節することに関与する分子をコードする遺伝子、および組換え受容体をコードする遺伝子）をただ1つのオープンリーディングフレーム（ORF）に含有するRNAの発現が導かれてもよい。したがって、このORFは、翻訳時（2Aの場合）または翻訳後のいずれかで個々のタンパク質にプロセッシングされるただ1つのポリペプチドをコードする。いくつかの場合において、T2Aなどのペプチドは、リボソームが2AエレメントのC末端でのペプチド結合の合成をスキップすること（リボソームスキップ）を生じさせ、これにより、2A配列の終端と、下流側の次のペプチドとの間における分離をもたらすことができる（

40

50

例えば、de Felipe. Genetic Vaccines and Ther 2:13 (2004)、および de Felipeら Traffic 5:616-626 (2004)を参照のこと)。多くの2Aエレメントが当技術分野において公知である。本明細書に開示される方法および核酸において使用することができる2A配列の例として、限定されないが、口蹄疫ウイルス由来の2A配列 (F2A、例えば、SEQ ID NO:131)、ウマ鼻炎ウイルスA型由来の2A配列 (E2A、例えば、SEQ ID NO:130)、トセア・アシグナ (Thosea asigna) ウイルス由来の2A配列 (T2A、例えば、SEQ ID NO:126または127)、および米国特許出願公開第20070116690号に記載されるようなブタテッシュウイルス-1由来の2A配列 (P2A、例えば、SEQ ID NO:128または129)。

【0323】

対象に投与される細胞によって発現される組換え受容体 (例えば、CARなど) は一般には、処置されている疾患もしくは状態またはその細胞において発現される、処置されている疾患もしくは状態またはその細胞に伴う、ならびに/あるいは処置されている疾患もしくは状態またはその細胞について特異的である分子を認識し、または該分子に特異的に結合する。そのような分子 (例えば、抗原) に特異的に結合すると、受容体は一般に、免疫刺激シグナル (例えば、ITAM伝達のシグナルなど) を細胞内に送達し、それにより、疾患または状態を標的とする免疫応答を促進させる。例えば、いくつかの態様において、細胞は、疾患もしくは状態の細胞もしくは組織によって発現される抗原、または疾患もしくは状態に伴う抗原に特異的に結合するCARを発現する。受容体は、例えば、抗体を使用する細胞の枯渇化または排除において使用されるための別の受容体、例えば、免疫抑制シグナルまたは共刺激シグナルを促進させる受容体など、例えば、CCRもしくはiCARまたは非シグナリング受容体などであってもよい。

10

20

【0324】

B. 遺伝子改変細胞および細胞作製法

キメラ抗原受容体を発現する細胞には、工学的に改変された細胞が挙げられる。遺伝子改変では一般に、組換え構成成分または工学的に改変された構成成分をコードする核酸を、細胞を含有する組成物に、例えば、レトロウイルス形質導入、トランスフェクションまたは形質転換などによって導入することが伴う。遺伝子改変された構成成分、例えば、組換え受容体、例えば、CARを導入するための様々な方法が周知であり、使用され得る。例示的方法には、ウイルス (例えば、レトロウイルスまたはレンチウイルス)、形質導入、トランスポゾンおよびエレクトロポレーションによる方法を含めて、受容体をコードする核酸を移入するための様々な方法がある。

30

【0325】

1. 遺伝子改変のためのベクターおよび方法

キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする1つまたは複数のポリヌクレオチド (例えば、核酸分子)、そのようなCARを発現させるために細胞を遺伝子改変するためのベクター、および遺伝子改変された細胞を作製するための方法もまた提供される。いくつかの態様において、ベクターは、CARをコードする核酸を含有する。いくつかの場合において、ベクターはウイルスベクターであり、例えば、レトロウイルスベクターなどであり、例えば、レンチウイルスベクターまたはガンマレトロウイルスベクターである。

40

【0326】

いくつかの態様において、組換え核酸は、例えばシミアンウイルス40 (SV40)、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス (AAV) 由来のベクターなどの組換え感染性ウイルス粒子を使って細胞に導入される。いくつかの態様において、組換え核酸は、組換えレンチウイルスベクターまたはレトロウイルスベクター、例えばガンマ-レトロウイルスベクターを使って、T細胞に導入される (例えばKoste et al. (2014) Gene Therapy 2014 Apr 3. doi:10.1038/gt.2014.25; Carlens et al. (2000) Exp Hematol 28 (10):1137-46; Alonso-Camino et al. (2013) Mol Ther Nucl Acids 2, e93; Park et al., Trends Biotechnol. 2011 November 29 (11):550-557を参照されたい)。

【0327】

いくつかの態様において、例えばモロニー Maus 白血病ウイルス (MoMLV)、骨髄増殖

50

性肉腫ウイルス (MPSV)、マウス胚性幹細胞ウイルス (MESV)、マウス幹細胞ウイルス (MSCV)、脾フォーカス形成ウイルス (SFFV)、またはアデノ随伴ウイルス (AAV) 由来のレトロウイルスベクターなど、レトロウイルスベクターは、長末端反復配列 (LTR) を有する。大半のレトロウイルスベクターはマウスレトロウイルスに由来する。いくつかの態様において、レトロウイルスには、任意の鳥類細胞または哺乳動物細胞供給源に由来するものが包含される。レトロウイルスは典型的にはアンホトロピックである。つまり、それらは、ヒトを含む複数種の宿主細胞に感染する能力を有する。一態様では、発現させようとする遺伝子でレトロウイルス gag、pol および/または env 配列を置き換える。実例となるレトロウイルス系がいくつか記述されている (例えば米国特許第5,219,740号;同第6,207,453号;同第5,219,740号;Miller and Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990; Miller, A.D. (1990) *Human Gene Therapy* 1:5-14; Scarpa et al. (1991) *Virology* 180:849-852; Burns et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:8033-8037; および Boris-Lawrie and Temin (1993) *Cur. Opin. Genet. Develop.* 3: 102-109)。

10

【0328】

レンチウイルス形質導入の方法は公知である。例示的方法は、例えば Wang et al. (2012) *J. Immunother.* 35 (9) :689-701; Cooper et al. (2003) *Blood.* 101: 1637-1644; Verhoeven et al. (2009) *Methods Mol Biol.* 506:97-114; および Cavalieri et al. (2003) *Blood.* 102 (2) :497-505 に記載されている。

【0329】

いくつかの態様において、組換え核酸は、エレクトロポレーションによってT細胞に導入される (例えば Chicaybam et al, (2013) *PLoS ONE* 8 (3) :e60298 および Van Tedeloo et al. (2000) *Gene Therapy* 7 (16) :1431-1437)。いくつかの態様において、組換え核酸は、転移 (transposition) によってT細胞に導入される (例えば Manuri et al. (2010) *Hum Gene Ther* 21 (4) : 427-437; Sharma et al. (2013) *Molec Ther Nucl Acids* 2, e74; and Huang et al. (2009) *Methods Mol Biol* 506: 115-126 を参照されたい)。免疫細胞における遺伝物質の導入および発現の方法には、他にも、リン酸カルシウムトランスフェクション (例えば *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, New York, N.Y. に記載されているもの)、プロトプラスト融合、カチオン性リポソームによるトランスフェクション、タングステン粒子によるマイクロパーティクルボンバードメント (Johnston, *Nature*, 346: 776-777 (1990))、およびリン酸ストロンチウムDNA共沈殿 (Brash et al., *Mol. Cell Biol.*, 7:2031-2034 (1987)) などがある。

20

30

【0330】

組換え産物をコードする核酸を導入するための他のアプローチおよびベクターは、例えば国際特許出願公開番号 WO2014055668 および米国特許第7,446,190号に記載されているものである。

【0331】

いくつかの態様において、細胞 (例えば、T細胞) は、増殖期間中または増殖後のいずれかで、例えば、T細胞受容体 (TCR) またはキメラ抗原受容体 (CAR) によるトランスフェクションを受けることがある。所望の受容体の遺伝子を導入するためのこのトランスフェクションは、例えば、任意の適切なレトロウイルスベクターを用いて行うことができる。遺伝子改変された細胞集団をその後、最初の刺激 (例えば、抗CD3/抗CD28刺激) から解放し、続いて、例えば、新たに導入された受容体を介して、第2のタイプの刺激により刺激することができる。この第2のタイプの刺激には、ペプチド/MHC分子、遺伝子導入された受容体の同族 (架橋性) リガンド (例えば、CARの天然リガンド)、または (例えば、受容体内の定常領域を認識することによって) 新しい受容体のフレームワークの内部に直接に結合する任意のリガンド (抗体など) の形態での抗原性刺激が含まれることがある。例えば、Cheadle et al, "Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy" *Methods Mol Biol.* 2012; 907:645-66、または Barrettら, *Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine Vol.65:333-347* (2014) を参照のこと。いくつかの態様において、細胞は、提供された方法に従って、提供された抗イディオタイ

40

50

ブ抗体により刺激される。

【0332】

いくつかの場合において、細胞（例えば、T細胞）が活性化されることを必要としないベクターが使用されることがある。いくつかのそのような例において、細胞は、選択および/または形質導入が活性化に先立って行われることがある。したがって、細胞は、細胞の培養の前または後において、また、いくつかの場合には該培養の少なくとも一部と同時に、またはその期間中に工学的に改変されることがある。

【0333】

追加の核酸、例えば、導入用の遺伝子には、治療の効力を、例えば、移入された細胞の生存性および/または機能を促進することなどによって改善するための核酸；細胞の選択および/または評価のための遺伝子マーカーを提供するための遺伝子、例えば、インピボでの生存または局在化を評価するためなどの遺伝子；安全性を、例えば、Lupton S.D.ら, *Mol. and Cell Biol.*, 11:6 (1991)、およびRiddellら, *Human Gene Therapy* 3:319-338 (1992)によって記載されるように細胞をインピボでの陰性選択に対して感受性にするによって改善するための遺伝子が挙げられる。また、優勢な陽性選択可能マーカーを陰性選択可能マーカーと融合することから得られる二官能性の選択可能融合遺伝子の使用を記載する、LuptonらによるPCT/US91/08442およびPCT/US94/05601の公開公報もまた参照のこと。例えば、Riddellら、米国特許第6,040,177号、第14～17欄を参照のこと。

【0334】

2. 遺伝子改変のための細胞および細胞調製

本明細書には、キメラ抗原受容体（CAR）を含有する工学的に改変された細胞を含めて、細胞が提供される。また、そのような細胞の集団およびそのような細胞を含有する組成物も提供される。前記組成物には、1種または複数種の細胞が、該細胞とのインキュベーションまたは接触が行われる1種または複数種の粒子の表面に存在する結合性分子によって認識され得る、または結合され得る組換え受容体を発現することが公知である、あるいは発現する可能性がある、あるいは発現するであろう、細胞を含有するインプット組成物が挙げられる。また、前記組成物には、提供された方法によって製造される組成物が挙げられ、これには、前記粒子の結合性分子によって結合される、または認識される組換え受容体を含有する細胞について濃縮される組成物、例えば、組換え受容体（例えば、キメラ受容体）を発現する細胞が、組成物における総細胞の、またはある特定のタイプの細胞（例えば、T細胞、またはCD8+もしくはCD4+の細胞など）の少なくとも50パーセント、60パーセント、70パーセント、80パーセント、90パーセント、91パーセント、92パーセント、93パーセント、94パーセント、95パーセント、96パーセント、97パーセント、98パーセント、99パーセントまたはそれ以上を構成する組成物などを含めて、刺激された細胞または増殖した細胞が含まれるアウトプット組成物が含まれる。したがって、組換え受容体（例えば、CAR）を発現する遺伝子改変された細胞が提供される。

【0335】

前記組成物には、投与のための、例えば、養子細胞療法などのための薬学的組成物および製剤が含まれる。また、そのような細胞を工学的に改変するための、製造するための、または作製するための方法、該細胞および組成物を対象（例えば、患者）に投与するための治療方法、ならびにそのような細胞を検出するための、選択するための、単離するための、または分離するための方法も提供される。

【0336】

いくつかの態様において、核酸は異種であり、すなわち、通常の場合、細胞または細胞から得られる試料には存在しておらず、例えば、別の生物または細胞から得られる核酸（例えば、工学的に改変中の細胞、および/またはそのような細胞の由来源である生物において通常見いだされない核酸）などである。いくつかの態様において、核酸は天然に存在しておらず、例えば、複数の異なる細胞タイプからの様々なドメインをコードする核酸のキメラな組合せを含む核酸を含めて、自然界において見いだされない核酸などである。

【0337】

10

20

30

40

50

細胞は一般には真核生物細胞（例えば、哺乳動物細胞など）であり、典型的にはヒト細胞である。いくつかの態様において、細胞は、血液、骨髄、リンパまたはリンパ系器官に由来しており、免疫系の細胞、例えば、自然免疫または適応免疫の細胞などであり、例えば、リンパ球（典型的にはT細胞および/またはNK細胞）を含めて、骨髄系細胞またはリンパ系細胞である。他の例示的細胞として、幹細胞、例えば、誘導多能性幹細胞（iPSC）を含めて、複能性幹細胞および多能性幹細胞などが挙げられる。

【0338】

細胞は典型的には、初代細胞、例えば、対象から直接に単離された細胞、および/または対象から単離され、凍結された細胞などである。いくつかの態様において、細胞は、T細胞または他の細胞タイプの1つまたは複数のサブセット、例えば、全T細胞集団、CD4+細胞、CD8+細胞、およびそれらの亜集団（例えば、機能、活性化状態、成熟度、分化能、増殖能、再循環能、局在化能および/または持続能についての潜在的能力、抗原特異性、抗原受容体のタイプ、特定の器官もしくは区画における存在、マーカープロファイルもしくはサイトカイン分泌プロファイル、ならびに/あるいは分化の程度によって規定される亜集団など）などを含む。処置されることになる対象に関して、細胞は同種および/または自家であってもよい。方法には、既製の方法が挙げられる。いくつかの局面において、例えば、既製の技術などのために、細胞は多能性および/または複能性であり、例えば、幹細胞（例えば、誘導多能性幹細胞（iPSC）など）などである。いくつかの態様において、方法は、細胞を対象から単離し、調製し、処理し、培養し、および/または工学的に改変し、同じ対象に凍結保存前もしくは凍結保存後に再導入することを含む。

10

20

【0339】

T細胞のサブタイプおよび亜集団、ならびに/あるいはCD4+および/またはCD8+ T細胞のサブタイプおよび亜集団には、ナイーブT（ T_N ）細胞、エフェクターT細胞（ T_{EFF} ）、メモリーT細胞およびそのサブタイプ（例えば、幹細胞メモリーT（ T_{SCM} ）細胞、セントラルメモリーT（ T_{CM} ）、エフェクターメモリーT（ T_{EM} ）細胞または最終分化エフェクターメモリーT細胞など）、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、未成熟T細胞、成熟T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、粘膜関連インパリアントT（MAIT）細胞、天然に存在する適応性の制御性T（Treg）細胞、ヘルパーT細胞（例えば、TH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾胞ヘルパーT細胞、アルファ/ベータT細胞およびデルタ/ガンマT細胞など）がある。

30

【0340】

いくつかの態様において、細胞はナチュラルキラー（NK）細胞である。いくつかの態様において、細胞は、単球または顆粒球、例えば、骨髄性細胞、マクロファージ、好中球、樹状細胞、肥満細胞、好酸球および/または好塩基球である。

【0341】

いくつかの態様において、細胞は、遺伝子改変によって導入される1つまたは複数の核酸を含み、その結果、そのような核酸の組換え産物または遺伝子改変産物を発現する。いくつかの態様において、核酸は異種であり、すなわち、通常の場合、細胞または細胞から得られる試料には存在しておらず、例えば、別の生物または細胞から得られる核酸（例えば、工学的に改変中の細胞、および/またはそのような細胞の由来源である生物において通常見いだされない核酸）などである。いくつかの態様において、核酸は天然に存在しておらず、例えば、複数の異なる細胞タイプからの様々なドメインをコードする核酸のキメラな組合せを含む核酸を含めて、自然界において見いだされない核酸などである。

40

【0342】

いくつかの態様において、工学的に改変された細胞の調製は、1つまたは複数の培養および/または調製工程を含む。CARなどのトランスジェニック受容体をコードする核酸を導入するための細胞は、生物学的試料などの試料、例えば対象から得られるものまたは対象に由来するものから単離しうる。いくつかの態様において、細胞の単離源となる対象は、疾患または状態を有する者、または細胞療法の必要がある者、または細胞療法が施行される予定である者である。対象は、いくつかの態様において、特定の治療的介入を必要とす

50

るヒト、例えばその治療のために細胞が単離され、処理され、かつ/または工学的に改変されている養子細胞療法を必要とするヒトである。

【0343】

したがって細胞は、いくつかの態様において、初代細胞、例えば初代ヒト細胞である。試料としては、対象から直接採取された組織、体液、および他の試料、ならびに例えば分離、遠心分離、遺伝子改変（例えばウイルスベクターによる形質導入）、洗浄、および/またはインキュベーションなどといった1つまたは複数の処理工程の結果として得られる試料が挙げられる。生物学的試料は、生物学的供給源から直接的に得られる試料であるか、処理された試料であることができる。生物学的試料としては、血液、血漿、血清、脳脊髄液、滑液、尿および汗などの体液試料、組織試料および器官試料（それらに由来する処理済み試料を含む）が挙げられるが、それらに限定されるわけではない。

10

【0344】

いくつかの局面において、細胞の由来源または単離源となる試料は、血液または血液由来の試料であるか、アフエーシスまたは白血球アフエーシス産物であるか、またはそれに由来する。例示的試料として、全血、末梢血単核球（PBMC）、白血球、骨髄、胸腺、組織生検、腫瘍、白血病、リンパ腫、リンパ節、腸管関連リンパ組織、粘膜関連リンパ組織、脾臓、他のリンパ組織、肝臓、肺、胃、腸、大腸、腎臓、膵臓、乳房、骨、前立腺、子宮頸、精巣、卵巣、扁桃、もしくは他の器官、および/またはそれらに由来する細胞が挙げられる。細胞療法、例えば養子細胞療法との関連において、試料には、自家供給源および同種異系供給源からの試料が包含される。

20

【0345】

いくつかの態様において、細胞は、細胞株、例えばT細胞株に由来する。細胞は、いくつかの態様において、異種供給源、例えばマウス、ラット、非ヒト霊長類、およびブタから得られる。

【0346】

いくつかの態様において、細胞の単離は、1つまたは複数の調製工程および/または非アフニティー系細胞分離工程を含む。いくつかの例では、例えば不要な構成成分を除去し、所望の構成成分を濃縮し、特定の試薬に対して感受性である細胞を溶解または除去するために、1つまたは複数の試薬の存在下で、細胞を洗浄し、遠心分離し、かつ/またはインキュベートする。いくつかの例では、細胞が、1つまたは複数の性質、例えば密度、付着性、サイズ、特定の構成成分に対する感受性および/または耐性に基いて単離される。

30

【0347】

いくつかの例において、対象の循環血からの細胞が、例えば、アフエーシスまたは白血球アフエーシスによって得られる。試料は、いくつかの局面において、T細胞、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球、赤血球および/または血小板を含めて、リンパ球を含有し、また、いくつかの局面において、赤血球および血小板ではない細胞を含有する。いくつかの態様において、細胞の選択および/または濃縮に先立って、試料または試料中の細胞はさらなる処理工程の前に休止させることができ、または保持することができる。いくつかの態様において、試料は、2 ~ 8 または約2 ~ 8 の温度で、48時間までの間、例えば、12時間、24時間または36時間までの間、維持または保持される。ある特定の態様において、細胞は、その選択および/または濃縮が、細胞を1つまたは複数の核酸と接触させる前に行われない。いくつかの態様において、試料または細胞は、細胞を1つまたは複数の核酸と接触させる前に、またはインキュベートする前に休止させることができ、または保持することができる。ある特定の態様において、試料は、細胞を1つまたは複数の核酸と接触させる前に、またはインキュベートする前に、2 ~ 8 または約2 ~ 8 の温度で、48時間までの間、例えば、12時間、24時間または36時間までの間、維持または保持される。

40

【0348】

いくつかの態様では、例えば血漿画分を除去したり、後続の処理工程に適した緩衝液または培地に細胞を入れたりするために、対象から収集した血球を洗浄する。いくつかの態

50

様では、細胞をリン酸緩衝食塩水（PBS）で洗浄する。いくつかの態様では、洗浄溶液がカルシウムおよび/またはマグネシウムおよび/または多くのもしくはすべての二価カチオンを欠く。いくつかの局面では、洗浄工程が半自動「フロースルー」遠心分離機（例えばCobe2991細胞処理装置、Baxter）により、製造者の指示に従って達成される。いくつかの局面では、洗浄工程がタンジェンシャルフロー濾過（TFF）により、製造者の指示に従って達成される。いくつかの態様では、洗浄後に、例えばCa⁺⁺/Mg⁺⁺非含有PBSなどのさまざまな生物適合性緩衝液に、細胞を再懸濁する。一定の態様では、血球試料の構成成分を取り出し、細胞を培養培地に直接再懸濁する。

【0349】

いくつかの態様において、本方法は、密度に基づく細胞分離方法、例えば赤血球の溶解およびPercollまたはFicoll勾配での遠心分離による末梢血からの白血球の調製を含む。

10

【0350】

いくつかの態様において、単離方法は、細胞における1つまたは複数の特異的分子、例えば表面マーカー、例えば表面タンパク質、細胞内マーカー、または核酸の発現または存在に基づく、異なる細胞タイプの分離を含む。いくつかの態様では、そのようなマーカーに基づいて分離するための任意の公知方法を使用する。いくつかの態様では、分離がアフィニティーまたはイムノアフィニティーに基づく分離である。例えば単離は、いくつかの局面において、例えば細胞をそのようなマーカーに特異的に結合する抗体または結合パートナーと共にインキュベートし、続いて一般に洗浄工程を行い、抗体または結合パートナーに結合した細胞を抗体または結合パートナーに結合しなかった細胞から分離することなどによる、1つまたは複数のマーカー（典型的には細胞表面マーカー）の細胞発現または発現レベルに基づく細胞および細胞集団の分離を含む。

20

【0351】

そのような分離工程は、試薬に結合した細胞をその後の使用のためにとっておく陽性選択および/または抗体もしくは結合パートナーに結合しなかった細胞をとっておく陰性選択に基づくことができる。いくつかの例では、両方のフラクションをその後の使用のためにとっておく。いくつかの局面において、不均一な集団中の一細胞タイプを特異的に同定する抗体を利用できず、所望の集団以外の細胞が発現するマーカーに基づいて分離を実行することが最善である場合に、陰性選択は特に役立つ。

【0352】

分離が、特定マーカーを発現する特定の細胞集団または細胞の100%の濃縮または除去をもたらす必要はない。例えば、ある特定タイプの細胞（例えばあるマーカーを発現するもの）の陽性選択または濃縮とは、そのような細胞の数またはパーセンテージを増加させることを指し、当該マーカーを発現しない細胞が全く存在しない状態をもたらす必要はない。同様に、特定タイプの細胞（例えばあるマーカーを発現するもの）の陰性選択、除去、または枯渇とは、そのような細胞の数またはパーセンテージを減少させることを指し、すべてのそのような細胞の完全な除去をもたらす必要はない。

30

【0353】

いくつかの例では、分離工程を複数回実行し、1つの工程で陽性選択または陰性選択されたフラクションを別の分離工程（例えば後続の陽性選択または陰性選択）に供する。いくつかの例では、例えば陰性選択のための標的となるマーカーにそれぞれ特異的な複数の抗体または結合パートナーと共に細胞をインキュベートすることなどにより、単一の分離工程で、複数のマーカーを発現する細胞を同時に枯渇させることができる。同様に、さまざまな細胞タイプ上での発現物と複数の抗体または結合パートナーを共に細胞をインキュベートすることにより、複数の細胞タイプを同時に陽性選択することもできる。

40

【0354】

例えば、いくつかの局面では、T細胞の特定亜集団、例えば1つまたは複数の表面マーカーが陽性であるか高レベルに発現する細胞、例えばCD28⁺、CD62L⁺、CCR7⁺、CD27⁺、CD127⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺、および/またはCD45RO⁺ T細胞が、陽性選択技法または陰性選択技法によって単離される。

50

【0355】

例えば、CD3⁺かつCD28⁺ T細胞を、CD3/CD28コンジュゲート化磁気ビーズ（例えば、DYNABEADS（登録商標）M-450 CD3/CD28 T Cell Expander）を使用して陽性選択することができる。特定の態様において、細胞は、CD3⁺かつCD28⁺ T細胞を、1種または複数種の核酸との接触の前に増殖するために抗CD3/抗CD28コンジュゲート化磁気ビーズ（例えば、DYNABEADS（登録商標）M-450 CD3/CD28 T Cell Expander）と接触させられる。ある特定の態様において、細胞は、1種または複数種の核酸との接触の前に抗CD3/抗CD28コンジュゲート化磁気ビーズと接触させられない。

【0356】

いくつかの態様では、陽性選択で特定細胞集団を濃縮することによって、または陰性選択で特定細胞集団を枯渇させることによって、単離が実行される。いくつかの態様において、陽性選択または陰性選択は、それぞれ陽性選択または陰性選択される細胞上に発現しているか（マーカー⁺）、比較的高レベルに発現している（マーカー^{high}）、1つまたは複数の表面マーカーに特異的に結合する1つまたは複数の抗体または他の結合作用物質と共に、細胞をインキュベートすることによって達成される。

【0357】

いくつかの態様において、T細胞は、B細胞、単球、または他の白血球などの非T細胞上に発現するマーカー（例えばCD14）の陰性選択によって、PBMC試料から分離される。いくつかの局面では、CD4⁺ヘルパーT細胞とCD8⁺細胞傷害性T細胞とを分離するために、CD4⁺またはCD8⁺選択工程が使用される。そのようなCD4⁺集団およびCD8⁺集団はさらに、1つまたは複数のナイーブT細胞亜集団、メモリーT細胞亜集団、および/またはエフェクターT細胞亜集団上に発現しているマーカーまたは比較的高度に発現しているマーカーに関する陽性選択または陰性選択によって亜集団に選別することができる。

【0358】

いくつかの態様では、CD8⁺細胞を、ナイーブ細胞、中枢メモリー細胞、エフェクターメモリー細胞、および/または中枢メモリー幹細胞について、例えば各亜集団に関連する表面抗原に基づく陽性選択または陰性選択などによって、さらに濃縮するか、または枯渇させる。いくつかの態様では、効力を増加させるために、例えば投与後の長期生存、増殖および/または定着を改良するために、中枢メモリーT（T_{CM}）細胞の濃縮が実行される（いくつかの局面において、前記の性質はそのような亜集団では特にロバストである）。Terakuraら（2012）Blood.1:72-82; Wang et al.（2012）J Immunother. 35（9）:689-701参照。いくつかの態様では、T_{CM}濃縮CD8⁺ T細胞およびCD4⁺ T細胞を組み合わせることによって、効力がさらに強化される。

【0359】

諸態様において、メモリーT細胞は、CD8⁺末梢血リンパ球のCD62L⁺サブセットとCD62L⁻サブセットの両方に存在する。抗CD8抗体および抗CD62L抗体を使用するなどして、PBMCを、CD62L⁻CD8⁺フラクションおよび/またはCD62L⁺CD8⁺フラクションについて、濃縮し、または枯渇させることができる。

【0360】

中枢メモリーT（T_{CM}）細胞の濃縮は、いくつかの態様では、CD45RO、CD62L、CCR7、CD28、CD3、および/またはCD127の陽性発現または高表面発現に基づき、いくつかの局面では、CD45RAおよび/またはグランザイムBを発現または高度に発現する細胞の陰性選択に基づく。いくつかの局面において、T_{CM}細胞が濃縮されたCD8⁺集団の単離は、CD4、CD14、CD45RAを発現する細胞の枯渇およびCD62Lを発現する細胞の陽性選択または濃縮によって実行される。一局面において、中枢メモリーT（T_{CM}）細胞の濃縮は、CD4発現に基づいて選択される細胞の陰性フラクションから出発して実行され、それが、CD14およびCD45RAの発現に基づく陰性選択およびCD62Lに基づく陽性選択に付される。そのような選択は、いくつかの局面では同時に実行され、別の局面では逐次的に、いずれかの順序で実行される。いくつかの局面では、CD8⁺細胞集団または亜集団の調製に使用したのと同じCD4発現に基づく選択工程を、CD4⁺細胞集団または亜集団を作製するためにも使用することで、CD4に

基づく分離からの陽性フラクションおよび陰性フラクションの両方をとっておき、任意で1つまたは複数のさらなる陽性選択工程または陰性選択工程後に、本方法の後続の工程において使用する。

【0361】

特定の一例では、PBMCの試料または他の白血球試料をCD4⁺細胞の選択に付し、陰性フラクションと陽性フラクションの両方をとっておく。次に、陰性フラクションを、CD14およびCD45RAまたはCD19の発現に基づく陰性選択およびCD62LまたはCCR7などの中枢メモリーT細胞に特有のマーカールに基づく陽性選択に供する。この場合、前記陽性選択と陰性選択はいずれかの順序で行われる。

【0362】

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、CD4⁺ Tヘルパー細胞を、ナイーブ細胞、中枢メモリー細胞、およびエフェクター細胞に選別する。CD4⁺ リンパ球は標準的方法によって得ることができる。いくつかの態様において、ナイーブCD4⁺ Tリンパ球は、CD45RO⁻、CD45RA⁺、CD62L⁺、CD4⁺ T細胞である。いくつかの態様において、中枢メモリーCD4⁺ 細胞はCD62L⁺ かつCD45RO⁺ である。いくつかの態様において、エフェクターCD4⁺ 細胞はCD62L⁻ かつCD45RO⁻ である。

【0363】

一例では、CD4⁺ 細胞を陰性選択によって濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルが、典型的には、CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、およびCD8に対する抗体を含む。いくつかの態様では、陽性選択および/または陰性選択のための細胞の分離に備えて、抗体または結合パートナーを磁気ビーズまたは常磁性ビーズなどの固形支持体またはマトリックスに結合させる。例えば、いくつかの態様では、免疫磁気（またはアフィニティー磁気）分離技法を使って、細胞および細胞集団が分離または単離される（Methods in Molecular Medicine, vol. 58: Metastasis Research Protocols, Vol. 2: Cell Behavior In Vitro and In Vivo, p 17-25 Edited by: S.A. Brooks and U. Schumacher (c) Humana Press Inc., Totowa, NJに概説されている）。

【0364】

いくつかの局面では、分離しようとする細胞の試料または組成物を、小さな磁化可能材料または磁気応答材料、常磁性ビーズなどの磁気応答粒子または微粒子（例えばDynaビーズまたはMACSビーズなど）と共にインキュベートする。磁気応答材料、例えば粒子は、一般に、分離することが望まれる（例えば陰性選択または陽性選択することが望まれる）1つまたは複数の細胞または細胞の集団上に存在する分子（例えば表面マーカール）に特異的に結合する結合パートナー（例えば抗体）に、直接的または間接的に取り付けられる。

【0365】

いくつかの態様において、磁気粒子または磁気ビーズは、抗体または他の結合パートナーなどの特異的結合構成要素に結合した磁気応答材料を含む。磁気分離法において使用される周知の磁気応答材料は数多くある。適切な磁気粒子には、Moldayの米国特許第4,452,773号および欧州特許明細書EP452342Bに記載されているものがあり、これらの文献は参照により本明細書に組み入れられる。他の例には、コロイドサイズの粒子、例えばOwenの米国特許第4,795,698号およびLibertiらの米国特許第5,200,084号に記載されているものがある。

【0366】

インキュベーションは一般に、抗体もしくは結合パートナー、またはそのような抗体もしくは結合パートナーに特異的に結合する分子、例えば二次抗体または他の試薬であって、磁気粒子または磁気ビーズに取り付けられているものが、細胞表面分子に（それがもし試料内の細胞上に存在するのであれば）特異的に結合するような条件下で実行される。

【0367】

いくつかの局面において、試料を磁場に入れると、磁気応答粒子または磁化可能粒子が取り付けられている細胞は磁石に引きつけられ、非標識細胞から分離されるであろう。陽性選択の場合は、磁石に引きつけられた細胞をとっておき、陰性選択の場合は、磁石に引

10

20

30

40

50

きつけられなかった細胞（非標識細胞）をとっておく。いくつかの局面では、同じ選択工程に陽性選択と陰性選択との組み合わせを実施して、陽性フラクションと陰性フラクションをとっておいて、さらに処理するか、さらなる分離工程に供する。

【0368】

一定の態様において、磁気応答粒子は、一次抗体もしくは他の結合パートナー、二次抗体、レクチン、酵素、またはストレプトアビジンで被覆される。一定の態様において、磁気粒子は、1つまたは複数のマーカーに特異的な一次抗体のコーティングを介して細胞に取り付けられる。一定の態様では、ビーズではなく細胞を一次抗体または結合パートナーで標識してから、細胞タイプ特異的二次抗体被覆磁気ビーズまたは他の結合パートナー（例えばストレプトアビジン）被覆磁気ビーズを加える。一定の態様では、ストレプトアビジン被覆磁気ビーズをビオチン化一次または二次抗体と共に使用する。

10

【0369】

いくつかの態様では、磁気応答粒子を細胞に取り付けたままにしておき、その細胞を引き続いてインキュベートし、培養し、かつ/または工学的に改変する。また、いくつかの局面では、患者に投与するために粒子を細胞に取り付けたままにしておく。いくつかの態様では、磁化可能粒子または磁気応答粒子を細胞から取り除く。磁化可能粒子を細胞から取り除くための方法は公知であり、例えば競合非標識抗体の使用、切断可能なリンカーにコンジュゲートされた磁化可能粒子または抗体などがある。いくつかの態様において、磁化可能粒子は生分解性である。

【0370】

いくつかの態様において、アフィニティーに基づく選択は、磁気活性化細胞選別法（magnetic-activated cell sorting: MACS）（Miltenyi Biotec、カリフォルニア州オーバリン）による。磁気活性化細胞選別（MACS）システムでは、磁気粒子が取り付けられている細胞の高純度選択が可能である。一定の態様において、MACSは、外部磁場の適用後に非ターゲット種とターゲット種とが逐次的に溶出するモードで作動する。すなわち、磁化粒子に取り付けられた細胞はその場に保持され、一方、取り付けられていない種は溶出する。次に、この第1溶出工程が完了した後に、磁場に捕らわれて溶出が妨げられていた種が、溶出して回収されるような何らかの方法で解放される。一定の態様では、非ターゲット細胞を標識して、不均一な細胞集団から枯渇させる。

20

【0371】

一定の態様では、単離または分離が、本方法の単離、細胞調製、分離、処理、インキュベーション、培養、および/または製剤工程のうちの1つまたは複数を実行するシステム、デバイス、または装置を使って実行される。いくつかの局面では、例えばエラー、ユーザー操作および/または汚染を最小限に抑えるために、システムを使って、閉鎖環境または無菌環境においてこれらの工程のそれぞれを実行する。一例において、システムは、国際特許出願公開番号WO2009/072003またはUS20110003380A1に記載のシステムである。一例では、システムは、国際公開番号WO 2016/073602に記載のシステムである。

30

【0372】

いくつかの態様では、システムまたは装置が、単離、処理、工学的改変、および製剤化工程のうちの1つまたは複数、例えば全てを、統合型システムまたは自己完結型システムにおいて、かつ/または自動化されたもしくはプログラム可能な形で実行する。いくつかの局面において、システムまたは装置は、システムまたは装置と通信するコンピュータおよび/またはコンピュータプログラムであって、ユーザーが処理工程、単離工程、工学的改変工程、および製剤化工程のさまざまな局面をプログラムし、制御し、その成果を評価し、かつ/または調節することを可能にするものを含む。

40

【0373】

いくつかの局面において、分離工程および/または他の工程は、例えば閉鎖された無菌系における臨床スケールレベルでの細胞の自動分離のために、CliniMACSシステム（Miltenyi Biotec）を使って実行される。構成部品には、組み込みマイクロコンピュータ、磁気分離ユニット、蠕動ポンプ、およびさまざまなピンチ弁が含まれる。組み込みコンピュ

50

ータは、いくつかの局面において、計器のすべての構成部品を制御し、標準化されたシーケンスで反復手順を行うようにシステムに指示する。磁気分離ユニットは、いくつかの局面において、可動永久磁石および選択カラム用の保持具を含む。蠕動ポンプは管系セット全体の流速を制御し、ピンチ弁と共に、システムを通る緩衝液の制御された流れと細胞の絶え間ない懸濁とを保証する。

【0374】

CliniMACSシステムは、いくつかの局面において、無菌非発熱性溶液に入れて供給される抗体カップリング磁化可能粒子を使用する。いくつかの態様では、磁気粒子による細胞の標識化後に、細胞を洗浄して過剰の粒子を除去する。次に、細胞調製バッグを管系セットに接続し、そしてその管系セットを緩衝液を含有するバッグおよび細胞収集バッグに接続する。管系セットは組み立て済みの無菌管系（プレカラムおよび分離カラムを含む）からなり、1回限りの使い捨て用である。分離プログラムの開始後に、システムは自動で細胞試料を分離カラムに適用する。標識細胞はカラム内に保持され、一方、非標識細胞は一連の洗浄工程によって除去される。いくつかの態様では、本明細書に記載する方法で使用するための細胞集団が標識されておらず、カラム中に保持されない。いくつかの態様では、本明細書に記載する方法で使用するための細胞集団が標識されており、カラム中に保持される。いくつかの態様では、磁場の除去後に、本明細書に記載する方法で使用するための細胞集団をカラムから溶出させて、細胞収集バッグ内に収集する。

10

【0375】

一定の態様では、CliniMACS Prodigyシステム（Miltenyi Biotec）を使って、分離および/または他の工程が実行される。CliniMACS Prodigyシステムは、いくつかの局面において、遠心分離による細胞の自動洗浄および分画を可能にする細胞処理ユニット（cell processing unit）を装備している。CliniMACS Prodigyシステムは、ソース細胞産物（source cell product）の肉眼的層を識別することによって最適な細胞分画終点を決定する内蔵カメラおよび画像認識ソフトウェアも含むことができる。例えば末梢血は、赤血球、白血球および血漿層へと自動的に分離される。CliniMACS Prodigyシステムは、例えば細胞の分化および増殖、抗原負荷、および長期細胞培養などの細胞培養プロトコルを遂行する組み込み細胞培養チャンパーも含むことができる。投入口は、培地の無菌的取り出しおよび補充を可能にすることができ、組み込み顕微鏡を使って細胞を監視することができる。例えばKlebanoff et al. (2012) J Immunother. 35 (9) :651-660、Terakura et al. (2012) Blood. 1:72-82、およびWang et al. (2012) J Immunother. 35 (9) :689-701を参照されたい。

20

30

【0376】

いくつかの態様では、複数種の細胞表面マーカーについて染色された細胞が流体流にのせて運ばれるフローサイトメトリーによって本明細書に記載する細胞集団が収集され、濃縮（または枯渇）される。いくつかの態様では、調製用（FACS）選別法によって、本明細書に記載する細胞集団が収集され、濃縮（または枯渇）される。一定の態様では、微小電気機械システム（MEMS）チップをFACSベースの検出システムと併用することによって、本明細書に記載する細胞集団が収集され、濃縮（または枯渇）される（例えばWO 2010/033140、Cho et al. (2010) Lab Chip 10, 1567-1573、およびGodin et al. (2008) J Biophoton. 1 (5) :355-376を参照されたい）。どちらの場合も、細胞を複数種のマーカーで標識して、高純度の明確なT細胞サブセットの単離を可能にすることができる。

40

【0377】

いくつかの態様では、陽性選択および/または陰性選択のための分離が容易になるように、抗体または結合パートナーが、1つまたは複数の検出可能マーカーで標識される。例えば分離は蛍光標識抗体への結合に基づきうる。いくつかの例では、1つまたは複数の細胞表面マーカーに特異的な抗体または他の結合パートナーの結合に基づく細胞の分離が、流体流中で、例えば蛍光活性化細胞選別法（FACS）（例えばフローサイトメトリー検出システムと組み合わせされた分取用（FACS）および/または微小電気機械システム（MEMS）チップを含む）によって行われる。そのような方法により、複数種のマーカーに基づく陽

50

性選択および陰性選択が同時に可能になる。

【0378】

いくつかの態様において、調製方法は、単離、インキュベーション、および/または工学的改変の前または後に、細胞を凍結するための方法、例えば冷凍保存するための方法を含む。いくつかの態様では、凍結とそれに続く融解の工程によって、細胞集団中の顆粒球が除去され、ある程度は単球も除去される。いくつかの態様では、例えば血漿および血小板を除去するための洗浄工程後に、細胞が凍結溶液に懸濁される。さまざまな公知の凍結溶液およびパラメータはどれでも、いくつかの局面において使用しうる。一例では、20% DMSOおよび8%ヒト血清アルブミン(HSA)を含有するPBSまたは他の適切な細胞凍結培地が使用される。次に、DMSOおよびHSAの最終濃度がそれぞれ10%および4%になるように、これを培地で1:1希釈する。次に細胞を、毎分1°の速度で-80°まで凍結し、液体窒素貯蔵タンクの気相中で保存する。

10

【0379】

いくつかの態様において、細胞は、遺伝子改変の前に、または遺伝子改変に関連してインキュベートされ、および/または培養される。インキュベーション工程は、培養(culture)、培養(cultivation)、刺激、活性化および/または増殖を含むことができる。インキュベーションおよび/または工学的改変が培養槽において、例えば、培養または細胞培養のためのユニット、チャンパー、ウエル、カラム、チューブ、管系セット、バルブ、バイアル、培養ディッシュ、バッグまたは他の容器などにおいて行われることがある。いくつかの態様において、組成物または細胞は刺激条件または刺激作用物質の存在下でインキュベートされる。そのような条件には、集団における細胞の増殖(proliferation)、増殖(expansion)、活性化および/または生存を誘発するように、抗原ばく露を模倣するように、ならびに/あるいは細胞を遺伝子改変のために(例えば、組換え抗原受容体の導入などのために)プライミングするように意図される条件が含まれる。

20

【0380】

条件は、特定の培地、温度、酸素含有量、二酸化炭素含有量、時間、作用物質、例えば、栄養素、アミノ酸、抗生物質、イオン、および/または刺激因子、例えば、細胞を活性化するために意図されるサイトカイン、ケモカイン、抗原、結合パートナー、融合タンパク質、組換え可溶性受容体および任意の他の作用物質などの1つまたは複数を含むことができる。

30

【0381】

いくつかの態様において、刺激条件または刺激作用物質は、TCR複合体の細胞内のシグナリングドメインを活性化することができる1つまたは複数の作用物質(例えば、リガンド)を含む。いくつかの局面において、作用物質は、T細胞におけるTCR/CD3の細胞内のシグナリングカスケードを作動させ、または開始させる。そのような作用物質には、抗体、例えば、TCRについて特異的な抗体(例えば、抗CD3)などを挙げることができる。いくつかの態様において、刺激条件は、共刺激受容体(例えば、抗CD28)を刺激することができる1つまたは複数の作用物質(例えば、リガンド)を含む。いくつかの態様において、そのような作用物質および/またはリガンドは固体支持体(例えば、ビーズなど)および/または1つもしくは複数のサイトカインに結合させてもよい。任意ではあるが、増殖方法は、抗CD3抗体および/または抗CD28抗体を(例えば、少なくとも約0.5 ng/mlの濃度で)培養培地に加える工程をさらに含むことがある。いくつかの態様において、刺激作用物質は、IL-2、IL-15および/またはIL-7を含む。いくつかの局面において、IL-2濃度は、少なくとも約10単位/mLである。

40

【0382】

いくつかの局面において、インキュベーションが、様々な技法に従って、例えば、Riddellらの米国特許第6,040,177号、Klebanoffら(2012) J Immunother. 35(9):651-660、Terakuraら(2012) Blood. 117:72-82、および/またはWangら(2012) J Immunother. 35(9):689-701に記載される技法などに従って行われる。

【0383】

50

いくつかの態様において、T細胞は、培養開始組成物にフィーダー細胞（例えば、非分裂性の末梢血単核球（PBMC）など）を（例えば、得られた細胞集団が、増殖することになる開始集団における各Tリンパ球について少なくとも約5個、10個、20個もしくは40個またはそれ以上のPBMCフィーダー細胞を含有するように）加え、培養物を（例えば、T細胞の数を増殖するために十分な時間にわたって）インキュベートすることによって増殖する。いくつかの局面において、非分裂性フィーダー細胞は、ガンマ線照射されたPBMCフィーダー細胞を含むことができる。いくつかの態様において、PBMCには、細胞分裂を防止するために、ガンマ線が約3000～3600ラドの範囲で照射される。いくつかの局面において、フィーダー細胞は、T細胞の集団を加える前に培養培地に加えられる。

【0384】

いくつかの態様において、刺激条件には、ヒトTリンパ球の成長に適した温度、例えば、少なくとも摂氏約25度、一般には少なくとも約30度、また、一般には摂氏37度または約摂氏37度が含まれる。任意ではあるが、インキュベーションは、非分裂性のEBV形質転換リンパ芽球様細胞（LCL）をフィーダー細胞として加えることをさらに含むことがある。LCLには、ガンマ線を約6000～10,000ラドの範囲で照射することができる。LCLフィーダー細胞はいくつかの局面において、任意の適切な量で、例えば、少なくとも約10:1のLCLフィーダー細胞対初期Tリンパ球の比率などで与えられる。

【0385】

IV. 組成物

薬学的組成物および製剤を含めて、本明細書において提供されるような結合性分子（例えば、抗体など）を含む組成物もまた提供される。組成物および製剤は一般には、1つまたは複数の随意的な許容される担体または賦形剤を含む。

【0386】

「薬学的製剤」という用語は、そこに含有される活性成分の生物学的活性が有効であることを許すような形態にあって、その製剤が投与されるであろう対象にとって許容できないほどに毒性な追加の構成成分を含有しない調製物を指す。

【0387】

「薬学的に許容される担体」とは、対象にとって非毒性である、活性成分以外の薬学的製剤中の成分を指す。薬学的に許容される担体には、緩衝液、賦形剤、安定剤、または保存剤が含まれるが、それらに限定されるわけではない。

【0388】

いくつかの局面において、担体の選択は、一つには、その特定の細胞、結合分子、および/または抗体によって、かつ/または投与の方法によって決まる。したがって適切な製剤はさまざまである。例えば、薬学的組成物は保存剤を含むことができる。適切な保存剤としては、例えばメチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、および塩化ベンザルコニウムを挙げることができる。いくつかの局面では、2つ以上の保存剤の混合物が使用される。保存剤またはその混合物は、典型的には、組成物全体の約0.0001～約2重量%の量で存在する。担体は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)によって記載されている。薬学的に許容される担体は使用する投薬量および濃度において一般に受容者にとって非毒性であり、これには例えば、リン酸、クエン酸および他の有機酸などの緩衝剤；酸化防止剤、例えばアスコルビン酸およびメチオニン；保存剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルアルコール、またはベンジルアルコール；メチルパラベンまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸；単糖、二糖、および他の糖質、例えばグルコース、マンノース、またはデキストリン；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールな

10

20

30

40

50

どの糖類;ナトリウムなどの塩形成対イオン;金属錯体(例えばZn-タンパク質複合体);および/またはポリエチレングリコール(PEG)などのノニオン界面活性剤があるが、それらに限定されるわけではない。

【0389】

いくつかの局面では、緩衝作用物質が組成物に含まれる。適切な緩衝作用物質には、例えばクエン酸、クエン酸ナトリウム、リン酸、リン酸カリウム、および他のさまざまな酸および塩がある。いくつかの局面では、2種以上の緩衝作用物質の混合物を使用する。緩衝作用物質またはその混合物は、典型的には組成物全体の約0.001~約4重量%の量で存在する。投与可能な薬学的組成物を調製するための方法は公知である。例示的方法は、例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21st ed. (May 1, 2005)に詳述されている。

10

【0390】

いくつかの局面において、組成物は保存剤を含有することができる。適切な保存剤には、例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウムおよび塩化ベンザルコニウムが含まれることがある。いくつかの局面において、2つ以上の保存剤の混合物が使用される。保存剤またはその混合物は典型的には、組成物全体の約0.0001重量%~約2重量%の量で存在する。様々な担体が、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)によって記載される。許容される担体には、緩衝剤、例えば、リン酸、クエン酸および他の有機酸など;アスコルビン酸およびメチオニンを含めて、抗酸化剤;保存剤(例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルアルコールもしくはベンジルアルコール、アルキルパラベン(例えば、メチルパラベンまたはプロピルパラベンなど)、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノールおよびm-クレゾールなど);低分子量(約10残基未満)のポリペプチド;タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなど;親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドンなど;アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリシンなど;単糖、二糖および他の炭水化物(グルコース、マンノースまたはデキストリンを含む);キレート化剤、例えば、EDTAなど;糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなど;塩形成対イオン、例えば、ナトリウムなど;金属錯体(例えば、Zn-タンパク質錯体);ならびに/あるいは非イオン性界面活性剤、例えば、ポリエチレングリコール(PEG)などが含まれるが、これらに限定されない。

20

30

【0391】

抗体の製剤として、凍結乾燥製剤および水溶液を挙げることができる。

【0392】

組成物は、いくつかの態様において、無菌液状調製物として、例えば等張性水溶液、懸濁液、エマルション、分散液、または粘性組成物として提供され、それらは、いくつかの局面において、選択されたpHに緩衝化されている。液状調製物は、通常、ゲル、他の粘性組成物、および固形組成物よりも調製が容易である。加えて、液状組成物は、投与(特に注射によって投与)するのに多少便利である。一方、粘性組成物は、特定組織との接触期間が長くなるように、適当な粘度範囲内で製剤化することができる。液状組成物または粘性組成物は担体を含むことができ、それらは、例えば水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、ポリオール(polyoi)(例えばグリセロール、プロピレングリコール、液状ポリエチレングリコール)およびそれらの適切な混合物などを含有する溶媒または分散媒であることができる。

40

【0393】

無菌注射可能溶液は、結合分子を溶媒に組み入れることによって、例えば無菌水、生理食塩水、グルコース、デキストロースなどの適切な担体、希釈剤、または賦形剤と混合して調製することができる。組成物は凍結乾燥することもできる。組成物は、投与経路および所望の調製物に依存して、湿潤剤、分散剤、または乳化剤(例えばメチルセルロース)

50

、pH緩衝作用物質、ゲル化または増粘性添加剤、保存剤、香味剤、着色剤などの補助物質を含有することができる。いくつかの局面では、標準的な教本を参照することで、適切な調製物を調製することができる。

【0394】

抗微生物保存剤、酸化防止剤、キレート剤、および緩衝剤など、組成物の安定性および無菌性を強化するさまざまな添加剤を加えることができる。微生物作用の防止は、さまざまな抗細菌および抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸などによって確保することができる。注射可能な薬学的形態の長時間にわたる吸収は、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およびゼラチンの使用によって引き起こすことができる。

10

【0395】

組成物はまた凍結乾燥することができる。組成物は、補助物質、例えば、湿潤剤、分散剤または乳化剤（例えば、メチルセルロース）、pH緩衝作用物質、ゲル化添加剤または増粘性添加剤、保存剤および着色剤などを含有することができる。標準的な教本がいくつかの局面では、適切な調製物を調製するために参考にされることがある。

【0396】

インビボ投与のために使用されるための製剤は一般に無菌である。無菌性が、例えば、無菌濾過膜による濾過などによって容易に達成されることがある。

【0397】

V. 抗体の方法および使用

いくつかの態様において、本明細書には、1つまたは複数の抗イディオタイプ抗体の使用を伴う方法が提供される。いくつかの局面において、本明細書には、標的抗体（例えば、CAR、またはCARを発現する細胞など）を測定または検出するための方法、ならびに標的抗体の活性（例えば、CARの活性、またはCARを発現する細胞の活性など）を改変するための方法が提供される。ある特定の態様において、1つまたは複数の抗イディオタイプ抗体は、CARおよび/またはCARを発現する細胞と結合し、CARおよび/またはCARを発現する細胞を検出し、CARおよび/またはCARを発現する細胞を特定し、ならびに/あるいは、CARおよび/またはCARを発現する細胞を定量化する。いくつかの態様において、本明細書において提供される方法は、1つまたは複数の抗イディオタイプ抗体が、キメラ抗原受容体（CAR）を発現する細胞、あるいはキメラ抗原受容体（CAR）を発現する細胞を含有する試料、または含有しつつあると考えられる試料と接触させられる、および/またはインキュベートされる1つまたは複数の工程を提供する。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、抗イディオタイプ抗体と、標的抗体（例えば、CAR）との間における複合体の形成を可能にする条件のもと、組成物または試料とともに処理され、組成物または試料とインキュベートされ、ならびに/あるいは、組成物または試料と接触させられる。いくつかの局面において、この複合体が、CARの検出、単離および/または測定のために利用されることがある。いくつかの態様において、複合体が形成されることにより、標的抗体（例えば、CAR）の活性が、例えば、受容体のシグナリング活性を刺激することなどによって、または、いくつかの態様においては標的抗体（例えば、CAR）の活性を、例えば、抗原とのCARの会合を防止することにより打ち消すことによって改変される。

20

30

40

【0398】

A. 検出/分離方法

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体および/または該抗イディオタイプ抗体の1種もしくは複数種を含有する分子（例えば、コンジュゲートおよび複合体など）のうち1種または複数種の使用であって、抗体（例えば、標的抗体）を検出するための、抗体（例えば、標的抗体）と結合させるための、および/または抗体（例えば、標的抗体）を単離するための使用を伴う方法が提供される。ある特定の態様において、方法は、1種または複数種の抗イディオタイプ抗体を試料および/または組成物に接触させること、インキュベートすること、および/または曝露することのうち1つまたは複数の工程を提供する。いくつかの態様において、試料および/または組成物は、1種または複数種の抗イディ

50

オタイプが結合する、ならびに/あるいは、1種または複数種の抗イディオタイプによって認識される標的抗体および/またはその抗原結合性フラグメントを有し、そのような標的抗体および/またはその抗原結合性フラグメントを有する可能性があり、ならびに/あるいは、そのような標的抗体および/またはその抗原結合性フラグメントを有する可能性がある。ある特定の態様において、1種または複数種の抗イディオタイプが結合する、あるいは、1種または複数種の抗イディオタイプによって認識される抗体またはその抗原結合性フラグメントは、1つまたは複数の融合ドメインを含有し、および/または融合タンパク質である。ある特定の態様において、標的抗体および/またはその抗原結合性フラグメントはCARである。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）、またはそのような抗CD19抗体（例えば、抗体フラグメント）を含有するCARを含むキメラ分子またはコンジュゲートを含めて、その抗原結合性フラグメントに結合し、ならびに/あるいは、これらを認識する。

10

【0399】

方法はいくつかの態様において、標的抗体を含有する、または含有する可能性がある試料および/または組成物を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすること、抗イディオタイプ抗体とともに処理すること、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させることを含む。ある特定の態様において、インキュベーションは、抗イディオタイプ抗体が組成物中に存在する標的抗体に結合して、例えば、抗イディオタイプ抗体および標的抗体を含有する複合体を形成することを許容する条件のもとで行われる。

20

【0400】

いくつかの態様において、試料および/または組成物は標的抗体（例えば、CAR）を含有し、または、標的抗体（例えば、CAR）を含有する可能性がある。ある特定の態様において、試料および/または組成物は、標的抗体（例えば、CAR）を発現する細胞を含有し、または、標的抗体（例えば、CAR）を発現する細胞を含有する可能性がある。ある特定の態様において、試料は生物学的試料である。特定の態様において、試料は血清試料または血液試料である。いくつかの態様において、生物学的試料は1つまたは複数の免疫細胞を含有する。いくつかの態様において、生物学的試料は組織（例えば、結合組織、筋肉組織、神経組織または上皮組織など）であり、または組織（例えば、結合組織、筋肉組織、神経組織または上皮組織など）に由来する。特定の態様において、生物学的試料は、心臓、血管系、唾液腺、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、腸、結腸、直腸、視床下部、下垂体、松果体、甲状腺、副甲状腺、副腎、腎臓、尿管、膀胱、尿道、リンパ系、皮膚、筋肉、脳、脊髄、神経、卵巣、子宮、精巣、前立腺、咽頭、喉頭、気管、気管支、肺、横隔膜、骨、軟骨、靭帯または腱であるかあるいは、これらに由来する。特定の態様において、生物学的試料はヒト対象から採取され、収集され、および/または得られる。ある特定の態様において、試料は生細胞および/またはインタクトな細胞を含有する。いくつかの態様において、試料は、破碎および/または溶解を受けているホモジネートおよび/または細胞であるかあるいは、破碎および/または溶解を受けているホモジネートおよび/または細胞を含有する。いくつかの態様において、生物学的試料は、血液、血清および/または組織から単離されているタンパク質および/または抗体を含有する。

30

【0401】

特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は標的抗体（例えばCAR）と複合体を形成するかまたは形成することができる。特定の態様において、この複合体が、例えば、標的抗体（例えば、組成物または試料における標的抗体）の検出、特定、測定および/または定量化を可能にするために検出され、測定され、定量化され、および/または評価される。ある特定の態様において、方法は、抗イディオタイプ抗体と、試料中の標的抗体との間で複合体が形成されるかどうかを検出すること、および/または、そのような結合の有無もしくはレベルを検出することを含む。いくつかの態様において、複合体は検出可能な標識を含有する。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、検出可能な標識を含有するイムノコンジュゲートである。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、検出可能な標識を含有し、検出可能な標識とコンジュゲートされ、検出可能な標識に結合さ

40

50

れている、および/または、検出可能な標識に付着されている。いくつかの態様において、複合体は、抗イディオタイプ抗体に結合する、および/または抗イディオタイプ抗体を認識する抗体のうち、検出可能な標識とコンジュゲートされる、検出可能な標識に結合されている、および/または、検出可能な標識に付着されている抗体（例えば、二次抗体）を含有する。

【0402】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、試料または組成物における標的抗体）を検出するための、定量化するための、検出するための、および/または評価するための方法は、標的抗体と、抗イディオタイプ抗体との複合体を検出することを含む。いくつかの態様において、複合体は検出可能な標識を含有する。ある特定の態様において、複合体は、検出可能な標識をプローブとして探査され、および/または検出可能な標識と接触させられる。いくつかの態様において、複合体は、任意の適切な方法または手段によって、例えば、限定されないが、フローサイトメトリー、免疫細胞化学、免疫組織化学、ウエスタンブロット分析およびELISAなどによって検出される。

10

【0403】

いくつかの態様において、標的抗体または抗原結合性フラグメントは細胞に結合されているかまたは細胞の表面に発現されている。特定の態様において、標的抗体（例えば、CAR）は細胞内において結合されておらず、または細胞内に含有されない。例えば、いくつかの態様において、標的抗体は分泌される。ある特定の態様において、抗体は細胞の表面から脱離しており、除かれており、および/または溶解されている。

20

【0404】

いくつかの態様において、標的抗体または抗原結合性フラグメントは、キメラ抗原受容体（CAR）において、例えば、細胞の表面に発現されるCARなどにおいて含有される。いくつかの態様において、細胞は幹細胞（例えば、iPSC）または免疫細胞である。いくつかの態様において、免疫細胞はT細胞であり、例えば、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、ナイーブT（ T_N ）細胞、エフェクターT細胞（ T_{EFF} ）、メモリーT細胞、腫瘍浸潤リンパ球（TIL）、未成熟T細胞、成熟T細胞、ヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞、粘膜関連インバリアントT（MAIT）細胞、天然に存在する適応性の制御性T（Treg）細胞、ヘルパーT細胞（例えば、TH1細胞、TH2細胞、TH3細胞、TH17細胞、TH9細胞、TH22細胞、濾胞ヘルパーT細胞、アルファ/ベータT細胞および/またはデルタ/ガンマT細胞など）である。いくつかの態様において、細胞は組織から得られ、例えば、心臓、血管系、唾液腺、食道、胃、肝臓、胆嚢、膵臓、腸、結腸、直腸、視床下部、下垂体、松果体、甲状腺、副甲状腺、副腎、腎臓、尿管、膀胱、尿道、リンパ系、皮膚、筋肉、脳、脊髄、神経、卵巣、子宮、精巣、前立腺、咽頭、喉頭、気管、気管支、肺、横隔膜、骨、軟骨、靭帯または腱から得られる。

30

【0405】

いくつかの態様において、標的抗体は抗CD19抗体である。いくつかの態様において、標的抗体は抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントに由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体は抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントに由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

40

【0406】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメント（ならびに/あるいは、そのような抗体（例えば、抗体フラグメント）を含むキメラ分子、例えば、CARなど）を検出する方法であって、標的抗体または抗原結合性フラグメントを含む組成物を本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは抗イディオタイプ抗体イムノコンジ

50

ユゲートと接触させること、および、標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、方法はさらに、抗イディオタイプ抗体と、組成物中の標的抗体との間で複合体が形成されるかどうかを検出すること、例えば、そのような結合の有無またはレベルを検出することなどを含む。いくつかの態様において、標的抗体または抗原結合性フラグメントは細胞に結合されているかまたは細胞の表面に発現されており、検出することは、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは検出のために直接的または間接的に標識される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

10

【0407】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメント（ならびに/あるいは、そのような抗体（例えば、抗体フラグメント）を含むキメラ分子、例えば、CARなど）を単離する方法であって、標的抗体または抗原結合性フラグメントを含有する、または含有する可能性がある組成物および/または試料を、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートと接触させること、および、標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を含む複合体を単離することを含む方法が提供される。ある特定の態様において、標的抗体がイムノコンジュゲート（例えば、セクションI~Fに記載されるイムノコンジュゲートなど）において抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとともに単離される。いくつかの態様において、標的抗体または抗原結合性フラグメントは細胞に結合されているかまたは細胞の表面に発現されており、単離することは、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を単離することを含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体を含む複合体が、アフィニティーに基づく分離によって単離される。いくつかの態様において、アフィニティーに基づく分離は、イムノアフィニティーに基づく分離、磁気に基づく分離、およびアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

20

30

【0408】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを発現する細胞を検出する方法であって、CARを発現する細胞を本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートと接触させること、および、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは検出のために直接的または間接的に標識される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

40

【0409】

ある特定の態様において、標的抗体を本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体により検出するための方法は、対象における標的抗体を評価するために使用される。例えば、いくつかの態様において、本明細書には、抗イディオタイプ抗体についての使用方

50

法であって、治療用細胞組成物のCAR発現細胞のインビボ薬物動態学、増殖および/または持続性を評価するための、測定するための、および/または定量化するための方法が提供される。いくつかの態様において、細胞のインビボ薬物動態学、増殖および/または持続性、ならびに/あるいは、細胞（例えば、本明細書において提供される方法において免疫療法（例えば、CAR-T細胞療法）のために投与されるCAR発現細胞など）の細胞表現型または機能的活性における変化を、本明細書において提供される抗イディオタイプ抗体を用いて測定することができる。いくつかの態様において、CAR発現細胞の薬物動態学、増殖および/または持続性が、治療用細胞組成物を投与した後の対象および/または該対象から得られる試料における、CARを発現する細胞の存在および/または量を、本明細書において提供される抗イディオタイプ抗体による治療を施している間および/またはその後において検出することによって測定され、評価される。

10

【0410】

いくつかの局面において、抗イディオタイプ抗体が、組換え受容体を発現する細胞（例えば、T細胞に基づく治療のために投与されるCAR発現細胞）の量を対象の血液試料または血清試料または器官試料または組織試料（例えば、疾患部位、例えば、腫瘍試料）において評価するためにフローサイトメトリーとともに使用される。いくつかの局面において、持続性が、1マイクロリットルの試料（例えば、血液または血清）あたりのCAR発現細胞の数として、あるいは、1マイクロリットルの試料につき末梢血単核球（PBMC）または白血球またはT細胞の総数あたりのCAR発現細胞の数として定量化される。ある特定の局面において、増殖が、試料（例えば、血液または血清）間の1マイクロリットルあたりのCAR発現細胞の数における増大として、あるいは、経時的な1マイクロリットルの試料につき末梢血単核球（PBMC）または白血球またはT細胞の総数あたりのCAR発現細胞の数における増大として定量化される。いくつかの態様において、薬物動態学、増殖および/または持続性が、対象および/または対象から収集される試料におけるCAR発現細胞の量を複数の時点で検出することによって測定され、または評価される。ある特定の態様において、1つまたは複数の試料が、治療用細胞組成物が投与された後において24時間、48時間、72時間、4日、5日、6日、7日、10日、14日、21日、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、3ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、1年または1年超の範囲内で対象から収集され、得られ、および/または採取される。

20

【0411】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを発現する細胞を選択する方法であって、CARを発現する細胞を含む細胞の集団を本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートと接触させること、および、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞は、アフィニティーに基づく分離によって選択される。いくつかの態様において、アフィニティーに基づく分離は、イムノアフィニティーに基づく分離、フローサイトメトリー、磁気に基づく分離、およびアフィニティークロマトグラフィーからなる群より選択される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートは支持体または固定相に可逆的に結合されるかまたは固定化される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

30

40

【0412】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを検証する方法であって、(a) CARが形質導入されたT細胞を含む試料を、CARを標的とする抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フ

50

ラグメントとインキュベートすること、(b) 抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントと結合した細胞の割合を決定すること、および(c) CARを抗イディオタイプ抗体結合T細胞の割合に基づいて検証することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体が標識され、抗イディオタイプ抗体結合T細胞がフローサイトメトリーによってアッセイされる。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0413】

また、提供された抗イディオタイプ抗体、および該抗イディオタイプ抗体の1つまたは複数を含む分子（例えば、コンジュゲートおよび複合体など）の使用を伴う方法であって、個体における処置決定を、例えば、抗イディオタイプ抗体によって認識されるCAR、例えば、標的抗体（例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）またはその抗原結合性フラグメントなど）を含むCARなどを検出することなどによって知らせるための方法が提供される。いくつかの態様において、方法は、CAR T細胞（例えば、抗CD19 CAR T細胞など）の投与を含む治療に関連して個体における処置決定を知らせるためのものである。方法はいくつかの態様において、生物学的試料を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすること、および/または抗イディオタイプ抗体をプローブとして探查すること、ならびに/あるいは抗イディオタイプ抗体を個体に投与することを含む。ある特定の態様において、生物学的試料は、細胞または組織もしくはその一部分、例えば、腫瘍またはがんの組織または生検物またはそれらの切片などを含む。ある特定の態様において、インキュベートすることは、試料に存在するCARに対する抗イディオタイプ抗体の結合を許容する条件のもとで行われる。いくつかの態様において、方法はさらに、抗イディオタイプ抗体と、試料中のCARとの間で複合体が形成されるかどうかを検出すること、例えば、そのような結合の有無またはレベルを検出することなどを含む。そのような方法はインピトロ法またはインピボ法であり得る。

【0414】

1つの態様において、抗イディオタイプ抗体が、個体におけるCAR T細胞療法に対する調節が必要であるかどうかを決定するために使用され、この場合、例えば、個体における低いレベルのCAR T細胞により、治療を調節する必要があることが示される。いくつかの態様において、標的抗体は抗CD19抗体である。いくつかの態様において、標的抗体は抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントに由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体は抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントに由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0415】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCAR T細胞療法を個体において評価する方法であって、個体からの試料を、CARを標的とする抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、抗イディオタイプ抗体と結合したT細胞の量を決定すること、および、治療の生じ得る治療利益を抗イディオタイプ抗体結合T細胞の量に基づいて決定することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体が標識され、抗イディオタイプ抗体結合T細胞がフローサイトメトリーによってアッセイされる。いくつかの態様において、試料は血液由来の試料であるかあるいはアフエレーシスもしくは白血球アフエレーシスの産物であり、またはアフエレーシスもしくは白

10

20

30

40

50

血球アフェレーシスの産物に由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0416】

いくつかの態様において、CAR T細胞療法を個体において評価する方法が提供される。いくつかの局面において、CARは、標的抗体、例えば、SJ25C1またはFMC63である、あるいはSJ25C1またはFMC63に由来する抗体（例えば、全長SJ25C1または全長FMC63の抗原結合性フラグメントなど）などを含む。いくつかの態様において、方法は、CARを標的とする（例えば、CARの抗体、例えば、CARの抗体フラグメントを標的とする）抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを個体に投与することを含む。いくつかの局面において、投与は、治療の1回目を開始した後で行われる。方法は、抗イディオタイプ抗体の存在を個体における1つまたは複数の組織/器官において決定することを含むことができる。いくつかの局面において、方法は、治療の生じ得る治療利益を前記1つまたは複数の組織/器官の少なくとも1つにおける抗イディオタイプ抗体の存在に基づいて決定することを含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体が標識され、個体における抗イディオタイプ抗体の存在が、標識を検出するための個体における画像化によって決定される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体の存在を個体における1つまたは複数の組織/器官において決定することは、前記1つまたは複数の組織/器官における抗イディオタイプ抗体またはその結合のレベルを決定することを含み、あるいは、そのようなレベルを決定することによって行われる。

【0417】

いくつかの態様において、方法は、抗イディオタイプ抗体を、治療の2回目以降を開始した後で個体に投与すること、ならびに/あるいは、抗イディオタイプ抗体の存在を個体における1つまたは複数の組織/器官において決定することをさらに含む。いくつかの局面において、方法はさらに、治療の生じ得る治療利益を、第1の抗イディオタイプ抗体投与と、第2の抗イディオタイプ抗体投与との間での個体における前記1つまたは複数の組織/臓器の少なくとも1つでの抗イディオタイプ抗体のレベルの差に基づいて決定することを伴う。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0418】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含む、個体におけるCAR T細胞療法を調節する方法が提供される。いくつかの局面において、方法は、個体からの試料を、CARを標的とする抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートすること、または接触させることを含む。いくつかの局面において、方法は、抗イディオタイプ抗体と結合した、または抗イディオタイプ抗体に結合したT細胞の量を決定することを含む。いくつかの局面において、方法は、治療を抗イディオタイプ抗体結合T細胞の量に基づいて調節することを含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は直接的または間接的に標識される。そのような態様のいくつかの局面において、抗イディオタイプ抗体結合T細胞がインビボまたはエクスピボで画像化され、例えば、いくつかの場合には、CAR-T細胞および抗イディオタイプ抗体が投与された対象からの試料をフローサイトメトリーによりアッセイすることなどによって画像化される。いくつかの態様において、試料は血液由来の試料であり、ならびに/あるいはアフェレーシスもしくは白血球アフェレーシスの産物であるかまたはアフェレーシスもしくは白血球アフェレーシスの産物に由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に

10

20

30

40

50

示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0419】

いくつかの態様において、CAR T細胞療法を個体において調節する方法が提供される。いくつかの局面において、そのような方法は、CARが標的抗体（例えば、SJ25C1またはFMC63の抗原結合性フラグメントを含めて、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）を含むCAR-T細胞療法について行われる。方法はいくつかの態様において、CARを標的とする、またはCARと結合する抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを、治療の1回目を投与することを開始した後で個体に投与すること、および、抗イディオタイプ抗体の有無またはレベルを個体における1つまたは複数の組織/器官において決定することを含む。いくつかの局面において、方法は、治療を、前記1つまたは複数の組織/器官の少なくとも1つにおける抗イディオタイプ抗体の有無またはレベルに基づいて調節することを含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体が直接的または間接的に標識され、いくつかのそのような態様においては、個体における抗イディオタイプ抗体の存在が、標識を検出するための個体における画像化によって決定される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体の存在を個体における1つまたは複数の組織/器官において決定することは、前記1つまたは複数の組織/器官における抗イディオタイプ抗体のレベルまたはその結合を決定することを含み、あるいは、前記1つまたは複数の組織/器官における抗イディオタイプ抗体についてのレベルまたはその結合を決定することを含む。いくつかの態様において、方法は、抗イディオタイプ抗体を、治療の2回目以降の投与を開始した後で個体に投与すること、および、いくつかの局面においては、抗イディオタイプ抗体の有無またはレベルを個体における前記1つまたは複数の組織/器官において決定すること、ならびに/あるいは、治療を観測結果に基づいて、例えば、第1の抗イディオタイプ抗体投与と、第2の抗イディオタイプ抗体投与との間での個体における前記1つまたは複数の組織/臓器の少なくとも1つでの抗イディオタイプ抗体のレベルの差などに基づいて調節することをさらに含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0420】

いくつかの局面において、治療は下記の場合には調節される：(i) 血液または他の生物学的試料において検出可能なT細胞療法の細胞の数（検出可能であった後での数）が検出可能でない、または低下する場合、任意ではあるが、T細胞療法が施された後における前の時点と比較して低下する場合；(ii) 血液または他の生物学的試料において検出可能なT細胞療法の細胞の数が、T細胞療法の投与を開始した後での、任意ではあるが、1回目、2回目またはそれ以降の後での対象の血液または生物学的試料において検出可能なT細胞療法の細胞のピーク数または最大数の1.5分の1以下に、2.0分の1以下に、3.0分の1以下に、4.0分の1以下に、5.0分の1以下に、10分の1以下に、またはそれ以下に低下する場合；(iii) T細胞療法の細胞のピークレベルまたは最大レベルが対象の血液において検出可能となった後の時点で、対象からの血液において検出可能なT細胞の細胞数または該T細胞に由来する細胞の数が、対象の血液における総末梢血単核球（PBMC）の10%未満、5%未満、1%未満または0.1%未満よりも少ない場合；ならびに/あるいは(iv) 血液において検出可能な細胞療法のCD3+またはCD8+の細胞の数が、1μLあたり20細胞未満、1μLあたり15細胞未満、1μLあたり10細胞未満、1μLあたり5細胞未満、または1μLあたり1細胞未満である場合。いくつかの態様において、治療は、1回または複数回のさらなるCAR-T細胞療法を施すこと、増大した用量のCAR-T細胞療法を施すこと、同じ抗原または異なる抗原について特異的な代替となるCAR-T細胞療法を施すこと、CAR-T細胞の増殖または持続を促進させるための、または増大させるための1つまたは複数の免疫調節剤または他の作用物質を投与

10

20

30

40

50

することによって調節される。

【0421】

特異的抗体-抗原結合を検出するには、当技術分野において公知のさまざまな方法を使用することができる。例示的イムノアッセイには、蛍光偏光イムノアッセイ (FPIA)、蛍光イムノアッセイ (FIA)、酵素イムノアッセイ (EIA)、比濁阻害イムノアッセイ (NIA)、酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA)、およびラジオイムノアッセイ (RIA) がある。抗イディオタイプ抗体には指示薬部分またはラベル基を取り付けることができ、指示薬部分またはラベル基は、本方法のさまざまな使用の必要を満たすように選択され、それらは、アッセイ機器の入手可能性および適合するイムノアッセイ手順によって決まることが多い。例示的ラベルには、放射性核種 (例えば ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^3H 、または ^{32}P および/またはクロム (^{51}Cr)、コバルト (^{57}Co)、フッ素 (^{18}F)、ガドリニウム (^{153}Gd 、 ^{159}Gd)、ゲルマニウム (^{68}Ge)、ホルミウム (^{166}Ho)、インジウム (^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、ヨウ素 (^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、ランタン (^{140}La)、ルテチウム (^{177}Lu)、マンガン (^{54}Mn)、モリブデン (^{99}Mo)、パラジウム (^{103}Pd)、リン (^{32}P)、プラセオジウム (^{142}Pr)、プロメチウム (^{149}Pm)、レニウム (^{186}Re 、 ^{188}Re)、ロジウム (^{105}Rh)、ルテニウム (rutherfordium) (^{97}Ru)、サマリウム (^{153}Sm)、スカンジウム (^{47}Sc)、セレン (^{75}Se)、(^{85}Sr)、硫黄 (^{35}S)、テクネチウム (^{99}Tc)、タリウム (^{201}Tl)、スズ (^{113}Sn 、 ^{117}Sn)、トリチウム (^3H)、キセノン (^{133}Xe)、イッテルビウム (^{169}Yb 、 ^{175}Yb)、イットリウム (^{90}Y)、酵素 (例えばアルカリホスファターゼ、セイヨウウサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、または β -ガラクトシダーゼ (galactosidase))、蛍光部分または蛍光タンパク質 (例えばフルオレセイン、ローダミン、フィコエリトリン、GFP、またはBFP)、または発光部分 (例えばQuantum Dot Corporation (カリフォルニア州パロアルト) が供給するQdot (商標) ナノ粒子) がある。さまざまな上記イムノアッセイを実施する際に使用されるさまざまな一般技法が公知である。

10

20

【0422】

いくつかの態様では、抗イディオタイプ抗体を標識する必要はなく、その存在は、抗イディオタイプ抗体のいずれかに結合する標識抗体を使って検出することができる。

【0423】

ここに提供する抗イディオタイプ抗体は、競合結合アッセイ、直接および間接サンドイッチアッセイ、ならびに免疫沈降アッセイなど、任意の公知アッセイ方法において使用することができる。Zola, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp.147-158 (CRC Press, Inc. 1987)。

30

【0424】

本抗イディオタイプ抗体は、インビボイメージングなどのインビボ診断アッセイにも使用することができる。一般に抗イディオタイプ抗体は、個体への投与後に関心対象の細胞または組織の位置をインビボで特定することができるように、放射性核種 (^{111}In 、 ^{99}Tc 、 ^{14}C 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、または ^3H など) で標識される。

【0425】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは固体支持体に固定化されているかまたは結合されており、この場合、CAR-T細胞を含む1つまたは複数の標的細胞が固体支持体と接触させられる。いくつかの態様において、固体支持体はビーズである。いくつかの態様において、固体支持体はウエルまたはプレート (例えば、細胞培養プレート) の表面である。いくつかの態様において、固体支持体は、例えば、CAR+ T細胞のクロマトグラフィーによる単離または選択を可能にするために、クロマトグラフィーカラムに存在する、または含有される樹脂またはマトリックスである。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントは固体支持体に可逆的に結合させられ、または可逆的に結合させることができる。いくつかの態様において、固体支持体は、抗イディオタイプ抗体に存在する結合パートナーに結合すること (例えば、可逆的に結合すること) が可能である1つまたは複数の結合部位を含むアフィニティークロマトグラフィーマトリックスである。1つの例示的態様において、抗イディオタ

40

50

イブ抗体は、固体支持体の表面に存在する、または固体支持体の表面に固定化されるストレプトアビジン分子またはストレプトアビジンムテイン分子に結合することができるストレプトアビジン結合ペプチドまたは他のストレプトアビジン結合部分を含み、いくつかの場合には競合物質（例えば、ビオチンなど）の存在下で解離させることができる。例示的なそのようなシステムには、米国特許出願公開第20150024411号に記載されるシステムが含まれる。

【0426】

いくつかの局面において、本明細書において提供される抗ID抗体は細胞の表面に発現させることができる。いくつかの局面において、細胞発現の抗ID抗体は、例えば、CAR細胞を選択的に成長させるためのシステムの一部などとして、CAR発現細胞を誘導するために、または刺激するために使用することができる。いくつかの局面において、抗ID抗体またはその抗原結合性フラグメントは人工抗原提示細胞（aAPC）の表面に発現される。抗IDを発現するaAPCは、CAR T細胞集団の刺激または増殖のための試薬として使用することができる。

10

【0427】

aAPCの調製または作製のための様々な方法が公知である：例えば、米国特許第6,225,042号、同第6,355,479号、同第6,362,001号、同第6,790,662号、同第7,754,482号、米国特許出願公開第2009/0017000号および同第2009/0004142号、ならびに国際公開番号WO2007/103009を参照のこと。様々なaAPCが当技術分野において公知である：例えば、米国特許第8,722,400号、米国特許出願公開第2014/0212446号；ButlerおよびHirano（2014）*Immunol Rev.*, 257（1）:10.1111/imr.12129；Suhoshkiら（2007）*Mol. Ther.*, 15:981-988を参照のこと。

20

【0428】

aAPCは、MHC分子、刺激性および共刺激性の分子（1つまたは複数）、Fc受容体、接着分子（1つまたは複数）、および/またはサイトカイン（例えば、IL-2）を産生する、もしくは分泌する能力の発現を含めて、天然APCの様々な特徴を含む。通常、aAPCは、上記特徴の1つまたは複数の発現を欠く細胞株であり、細胞（例えば、CAR-T細胞）を刺激するために必要である欠けている要素の1つまたは複数（例えば、トランスフェクションまたは形質導入により）導入することによって作製される。

30

【0429】

いくつかの態様において、aAPCになるために選択される細胞は、細胞内の抗原プロセッシング、細胞内のペプチド輸送、および/または細胞内のMHCクラスI分子もしくはMHCクラスII分子-ペプチド負荷が欠損している。いくつかの局面において、そのような細胞はまた、MHCクラスI分子またはMHCクラスII分子、ならびに/あるいは抗原プロセッシングに参与する、または関連づけられる分子を発現する能力を欠く。例示的なaAPCは、抗原プロセッシング（TAP）欠損細胞株（例えば、昆虫細胞株など）に関連する輸送体を構成するか、またはそのような輸送体に由来するかのいずれかである。例示的な細胞株が、ショウジョウバエ細胞株、例えば、シュナイダー-2細胞株（例えば、Schneider, *J. Embryol. Exp. Morph.* 1972 Vol 27, pp.353-365を参照のこと）などである。シュナイダー-2細胞の調製、成長および培養のための例示的方法が、米国特許第6,225,042号、同第6,355,479号および同第6,362,001号に提供される。

40

【0430】

いくつかの態様において、細胞はK652細胞またはK562由来細胞である。いくつかの態様において、細胞は、ATCC番号CCL-243で入手可能な細胞株である。

【0431】

いくつかの局面において、aAPCはさらに、CAR発現T細胞の刺激を高めるための、増強するための、または増大させるためのさらなる分子を発現するように工学的に改変される。いくつかの態様において、さらなる分子は、免疫刺激リガンド、共刺激リガンド、サイトカインまたは接着分子である。いくつかの態様において、共刺激リガンドは、T細胞の表面に存在する少なくとも1つの共刺激分子と特異的に結合する。いくつかの態様において

50

、aAPCが、共刺激シグナル（例えば、CD7、B7-1（CD80）、B7-2（CD86）、PD-L1、PD-L2、4-1BBL、OX40L、ICOS-L、ICAM、CD30L、CD40、CD70、CD83、HLA-G、MICA、MICB、HVEM、リンホトキシン受容体、ILT3、ILT4、3/TR6、もしくはB7-H3のリガンドなど）、あるいは、CD27、CD28、4-1BB、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、LFA-1、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、Tollリガンド受容体、またはCD83のリガンドに特異的に結合する抗体、細胞接着分子（例えば、ICAM-1またはLFA-3）、および/またはサイトカイン（例えば、IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、インターフェロン-アルファ（IFN α ）、インターフェロン-ベータ（IFN β ）、インターフェロン-ガンマ（IFN γ ）、腫瘍壊死因子-アルファ（TNF α ）、腫瘍壊死因子-ベータ（TNF β ）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）および顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF））の1つまたは複数を発現させるために、例えば、形質導入またはトランスフェクションによって作製される。いくつかの場合において、aAPCは通常にはMHC分子を発現せず、しかし、MHC分子を発現させるために工学的に改変することができ、あるいは、いくつかの場合には、MHC分子を、例えば、サイトカインによる刺激などによって発現させるために誘導され、または誘導することができる。いくつかの場合において、aAPCにはまた、刺激性または共刺激性のリガンドを負荷することができ、そのようなリガンドには、例えば、抗CD3抗体、抗CD28抗体または抗CD2抗体を挙げることができる。いくつかの態様において、aAPCは、例えば、T細胞表面のT細胞受容体/CD3複合体などを介して媒介される、細胞における一次シグナルを媒介することができる分子を発現する。いくつかの態様において、aAPCは、一次シグナルが伝達されるようにTCR/CD3複合体と特異的に結合する刺激リガンドを含む。

10

20

【0432】

いくつかの態様において、抗IDはCARを介してシグナルを送達することができるので、aAPCは、TCR/CD3複合体と特異的に結合する刺激リガンドを発現しない。いくつかの態様において、aAPCは共刺激分子を発現しない。

【0433】

いくつかの態様において、抗IDは、細胞の表面での発現のために一本鎖フラグメント（scFv）として発現される。scFvをコードする核酸を、膜貫通ドメインをコードするDNA配列に融合することができる。特に有用な膜貫通領域には、T細胞受容体のアルファ鎖、ベータ鎖またはゼータ鎖、CD28、CD3イプシロン、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154の膜貫通領域（1つまたは複数）に由来する膜貫通領域が含まれる。代替として、膜貫通ドメインは合成であってもよく、そのような場合、膜貫通ドメインは主に疎水性残基（例えば、ロイシンおよびバリンなど）を含むであろう。いくつかの場合において、フェニルアラニン、トリプトファンおよびバリンのトリプレットが、合成膜貫通ドメインの各末端に見いだされるであろう。例示的な膜貫通ドメインには、CD8またはCD28に由来する膜貫通ドメインが含まれる。

30

【0434】

B. 細胞刺激における使用

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントはアゴニストであり、および/または、標的抗体（例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）またはその抗原結合性フラグメントなど）を含有するコンジュゲートまたはキメラ受容体を含めて、標的抗体（例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）またはその抗原結合性フラグメントなど）を発現する細胞を刺激する特異的な活性を呈する。いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体、および該抗イディオタイプ抗体の1つまたは複数を含有する分子（例えば、コンジュゲートおよび複合体など）の使用を伴う方法であって、CARを発現する、または他のキメラ受容体を発現する細胞（例えば、T細胞など）の刺激または活性化のための方法が提供される。いくつかの局面において、CARまたは他の受容体は、標的抗体、例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）またはその抗原結合性フラグメントなどを含む。

40

【0435】

50

いくつかの態様において、方法は、遺伝子改変されたT細胞を調製する方法に関連して使用することができ、例えば、キメラ受容体（例えば、標的抗体を含むCARなど）をコードする核酸分子が、例えば、トランスフェクション、形質導入、または非ウイルス的な核酸移入手段（例えば、トランスポゾンに基づくアプローチなど）によって導入されている遺伝子改変されたT細胞または他の細胞を増殖する方法などにおいて使用することができる。いくつかの局面において、標的抗体は抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）またはその抗原結合性フラグメントである。特定の態様において、標的抗体はCAR（例えば、抗CD19 CAR）であるかまたはCAR（例えば、抗CD19 CAR）を含む。特定の態様において、抗CD19 CARは、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）から得られる、および/または抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）に由来するscFvを含有する。

10

【0436】

方法はいくつかの態様において、CARが形質導入されたT細胞を含む試料を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすることを含む。ある特定の態様において、方法はさらに、CAR T細胞が活性化または刺激されるかどうかを、例えば、CAR T細胞における生存性、増殖、および/または活性化マーカーの発現を評価することなどによって検出することを含む。いくつかの態様において、標的抗体は抗CD19抗体である。いくつかの態様において、標的抗体は抗体SJ25C1もしくは抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、抗体SJ25C1もしくは抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントに由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

20

【0437】

いくつかの態様において、細胞を刺激する方法であって、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを発現する細胞を含むインプット組成物を本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、刺激された細胞を含むアウトプット組成物を生じさせることを含む方法が提供される。いくつかの態様において、インキュベーションは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントがCARに結合し、それにより、シグナルをインプット組成物における1つまたは複数の細胞において誘導する、または調節する条件のもとで実施される。いくつかの態様において、細胞はT細胞を含む。いくつかの態様において、T細胞は、CD4+および/またはCD8+のT細胞を含む。

30

【0438】

いくつかの態様において、本明細書には、CARを発現する細胞を刺激または増殖することを、CARを発現する細胞を含有するインプット組成物を、CARに結合する、および/または認識する抗ID抗体とインキュベートすることによって行う方法が提供される。いくつかの態様において、抗ID抗体と、CARとの間における結合により、CARを発現する細胞の増殖が誘発され、それにより、増殖した細胞を含むアウトプット組成物がもたらされる。

40

【0439】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、アウトプット組成物を生じさせるために、1つまたは複数の細胞のインプット組成物に接触させられ、あるいは、1つまたは複数の細胞のインプット組成物とインキュベートされる。ある特定の態様において、インプット細胞および/またはインプット組成物は、インプット組成物の細胞の少なくとも一部分に対する1つまたは複数の変化をもたらし、それにより、インプット組成物をアウトプット組成物に変換する条件のもとで処理される、インキュベートされる、または接触させられる、あるいは、そのような条件のもとで処理される、インキュベートされる、または接触させられることが望ましい細胞の組成物および/または複数の細胞である。いくつかの態様において、インプット細胞は免疫細胞の組成物であり、例えば、CARを発現する

50

細胞を含有するT細胞の組成物である。特定の態様において、インプット組成物における細胞の少なくとも一部が、提供された方法を実施することによって、得られたアウトプット組成物において活性化され、増殖し、かつ/または濃縮される。

【0440】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体により、インプット組成物のCAR発現細胞が増殖するかまたは濃縮される。いくつかの態様において、インプット組成物は真核生物細胞（例えば、哺乳動物細胞など）を含む。ある特定の態様において、インプット組成物はヒト細胞を含有する。いくつかの態様において、インプット組成物は、血液、骨髄、リンパまたはリンパ系器官に由来する細胞を含有する。特定の態様において、インプット組成物は、免疫系の細胞、すなわち、自然免疫または適応免疫の細胞、例えば、リンパ球（典型的にはT細胞および/またはNK細胞）を含めて、骨髄系細胞またはリンパ系細胞を含有する。いくつかの態様において、インプット組成物は、幹細胞、例えば、誘導多能性幹細胞（iPSC）を含めて、複能性幹細胞および多能性幹細胞などを含有する。特定の態様において、インプット組成物はCD3⁺細胞を含有する。ある特定の態様において、インプット組成物はCD4⁺細胞を含有する。いくつかの態様において、インプット組成物はCD8⁺細胞を含有する。いくつかの態様において、インプット組成物はCD4⁺細胞の組成物である。特定の態様において、インプット組成物はCD8⁺細胞の組成物である。

10

【0441】

いくつかの態様において、方法および作用物質は、1つまたは複数の天然のシグナリング分子（例えば、1つまたは複数の共刺激受容体または抗原受容体またはサイトカイン受容体など）を欠損しているかまたはそれがダウンレギュレートしているものの、抗ID抗体によって認識されるキメラ受容体（例えば、CAR）を発現するT細胞を刺激することができる。いくつかの態様において、インプット組成物の細胞は、CD28または他の共刺激分子または他のシグナリング分子の表面発現について、低いかまたは陰性である。したがって、いくつかの態様において、提供された作用物質および方法は、所望のシグナルおよび/またはそのようなシグナルの完全な範囲を提供して、例えば、共刺激シグナルを提供する、および/または完全な活性化を達成するなどのために、CD28または他の内因性のシグナリング分子の表面発現を必要とし得る、またはそれらの表面発現に依存し得るある種の他の活性化作用物質または刺激作用物質または方法と比較して、ある種の利点を有する。いくつかの態様において、提供された作用物質および方法は、抗CD3/抗CD28試薬（例えば、ビーズ）と比較してそのような点で好都合であり、いくつかの局面では、提供された抗ID抗体は、所望の効果（例えば、CD28または他の天然のシグナリング分子について低いかまたは陰性である細胞の活性化または増殖など）を刺激すること、または達成することができるという点で好都合である。いくつかの態様において、抗ID抗体を用いる刺激によるCARを介したシグナリングにより、CARを介した一次シグナルおよび二次（共刺激）シグナルの両方が、ただ1つだけの試薬を使用してもたらされる。いくつかの態様において、インプット組成物は、低いレベルのCD28または他の内因性のシグナリング分子を発現するCD3⁺細胞を含む。いくつかの態様において、インプット組成物は、CD28陰性であるかまたは他の内因性のシグナリング分子について陰性である、CD3⁺細胞を含む。いくつかの態様において、抗ID抗体は、低いレベルのCD28を発現する細胞、またはCD28陰性である細胞の活性化および/または増殖を刺激する。いくつかの態様において、細胞は、固体支持体に固定化された、または結合された抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントと接触させられる。いくつかの態様において、固体支持体はビーズである。いくつかの態様において、固体支持体はウエルまたはプレート（例えば、細胞培養プレート）の表面である。いくつかの例において、抗ID抗体は可溶性である。ある特定の態様において、細胞は、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントとの接触に先立って抗CD3/抗CD28コンジュゲート化試薬と接触させられない。

20

30

40

【0442】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、CARをコードするヌクレオチドによる形質導入またはトランスフェクションを受けている細胞のインプット組成物に加えら

50

れ、そのようなインプット組成物に接触させられるかまたはそのようなインプット組成物とインキュベートされる。特定の態様において、インプット細胞を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすること、抗イディオタイプ抗体により処理すること、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させることにより、CARを発現する細胞の増殖および/または濃縮がもたらされる。特定の態様において、インプット細胞を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすること、抗イディオタイプ抗体により処理すること、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させることにより、CARを発現しない細胞の増殖および/または濃縮はもたらされない。特定の態様において、インプット細胞を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすること、抗イディオタイプ抗体により処理すること、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させることにより、CARを発現する細胞の増殖および/または濃縮よりも、少なくとも50%少ない、少なくとも75%少ない、少なくとも85%少ない、少なくとも90%少ない、少なくとも95%少ない、少なくとも99%少ない、少なくとも99.9%少ない、または少なくとも99.99%少ない、CARを発現しない細胞の増殖および/または濃縮がもたらされる。いくつかの態様において、本明細書において提供される抗イディオタイプ抗体は、低い形質導入効率および/またはトランスフェクション効率を経た、ならびに/あるいは少ない量のCAR発現細胞を含有するインプット組成物のCAR発現細胞を増殖するために使用される。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、CARを発現する細胞の選択的な増殖および/または濃縮をもたらす。

10

【0443】

いくつかの態様により、抗イディオタイプ抗体は、形質導入効率またはトランスフェクション効率が低い、ならびに/あるいは、CARを発現する細胞の量が少ないインプット組成物の細胞を増殖することおよび/または濃縮することについては、該細胞をポリクローナル刺激（例えば、抗CD3抗体および/または抗CD28抗体による刺激）によって増殖することおよび/または濃縮することによる場合よりも効果的であることが意図される。特定の態様において、ポリクローナル刺激はインプット組成物におけるCAR発現細胞およびCAR非発現細胞の増殖をもたらし、したがって、いくつかの態様において、特にインプット組成物が少ない数のCAR発現細胞を有するときには、CAR発現細胞を濃縮することができないことがある。対照的に、いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体とのインキュベーションはCAR発現細胞の選択的な増殖をもたらし、したがって、ある特定の態様において、CAR発現細胞の選択的な増殖および/または濃縮をもたらすであろう。いくつかの態様において、インプット細胞を抗イディオタイプ抗体とインキュベートすること、抗イディオタイプ抗体と接触させること、および/または抗イディオタイプ抗体により処理することにより、CAR発現細胞の濃縮および/または増殖が、ポリクローナル刺激による場合よりも大きくなる。

20

30

【0444】

特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、ポリクローナル刺激によって増殖する、かつ/または濃縮されるインプット細胞よりも少ない量のウイルス粒子、低い比率の、細胞に対するウイルスベクター粒子のコピー数、および/または低い感染単位（IU）によるトランスフェクションおよび/または形質導入を受けたインプット細胞とインキュベートされ、そのようなインプット細胞に加えられ、および/またはそのようなインプット細胞と接触させられる。例えば、いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされるインプット組成物は、ポリクローナル刺激によって増殖する、かつ/または濃縮されるインプット組成物よりも、細胞あたり0.5少ない、1少ない、2少ない、3少ない、4少ない、5少ない、10少ない、15少ない、20少ない、30少ない、40少ない、50少ない、もしくは60少ないIUにより、または、少なくとも0.5少ない、1少ない、2少ない、3少ない、4少ない、5少ない、10少ない、15少ない、20少ない、30少ない、40少ない、50少ない、もしくは60少ないIUによる形質導入を受けた細胞から生じる。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされるインプット組成物は、ポリクローナル刺激によって増殖する、かつ/または濃縮されるインプット組成物よりも1 x 10⁵ IU/mL少ない、5 x 10⁵ IU/mL少ない、1 x 10⁶ IU/mL少ない、5 x 10⁶ IU/mL少ない、6 x 10⁶ IU/mL

40

50

少ない、 7×10^6 IU/mL少ない、 8×10^6 IU/mL少ない、 9×10^6 IU/mL少ない、もしくは 1×10^7 IU/mL少ない、または、少なくとも 1×10^5 IU/mL少ない、 5×10^5 IU/mL少ない、 1×10^6 IU/mL少ない、 5×10^6 IU/mL少ない、 6×10^6 IU/mL少ない、 7×10^6 IU/mL少ない、 8×10^6 IU/mL少ない、 9×10^6 IU/mL少ない、もしくは 1×10^7 IU/mL少ない力価のウイルスベクター粒子による形質導入を受けた細胞から生じる。

【0445】

特定の態様において、細胞への形質導入を大きいIU/細胞により行うことは、高い形質導入効率をもたらすことになり、しかし、これはまた、いくつかの態様においては、ベクターコピー数（VCN）が大きいトランスフェクト細胞をもたらすことがあり、このことは、安全性リスクを引き起こす可能性があり、また、規制基準を満たさないことがある。特定の態様において、細胞が形質導入を受けるIU/細胞を低下させることは、形質導入効率を低下させることになるが、VCNを低下させることになる。特定の態様において、細胞が形質導入を受けるIU/細胞を増大させることは、形質導入効率を増大させることになるが、VCNもまた増大させることになる。

【0446】

いくつかの態様において、インプット組成物は、抗イディオタイプ抗体が結合する、または抗イディオタイプ抗体によって認識されるCARをコードする1つまたは複数の核酸による形質導入またはトランスフェクションを受けている細胞の集団、あるいは、抗イディオタイプ抗体が結合する、または抗イディオタイプ抗体によって認識されるCARをコードする1つまたは複数の核酸による形質導入またはトランスフェクションを受けている細胞に由来する細胞の集団を含有する。いくつかの態様において、インプット組成物は、細胞の80%未満、75%未満、70%未満、65%未満、60%未満、55%未満、50%未満、45%未満、40%未満、35%未満、30%未満、25%未満、20%未満、15%未満、10%未満、5%未満、または1%未満が、CAR発現細胞である。特定の態様において、インプット組成物からの細胞は、セクションIIIに記載されるようなトランスフェクションまたは形質導入を受けている。ある特定の態様において、インプット細胞は、抗CD19 CAR（例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）から得られる、および/または抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）に由来するscFvを含有する抗CD19 CARなど）をコードする1つまたは複数の核酸による形質導入またはトランスフェクションを受けている細胞の集団、あるいは、そのような1つまたは複数の核酸による形質導入またはトランスフェクションを受けている細胞に由来する細胞の集団を含有する。

【0447】

特定の態様において、インプット組成物からの細胞の、抗イディオタイプ抗体とのインキュベーション、抗イディオタイプ抗体との接触、または抗イディオタイプ抗体による処理が、細胞の刺激、増殖および/または活性化のための条件のもとで行われ、そのような条件には、特定の培地、温度、酸素含有量、二酸化炭素含有量、時間、作用物質、例えば、栄養素、アミノ酸、抗生物質、イオン、および/または刺激因子、例えば、細胞を活性化するために意図されるサイトカイン、ケモカイン、抗原、結合パートナー、融合タンパク質、組換え可溶性受容体および任意の他の作用物質などの1つまたは複数を含むことができる。

【0448】

いくつかの態様において、インプット組成物の細胞は、CARをコードする遺伝子を含む1つの核酸によるトランスフェクションまたは形質導入を受けており、該細胞は、組換え受容体に結合するかまたはそれを認識する抗イディオタイプ抗体と接触させられ、そのような抗イディオタイプ抗体とインキュベートされ、またはそのような抗イディオタイプ抗体により処理される。いくつかの態様において、インプット組成物の細胞は、CARをコードする核酸による該細胞への形質導入またはトランスフェクションが行われた後で抗イディオタイプ抗体により処理され、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされるかまたは抗イディオタイプ抗体と接触させられる。特定の態様において、インプット組成物の細胞は、インプット組成物の細胞への形質導入またはトランスフェクションが行われた直後に、

10

20

30

40

50

あるいは、インプット組成物の細胞への形質導入またはトランスフェクションが行われた後において約1分以内、約5分以内、約30分以内、約1時間以内、約2時間以内、約4時間以内、約6時間以内、約8時間以内、約12時間以内、約24時間以内、約2日以内、約3日以内、約4日以内、約5日以内、約6日以内、約1週間以内、約2週間以内、約3週間以内、約4週間以内、約5週間以内、または約6週間以内に抗イディオタイプ抗体により処理され、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされるかまたは抗イディオタイプ抗体と接触させられる。

【0449】

いくつかの態様において、インプット組成物の細胞は、可溶性の抗イディオタイプ抗体により処理され、可溶性の抗イディオタイプ抗体とインキュベートされ、および/または可溶性の抗イディオタイプ抗体と接触させられ、固体支持体への結合または付着が行われない抗体との架橋および/または接触が行われない抗体と接触させられる。

10

【0450】

いくつかの態様において、方法は、キメラ受容体（例えば、抗Id抗体によって認識されるCARなど）を発現する細胞の増殖、活性化、刺激、サイトカイン放出または他の機能的結果（例えば、活性化マーカーのアップレギュレーションまたはサイトカインの放出もしくは産生など）をもたらす。いくつかの局面において、そのような増殖または他の機能的な応答もしくはリードアウト（readout）が、そのような細胞と、T細胞の増殖を刺激する作用物質および/または条件（例えば、抗CD3/CD28ビーズおよび/または架橋された抗CD3など）とのインキュベーションによって誘発されるのと類似する、またはそれ以上である程度にそのような細胞において誘発される。いくつかの局面において、方法は、抗イディオタイプ抗体を架橋することは伴わない。これらの態様のいずれかのいくつかの局面において、抗イディオタイプ作用物質は、抗イディオタイプ抗体の架橋を伴わない場合において、指定された増殖または機能的結果またはそれらの程度を誘発することができる。いくつかの局面において、本明細書における抗イディオタイプ作用物質は、抗Id抗体の架橋または二次的作用物質の使用を必要とすることなく、標的受容体を発現するT細胞または他の免疫細胞の特定の機能的結果を刺激することができる、または引き起こすことができることにおいて好都合である。いくつかの局面において、結果が、可溶性形態またはプレート結合形態の抗イディオタイプ抗体を用いて達成される。いくつかの局面において、結果が、ビーズにカップリングされた抗イディオタイプ抗体を用いて達成される。

20

30

【0451】

特定の態様において、インプット組成物の細胞は、10 pg/ml ~ 100 µg/mlの間で、1 pg/ml ~ 1 ng/mlの間で、1 ng/ml ~ 1 µg/mlの間で、100 ng/ml ~ 1.0 µg/mlの間で、1 ng/ml ~ 100 ng/mlの間で、10 ng/ml ~ 1.0 µg/mlの間で、100 ng/ml ~ 10 pg/mlの間で、250 ng/ml ~ 10 µg/mlの間で、250 pg/ml ~ 1 ng/mlの間で、1 µg/ml ~ 10 µg/mlの間で、250 ng ~ 約2.5 µg/mlの間で、または1 µg/ml ~ 10 µg/mlの間で処理され、インキュベートされ、および/または接触させられる。

【0452】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは固体支持体に固定化され、任意ではあるが、固体支持体は、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む試薬を含み、あるいはそのような試薬にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、固体支持体はプレートまたはウエルの表面である。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは可溶性試薬に固定化され、任意ではあるが、可溶性試薬は抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位である、あるいは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む。いくつかの態様において、試薬はストレプトアビジンを含む。1つの例示的態様において、抗イディオタイプ抗体は、可溶性試薬の表面に存在する、または可溶性試薬の表面に固定化されたストレプトアビジンまたはストレプトアビジン分子に結合することが

40

50

できるストレプトアビジン結合ペプチドまたは他のストレプトアビジン結合部分を含み、いくつかの場合には競合物質（例えば、ビオチンなど）の存在下で解離させることができる。例示的なそのようなシステムには、PCT特許出願公開番号WO2015/158868に記載されるシステムが含まれる。

【0453】

特定の態様において、インプット組成物の細胞は、固体表面または支持体（例えば、プレートまたはウエルなど）に付着させられる、結合させられる、被覆される、および/またはコンジュゲートされた抗イディオタイプ抗体により処理され、そのような抗イディオタイプ抗体とインキュベートされ、および/またはそのような抗イディオタイプ抗体と接触させられる。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、固体表面または支持体を所与濃度の抗イディオタイプ抗体とインキュベートすることによって固体表面または支持体に付着させられており、固体表面または支持体に結合させられており、固体表面または支持体に被覆されており、ならびに/あるいは、固体表面または支持体にコンジュゲートされている。特定の態様において、固体表面または支持体は、10 ng/ml ~ 100 µg/ml の間の、100 ng/ml ~ 1.0 µg/ml の間の、250 ng/ml ~ 10 µg/ml の間の、250 ng/ml ~ 1 µg/ml の間の、1 µg/ml ~ 10 µg/ml の間の、250 ng ~ 2.5 µg/ml の間の、または1 µg/ml ~ 10 µg/ml の間の抗イディオタイプ抗体とインキュベートされる。いくつかの態様において、固体表面または支持体は、250 ng/ml ~ 10 µg/ml の間のとインキュベートされる。ある特定の態様において、固体表面または支持体は、0.25 µg/ml、0.5 µg/ml、1.0 µg/ml、1.25 µg/ml、2 µg/ml、2.5 µg/ml、5 µg/ml もしくは 10 µg/ml、または約0.25 µg/ml、0.5 µg/ml、1.0 µg/ml、1.25 µg/ml、2 µg/ml、2.5 µg/ml、5 µg/ml もしくは 10 µg/ml の抗イディオタイプ抗体とインキュベートされる。

10

20

30

40

【0454】

いくつかの態様において、インキュベーションは、少なくとも5分間、10分間、30分間、60分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間またはおよそ少なくとも5分間、10分間、30分間、60分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間である。いくつかの態様において、インプット組成物は、組成物における総細胞に対する百分率として、60%未満もしくは約60%未満、50%未満もしくは約50%未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満のCAR発現細胞を含む。いくつかの態様において、アウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、インプット組成物におけるCAR発現細胞の数と比較して、1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍またはそれ以上を超えて増加し、ならびに/あるいは、組成物における総細胞と比較された場合のアウトプット組成物におけるCAR発現の百分率が、10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%またはそれ以上を超えて増大する。いくつかの態様において、インキュベートする前に、細胞は、CAR発現細胞についての選択または濃縮が行われぬ。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

30

40

50

【0455】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、インプット組成物の1つまたは複数の細胞を増殖する（例えば、組換え受容体を発現するインプット組成物の細胞を増殖するなどの）ために所与量の時間にわたってインプット組成物（例えば、CARを発現する細胞を含むインプット組成物）からの細胞と接触させられ、またはインキュベートされる。特定の態様において、インプット組成物からの細胞は、少なくとも約12時間、少なくとも約24時間、少なくとも約2日間、少なくとも約3日間、少なくとも約4日間、少なくとも約5日間、少なくとも約6日間、少なくとも約7日間、少なくとも約8日間、少なくとも約9日間、少なくとも約10日間、少なくとも約11日間、少なくとも約12日間、少なくとも約13日間、少なくとも約14日間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間にわたって抗イデ

イオタイプ抗体と接触させられ、抗イデオタイプ抗体とインキュベートされ、または抗イデオタイプ抗体により処理される。特定の態様において、インプット組成物からの細胞は、約1日未満、約2日未満、約3日未満、約4日未満、約5日未満、約6日未満、または約12日未満にわたって抗イデオタイプ抗体と接触させられ、抗イデオタイプ抗体とインキュベートされ、または抗イデオタイプ抗体により処理される。いくつかの態様において、インプット組成物からの細胞は、約1日間～約14日間の間で、約3日間～7日間の間で、または4日間～6日間の間で抗イデオタイプ抗体と接触させられ、抗イデオタイプ抗体とインキュベートされ、または抗イデオタイプ抗体により処理される。

【0456】

特定の態様において、インプット組成物、例えば、CARを発現する細胞を含むインプット組成物からの細胞が、組換え受容体を発現するインプット組成物の細胞を増殖するために室温よりも高い温度で抗イデオタイプ抗体とインキュベートされ、抗イデオタイプ抗体と接触させられ、または抗イデオタイプ抗体により処理される。いくつかの態様において、処理、インキュベーション、または接触させることは、約25 °Cを超える温度で、例えば、一般には32 °Cもしくは約32 °C、35 °Cもしくは約35 °C、または37 °Cもしくは約37 °Cを超える温度などで実施される。いくつかの態様において、処理、接触させること、またはインキュベーションは、37 °C ± 2 °C または約37 °C ± 2 °C の温度で、例えば、37 °C または約37 °C の温度などで実施される。

10

【0457】

いくつかの態様において、アウトプット組成物の細胞の少なくとも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95%、少なくとも97%、少なくとも99%、少なくとも99.9%、約100%、または100%が、CARを発現する。

20

【0458】

特定の態様において、抗イデオタイプ抗体とインキュベートされた、抗イデオタイプ抗体により処理された、および/または抗イデオタイプ抗体と接触させられたアウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、インプット組成物におけるCAR発現細胞の数よりも少なくとも1%大きい、少なくとも5%大きい、少なくとも10%大きい、少なくとも15%大きい、少なくとも20%大きい、少なくとも25%大きい、少なくとも30%大きい、少なくとも35%大きい、少なくとも40%大きい、少なくとも45%大きい、少なくとも50%大きい、少なくとも55%大きい、少なくとも60%大きい、少なくとも65%大きい、少なくとも70%大きい、少なくとも75%大きい、少なくとも80%大きい、少なくとも85%大きい、少なくとも95%大きい、少なくとも100%大きい、少なくとも2倍大きい、少なくとも3倍大きい、少なくとも4倍大きい、少なくとも5倍大きい、少なくとも6倍大きい、少なくとも7倍大きい、少なくとも8倍大きい、少なくとも9倍大きい、少なくとも10倍大きい、少なくとも15倍大きい、少なくとも20倍大きい、少なくとも25倍大きい、少なくとも50倍大きい、または少なくとも100倍大きい。

30

【0459】

特定の態様において、抗イデオタイプ抗体とインキュベートされた、抗イデオタイプ抗体により処理された、および/または抗イデオタイプ抗体と接触させられたアウトプット組成物におけるCAR発現細胞の百分率が、インプット組成物におけるCAR発現細胞の数よりも少なくとも1%大きい、少なくとも5%大きい、少なくとも10%大きい、少なくとも15%大きい、少なくとも20%大きい、少なくとも25%大きい、少なくとも30%大きい、少なくとも35%大きい、少なくとも40%大きい、少なくとも45%大きい、少なくとも50%大きい、少なくとも55%大きい、少なくとも60%大きい、少なくとも65%大きい、少なくとも70%大きい、少なくとも75%大きい、少なくとも80%大きい、少なくとも85%大きい、少なくとも95%大きい、少なくとも100%大きい、少なくとも2倍大きい、少なくとも3倍大きい、少なくとも4倍大きい、少なくとも5倍大きい、少なくとも6倍大きい、少なくとも7倍大きい、少なくとも8倍大きい、少なくとも9倍大きい、少なくとも10倍大きい、少なくとも15倍大きい、少なくとも20倍大きい、少なくとも25倍大きい、少なくとも50倍

40

50

大きい、または少なくとも100倍大きい。

【0460】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされた、抗イディオタイプ抗体により処理された、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させられたアウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、ポリクローナル刺激、すなわち、抗CD3抗体および抗CD28抗体とのインキュベーションを受けたアウトプット組成物の細胞の数よりも少なくとも1%大きい、少なくとも5%大きい、少なくとも10%大きい、少なくとも15%大きい、少なくとも20%大きい、少なくとも25%大きい、少なくとも30%大きい、少なくとも35%大きい、少なくとも40%大きい、少なくとも45%大きい、少なくとも50%大きい、少なくとも55%大きい、少なくとも60%大きい、少なくとも65%大きい、少なくとも70%大きい、少なくとも75%大きい、少なくとも80%大きい、少なくとも85%大きい、少なくとも95%大きい、少なくとも100%大きい、少なくとも2倍大きい、少なくとも3倍大きい、少なくとも4倍大きい、少なくとも5倍大きい、少なくとも6倍大きい、少なくとも7倍大きい、少なくとも8倍大きい、少なくとも9倍大きい、少なくとも10倍大きい、少なくとも15倍大きい、少なくとも20倍大きい、少なくとも25倍大きい、少なくとも50倍大きい、または少なくとも100倍大きい。

10

【0461】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされた、抗イディオタイプ抗体により処理された、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させられたアウトプット組成物におけるCAR発現細胞の百分率が、ポリクローナル刺激、すなわち、抗CD3抗体および抗CD28抗体とのインキュベーションを受けたアウトプット組成物の細胞の数よりも少なくとも1%大きい、少なくとも5%大きい、少なくとも10%大きい、少なくとも15%大きい、少なくとも20%大きい、少なくとも25%大きい、少なくとも30%大きい、少なくとも35%大きい、少なくとも40%大きい、少なくとも45%大きい、少なくとも50%大きい、少なくとも55%大きい、少なくとも60%大きい、少なくとも65%大きい、少なくとも70%大きい、少なくとも75%大きい、少なくとも80%大きい、少なくとも85%大きい、少なくとも95%大きい、少なくとも100%大きい、少なくとも2倍大きい、少なくとも3倍大きい、少なくとも4倍大きい、少なくとも5倍大きい、少なくとも6倍大きい、少なくとも7倍大きい、少なくとも8倍大きい、少なくとも9倍大きい、少なくとも10倍大きい、少なくとも15倍大きい、少なくとも20倍大きい、少なくとも25倍大きい、少なくとも50倍大きい、または少なくとも100倍大きい。

20

30

【0462】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体とインキュベートされた、抗イディオタイプ抗体により処理された、および/または抗イディオタイプ抗体と接触させられたアウトプット組成物におけるCAR発現細胞が、ポリクローナル刺激、例えば、抗CD3抗体および抗CD28抗体とのインキュベーションを受けたアウトプット組成物の細胞よりも少なくとも1%少ないVCN、少なくとも5%少ないVCN、少なくとも10%少ないVCN、少なくとも15%少ないVCN、少なくとも20%少ないVCN、少なくとも25%少ないVCN、少なくとも30%少ないVCN、少なくとも35%少ないVCN、少なくとも40%少ないVCN、少なくとも45%少ないVCN、少なくとも50%少ないVCN、少なくとも50%少ないVCN、少なくとも55%少ないVCN、少なくとも60%少ないVCN、少なくとも65%少ないVCN、少なくとも70%少ないVCN、少なくとも75%少ないVCN、少なくとも80%少ないVCN、少なくとも85%少ないVCN、少なくとも95%少ないVCN、または少なくとも99%少ないVCNを含有する。いくつかの態様において、アウトプットのCAR発現細胞の平均VCNが、10以下、5以下、4以下、2.5以下、1.5以下、もしくは1以下または約10以下、5以下、4以下、2.5以下、1.5以下、もしくは1以下である。

40

【0463】

いくつかの態様において、そのような方法は、工学的に改変された受容体の発現および/または有効性を、例えば、個体における治療での使用のために工学的に改変された細胞において試験するためであることを含めて、試験目的のために、例えば、抗イディオタイプ抗体によって認識される抗体またはそのフラグメントを含有する組換えポリペプチドを

50

発現する細胞療法（例えば、CAR T細胞など）を得ることに関連して、製造方法、分析方法および/または品質管理方法の一部として使用することができる。ある特定の態様において、細胞組成物は、CARを発現するT細胞を生じさせるプロセスにおいて任意の段階で試験されることがある。特定の態様において、細胞の試料が、その後の試験および/または分析のために、プロセスの任意の段階で細胞組成物から収集され、例えば、冷凍凍結および/または凍結保存によって貯蔵されることがある。試験された組成物は、例えば、細胞と、薬学的に許容されるレシピエントおよび/または凍結保存剤とを含有する薬学的組成物を含めて、薬学的組成物であることがある。

【0464】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、標的抗体（例えば、CAR）を発現する細胞をインビボで刺激する。特定の態様により、CAR-T細胞療法ががんならびに他の疾患および障害の処置において効果的であることが意図される。しかしながら、ある特定の状況において、CAR-T細胞療法に対する利用可能な取り組みは必ずしも完全に満足できるものでないことがある。例えば、いくつかの態様において、対象におけるCAR発現細胞の曝露および持続性が時間とともに減少し、または低下する。それにもかかわらず、所見は、いくつかの場合において、CAR発現細胞の増大した曝露により、CAR-T細胞療法における効力および治療アウトカムが改善され得ることを示している。したがって、いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CAR発現細胞の持続性および/または増殖を高めるために、増強するために、および/または増大させるために投与される。

10

【0465】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、対象に対して、例えば、CAR発現細胞を含有する治療用細胞組成物が以前に投与されたことがある対象などに対して投与される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体を対象に投与することにより、対象におけるCAR発現細胞の再増殖が促進され、その再増殖はいくつかの場合には、抗イディオタイプ抗体を投与する前における増殖の初期ピークレベルに達することがあるかまたは、抗イディオタイプ抗体を投与する前における増殖の初期ピークレベルを超えることがある。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CAR発現細胞のレベルが低下したとき、または検出可能でないときにCAR発現細胞の増殖および/または持続性を調節するために投与される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体によって再増殖するCAR発現細胞は、例えば、抗イディオタイプ抗体が投与される前の有効性と比較した場合などにおいて、該CAR発現細胞が投与される対象における増大した有効性を示す。

20

30

【0466】

ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体の投与により、対象におけるCAR発現細胞の持続性が増大し、または高まる。いくつかの態様において、CAR発現細胞が、抗イディオタイプ抗体を投与した7日後、14日後、21日後、28日後、35日後、42日後、49日後、56日後、63日後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヶ月後、5ヶ月後、6ヶ月後もしくは6ヶ月超後に、または、少なくとも7日後、14日後、21日後、28日後、35日後、42日後、49日後、56日後、63日後、2ヶ月後、3ヶ月後、4ヶ月後、5ヶ月後、6ヶ月後もしくは6ヶ月超後に対象において検出可能である。いくつかの局面において、細胞への対象の増大した曝露は、細胞の増殖および/または増大した増殖を含む。

40

【0467】

いくつかの態様において、CAR発現細胞が、抗イディオタイプ抗体が投与された後の対象において増殖する。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体を投与することにより、CARをコードする核酸が1マイクログラムのDNAあたり少なくとも100コピー、500コピー、1000コピー、1500コピー、2000コピー、5000コピー、10,000コピーまたは15,000コピーである、あるいは、CAR発現細胞が1マイクロリットルあたり少なくとも0.1個、0.2個、0.3個、0.4個、0.5個、0.6個、0.7個、0.8個または0.9個である、対象の血液もしくは血清または他の体液あるいは器官もしくは組織における最大濃度がもたらされる。いくつかの態様において、CARを発現する細胞が、対象の血液における総PBMCの少なくとも10%、20%、30%、40%、50%または60%として、ならびに/あるいは、抗イディオタイプ抗体を

50

投与した後の少なくとも1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、7週間、8週間、9週間、10週間、11週間、12週間、24週間、36週間、48週間もしくは52週間にわたって、または、抗イディオタイプ抗体を投与した後の1年間、2年間、3年間、4年間、5年間もしくはそれ以上にわたってそのようなレベルで検出される。いくつかの局面において、抗イディオタイプ抗体を投与することにより、組換え受容体（例えば、CAR）をコードする核酸のコピー数が1マイクログラムのDNAあたり少なくとも2倍、少なくとも4倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍である増大が、例えば、対象の血清、血漿、血液または組織（例えば、腫瘍試料）においてもたらされる。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体を投与することにより、対象における循環するCAR発現細胞の数が、少なくとも2倍、少なくとも4倍、少なくとも10倍、または少なくとも20倍増大する。

10

【0468】

いくつかの局面において、1マイクロリットルあたり少なくとも約 1×10^2 個、少なくとも約 1×10^3 個、少なくとも約 1×10^4 個、少なくとも約 1×10^5 個、または少なくとも約 1×10^6 個、もしくは少なくとも約 5×10^6 個、もしくは少なくとも約 1×10^7 個、もしくは少なくとも約 5×10^7 個、もしくは少なくとも約 1×10^8 個のCAR発現細胞、ならびに/あるいは、1マイクロリットルあたり少なくとも10個、25個、50個、100個、200個、300個、400個、または500個、または1000個のCAR発現細胞、例えば、1マイクロリットルあたり少なくとも10個が、抗イディオタイプ抗体の投与後、対象またはその体液、血漿、血清、組織もしくは区画において、例えば、血液（例えば、末梢血）または疾患部位などにおいて検出可能であるかあるいは存在する。いくつかの態様において、そのような数または濃度の細胞が、抗イディオタイプ抗体を投与した後の少なくとも約20日間、少なくとも約40日間もしくは少なくとも約60日間、または少なくとも約3ヶ月間、4ヶ月間、5ヶ月間、6ヶ月間、7ヶ月間、8ヶ月間、9ヶ月間、10ヶ月間、11ヶ月間もしくは12ヶ月間、または少なくとも2年間もしくは3年間にわたって対象において検出可能である。

20

【0469】

様々な送達システムが公知であり、抗イディオタイプ抗体を投与するために使用することができる。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、リポソーム、微粒子およびマイクロカプセルに封入すること、ならびに/あるいは、リポソーム、微粒子およびマイクロカプセルに付着させることによって投与される。抗イディオタイプ抗体を投与する方法には、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外および経口の経路が含まれるが、これらに限定されない。抗イディオタイプ抗体は、任意の好都合な経路によって、例えば、注入によって、ポアラス注射によって、上皮裏層または粘膜裏層（例えば、口腔、直腸および腸の粘膜など）を介した吸収によって投与されることがあり、また、他の生物学的活性剤と一緒に投与されることがある。投与は全身的または局所的であることが可能である。肺投与もまた用いることができ、例えば、吸入器またはネブライザーと、エアロゾル化剤を用いた製剤との使用によって用いることができる。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体は、小胞において、特にリポソーム（Langer, 1990, Science 249:1527-1533）において、例えば、カチオン性リポソーム（WO 98140052）において送達される。

30

【0470】

いくつかの態様において、細胞組成物を製造する方法であって、CARをコードする核酸分子を細胞に導入し、それにより、インプット組成物を生じさせること、および、インプット組成物をCARの抗原結合ドメインについて特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、細胞組成物を製造することを含む、方法が提供される。いくつかの態様において、CARは、CD19に特異的に結合する標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む。いくつかの態様において、標的抗体は抗体SJ25C1もしくは抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは、本明細書において記載される抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントである。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントはCARのア

40

50

ゴニストである。いくつかの態様において、導入することは、ウイルス形質導入、転移、エレクトロポレーションまたは化学的トランスフェクションによって核酸分子を細胞に導入することを含む。いくつかの態様において、導入することは、核酸分子を含むレトロウイルスベクターによる形質導入によって、核酸分子を含むレンチウイルスベクターによる形質導入によって、核酸分子を含むトランスポゾンによる転移によって、または、核酸分子を含むベクターのエレクトロポレーションもしくはトランスフェクションによって核酸分子を細胞に導入することを含む。

【0471】

いくつかの態様において、方法は、CARをコードする核酸分子を導入する前に細胞を刺激または活性化する工程をさらに含む。いくつかの態様において、細胞を活性化することは、細胞をCD3のアゴニストと、そして、任意でCD28のアゴニストと接触させることを含む。いくつかの態様において、細胞を活性化することは、細胞を、アゴニスト的な抗CD3抗体および抗CD28抗体を含む試薬と接触させることを含む。いくつかのそのような態様において、抗CD3/抗CD28と接触させることの少なくとも一部分の期間中、および/または、CARをコードする核酸を導入することの少なくとも一部分の期間中において、方法は、細胞を抗イディオタイプ抗体または抗原結合とインキュベートすること、または接触させることを含む。いくつかの態様において、インキュベーションは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントがCARに結合し、それにより、シグナルをインプット組成物における1つまたは複数の細胞において誘導する、または調節する条件のもとで実施される。いくつかの態様において、細胞はT細胞を含む。

10

20

【0472】

いくつかのそのような態様において、T細胞は、CD4+ および/またはCD8+ のT細胞を含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは固体支持体に固定化され、任意ではあるが、固体支持体は、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む試薬を含み、あるいはそのような試薬にコンジュゲートされる。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは可溶性試薬に固定化され、任意ではあるが、可溶性試薬は抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位である、あるいは、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む。いくつかの態様において、試薬はストレプトアビジンを含む。1つの例示的態様において、抗イディオタイプ抗体は、可溶性試薬の表面に存在する、または可溶性試薬の表面に固定化されたストレプトアビジンまたはストレプトアビジン分子に結合することができるストレプトアビジン結合ペプチドまたは他のストレプトアビジン結合部分を含み、いくつかの場合には競合物質（例えば、ビオチンなど）の存在下で解離させることができる。例示的なそのようなシステムには、PCT特許出願公開番号WO2015/158868に記載されるシステムが含まれる。いくつかの態様において、インキュベーションは、少なくとも5分間、10分間、30分間、60分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間またはおよそ少なくとも5分間、10分間、30分間、60分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間である。いくつかの態様において、インプット組成物は、組成物における総細胞に対する百分率として、60%未満もしくは約60%未満、50%未満もしくは約50%未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満もしくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満のCAR発現細胞を含む。いくつかの態様において、アウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、インプット組成物におけるCAR発現細胞の数と比較して、1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍またはそれ以上を超えて増加し、ならびに/あるいは、組成物における総細胞と比較された場合のアウトプット組成物におけるCAR発現の百分率が、10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%またはそれ以上を超えて増大する。いくつかの態様において、インキュベートする前に、細胞は、CAR発現細胞についての選択または濃縮が行われない。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメント

30

40

50

は、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

【0473】

いくつかの態様において、標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの活性をモニターする方法であって、CARが形質導入されたT細胞を含む試料を、CARを標的とする、またはCARと結合するアゴニスト的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートする工程、ならびに/あるいは、CAR T細胞の活性化、刺激および/または増殖の有無または量を決定し、それにより、CAR-T細胞の活性をモニターする工程を含む方法が提供される。いくつかの態様において、そのような方法は、CARを検証するために使用することができ、そのような場合、方法は、c) CARをCAR-T細胞の活性化、刺激および/または増殖のレベルに基づいて検証することを含むことができる。

10

【0474】

いくつかの態様において、CAR T細胞の活性化、刺激および/または増殖が、CAR T細胞における生存性、増殖、および/またはT細胞活性化マーカーの発現を抗イディオタイプ抗体との所与の期間のインキュベーションの後で決定することによって評価される。いくつかの態様において、CAR T細胞の生存性が、CARが形質導入された生存T細胞の総T細胞に対する割合を抗イディオタイプ抗体とのインキュベーションの後で計算することによって評価される。いくつかの態様において、CAR T細胞の増殖が、抗イディオタイプ抗体とのインキュベーションの前にCAR T細胞を染色するために使用される色素の色素希釈によって評価される。いくつかの態様において、T細胞活性化マーカーの発現が、T細胞活性化マーカーを認識する抗体について染色することを伴うフローサイトメトリーによって評価される。いくつかの態様において、T細胞活性化マーカーが、CD25、CD26、CD27、CD28、CD30、CD69、CD71、CD134、CD137およびCD154からなる群より選択される。いくつかの態様において、インキュベーション期間が約1日～約10日である（例えば、およそ1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日または10日のいずれか（これらの値の間における任意の範囲を含む）など）。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

20

30

【0475】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCAR T細胞の調製物をモニターする方法であって、(a) 調製物の一部分を、CARを標的とする、またはCARと結合するアゴニスト的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートする工程、ならびに(b)、CAR T細胞の活性化、刺激および/または増殖の有無または量を決定する工程を含む方法が提供される。いくつかの態様において、CAR-T細胞の調製物は、試験することが望ましい特定の条件のもとで作製または製造される細胞であり得る。いくつかの態様において、モニターすることが、例えば、細胞を対象への投与の前に検証するなどのために、放出アッセイに関連して行われる。いくつかの局面において、方法はさらに、(c) 調製物をCAR T細胞の活性化レベルに基づいて検証することを含む。いくつかの態様において、調製物におけるCAR T細胞の活性化が、CAR T細胞における生存性、増殖、および/またはT細胞活性化マーカーの発現を抗イディオタイプ抗体との所与の期間のインキュベーションの後で決定することによって評価される。いくつかの態様において、CAR T細胞の生存性が、CARが形質導入された生存T細胞の総T細胞に対する割合を抗イディオタイプ抗体とのインキュベーションの後で計算することによって評価される。いくつかの態様において、CAR T細胞の増殖が、抗イディオタイプ抗体とのインキュベーションの前にCAR T細胞を染

40

50

色するために使用される色素の色素希釈によって評価される。いくつかの態様において、T細胞活性化マーカーの発現が、T細胞活性化マーカーを認識する抗体について染色することを伴うフローサイトメトリーによって評価される。いくつかの態様において、T細胞活性化マーカーが、CD25、CD26、CD27、CD28、CD30、CD69、CD71、CD134、CD137およびCD154からなる群より選択される。いくつかの態様において、インキュベーション期間が約1日～約10日である（例えば、およそ1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日または10日のいずれか（これらの値の間における任意の範囲を含む）など）。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

10

【0476】

C. 細胞不活性化/枯渇化における使用

いくつかの態様において、提供された抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントはアンタゴニストであり、ならびに/あるいは、標的抗体（例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）など）またはその抗原結合性フラグメントを発現する細胞を阻害する、除去する、および/または枯渇させる（例えば、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）を介して殺傷する）特異的な活性を呈する。また、提供された抗イディオタイプ抗体、および該抗イディオタイプ抗体の1つまたは複数を含む分子（例えば、コンジュゲートおよび複合体など）の使用を伴う方法であって、CAR T細胞の不活性化、除去および/または枯渇化のための方法であって、CARが標的抗体（例えば、抗CD19抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63）など）またはその抗原結合性フラグメントを含む、方法が提供される。

20

【0477】

方法はいくつかの態様において、CARが形質導入されたT細胞を含む組成物および/または試料を抗イディオタイプ抗体により処理すること、抗イディオタイプ抗体と接触させること、および/または抗イディオタイプ抗体とインキュベートすることを含む。ある特定の態様において、方法はさらに、CAR T細胞が不活性化されるかどうかを、例えば、CAR T細胞における生存性、増殖、および/または活性化マーカーの発現を評価することなどによって検出することを含む。いくつかの態様において、方法は、CAR T細胞の投与を含む治療法に関連している。方法はいくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体を個体に投与することを含む。1つの態様において、抗イディオタイプ抗体またはコンジュゲートが、CAR T細胞を個体において除去するために、および/または枯渇させる（例えば、殺傷など）ために使用される。いくつかの態様において、標的抗体は抗CD19抗体である。いくつかの態様において、標的抗体は抗体SJ25C1もしくは抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、抗体SJ25C1もしくは抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントに由来する。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

30

40

【0478】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、対象におけるCAR発現細胞の数を枯渇させるために、減少させるために、および/または低下させるために投与される。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体の投与により、CAR発現細胞（例えば、循環するCAR-T細胞）の量が、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、少なくとも99.9%、100%または約100%枯渇させられ、減少させられ、および/または低下させられる。ある特定の態様において、枯渇化、減少および/または低下は、抗イディオタイプ抗体が投与される前の対象におけるCAR発現細胞の量に関連して、である。特定の態様におい

50

て、枯渇化、減少および/または低下は、抗イディオタイプ抗体が投与されない対象におけるCAR発現細胞の量に関連して、である。いくつかの態様において、CAR発現細胞が、抗イディオタイプ抗体が投与された後の対象において検出可能でない。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体はヒト抗体またはヒト化抗体である。

【0479】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCAR T細胞を不活性化する方法であって、CAR T細胞を含む試料を、CARを標的とするアンタゴニスト的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、試料におけるCAR T細胞を不活性化することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、試料におけるCAR T細胞の活性化を減弱するために十分な量で使用される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、試料におけるCAR T細胞を実質的に不活性化するために十分な量で使用される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体とのインキュベーションにより、試料におけるCAR T細胞の除去および/または枯渇化がもたらされる。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、試料におけるCAR T細胞の排除をもたらすために十分な量で使用される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

10

20

【0480】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CARおよび/またはCAR発現細胞の活性を対象において枯渇させるために、減少させるために、および/または低下させるために投与される。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体の投与により、CARおよび/またはCAR発現細胞の刺激および/または活性化が、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、少なくとも99.9%、100%または約100%減少させられ、および/または低下させられる。ある特定の態様において、減少および/または低下は、抗イディオタイプ抗体が投与される前の対象におけるCARおよび/またはCAR発現細胞の刺激および/または活性に関連して、である。特定の態様において、減少および/または低下は、抗イディオタイプ抗体が投与されない対象におけるCARおよび/またはCAR発現細胞の刺激および/または活性に関連して、である。いくつかの態様において、活性および/または刺激は、CAR受容体またはCAR T細胞活性の1つまたは複数の局面を指しており、本明細書において提供される任意の手段を含めて、任意の適切な公知手段によって評価されてもよい。いくつかの態様において、CARおよび/またはCAR発現細胞の活性および/または刺激は、抗イディオタイプ抗体が投与された後の対象において検出可能でない。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体はヒト抗体またはヒト化抗体である。

30

【0481】

いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CARおよび/またはCAR発現細胞の抗原結合および/または抗原結合能を妨げるために、減少させるために、および/または低下させるために投与される。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体の投与により、CARおよび/またはCAR発現細胞の抗原結合が、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%、少なくとも99.9%、100%または約100%減少させられ、および/または低下させられる。ある特定の態様において、減少および/または低下は、抗イディオタイプ抗体が投与される前の対象におけるCARおよび/またはCAR発現細胞の抗原結合および/または抗原結合能に関連して、である。特定の態様において、減少および/または低下は、抗イディオタイプ抗体が投与されない対象におけるCARおよび/またはCAR発現細胞の抗原結合および/または抗原結合能に関連して、である。特定の態様において、抗イディオタイプ抗体はヒト抗体またはヒト化抗体である。

40

50

【0482】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含むCAR T細胞を除去および/または枯渇（例えば、殺傷など）させる方法であって、CAR T細胞を含む試料を、CARを標的とする抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、試料におけるCAR T細胞を除去および/または枯渇させることを含む方法が提供される。いくつかの態様において、除去すること、および/または枯渇させることは、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）によるものである。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、試料におけるCAR T細胞の実質的にすべての除去および/または枯渇化をもたらすために十分な量で使用される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

10

【0483】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含む、個体におけるCAR T細胞療法を調節する方法であって、CARを標的とするアンタゴニスト的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを個体に投与し、それにより、CAR T細胞を不活性化することを含む方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CAR T細胞の活性化を個体において減弱するために十分な量で投与される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CAR T細胞を個体において実質的に不活性化するために十分な量で投与される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体の投与により、CAR T細胞の除去および/または枯渇化が個体においてもたらされる。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体は、CAR T細胞の排除を個体においてもたらすために十分な量で投与される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

20

30

【0484】

いくつかの態様において、CARが標的抗体（例えば、抗体SJ25C1または抗体FMC63など）またはその抗原結合性フラグメントを含む、個体におけるCAR T細胞療法を調節する方法であって、CARを標的とする抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートを個体に投与することを含み、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートが細胞毒性作用物質を含む、方法が提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートは、CAR T細胞療法を個体において減弱するために十分な量で投与される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートは、CAR T細胞療法を個体において実質的に中止するために十分な量で投与される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体イムノコンジュゲートは、CAR T細胞の排除を個体においてもたらすために十分な量で投与される。いくつかの態様において、細胞毒性作用物質は、化学療法剤または化学療法薬物、成長阻害剤、毒素（例えば、細菌、真菌、植物または動物を起源とするタンパク質毒素、酵素活性毒素、またはそれらのフラグメント）、および放射性同位体からなる群より選択される。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:24に示される軽鎖可変領域を含む。いくつかの態様において、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントは、SEQ ID NO:30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO:31に示される軽鎖可変領域を含む。

40

【0485】

D. 結合アッセイまたは結合法における使用

50

本明細書には、キメラ抗原受容体（CAR）、例えば、抗原結合ドメインを含有するCARの細胞外ドメインまたはその一部分などに結合する試料中の分子の有無を評価するための方法が提供される。いくつかの態様において、方法は、キメラ抗原受容体（CAR）を含む施された細胞療法に対する、対象における体液性応答または抗体応答の有無を評価するために使用することができる。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む。いくつかの態様において、キメラ抗原受容体は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む。いくつかの態様において、CARの細胞外ドメインに対して特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント（例えば、本明細書において記載されるいずれかなど）は、方法における陽性対照として使用することができる。

10

【0486】

特定の態様において、方法は、試料を、10 ng/ml ~ 100 µg/mlの間、100 ng/ml ~ 1.0 µg/mlの間、250 ng/ml ~ 10 µg/mlの間、250 ng/ml ~ 1 µg/mlの間、1 µg/ml ~ 10 µg/mlの間、250 ng ~ 2.5 µg/mlの間、または1 µg/ml ~ 10 µg/mlの間の抗イディオタイプ抗体の濃度で、CARの細胞外ドメインに対して特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントと接触させることを含む。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体の濃度は250 ng/ml ~ 10 µg/mlの間である。ある特定の態様において、抗イディオタイプ抗体の濃度は、約0.1 µg/ml、0.25 µg/ml、0.5 µg/ml、1.0 µg/ml、1.25 µg/ml、2 µg/ml、2.5 µg/ml、または5 µg/mlの抗イディオタイプ抗体である。

20

【0487】

いくつかの局面において、養子細胞療法は、投与される細胞および/または構築物に対する対象における免疫応答の発達に関連することがある。例えば、いくつかの場合において、キメラ受容体への曝露が、投与された細胞によって発現される組換え受容体に対する宿主の免疫応答によって制限されることがあり、そのため、細胞が時期尚早に排除されることがある。免疫低下していることが多いB細胞悪性腫瘍を有するある特定の対象においてさえ、養子細胞療法において投与される細胞によって発現される受容体の領域について特異的である免疫応答が検出され得ることが観察される。例えば、CARにより遺伝子改変された細胞が投与される対象（例えば、ヒト対象）は、特異的な応答を、非ヒト配列を含有してもよい領域（例えば、マウスscFv）を含めて、キメラ領域の免疫原性領域に対して、または、キメラ受容体の2つのドメインもしくは一部分（例えば、CARの膜貫通ドメインおよび共刺激ドメイン）の間における接合部を含有する領域に対して発達させる可能性がある。

30

【0488】

いくつかの態様において、結合試薬を、キメラ抗原受容体により工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させること、またはインキュベートすることを含み、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有するCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含むタンパク質である、方法が提供される。いくつかの態様において、方法はさらに、結合試薬と、試料に存在する分子（例えば、結合性分子、例えば、抗体など）との間で複合体が形成されるかどうかを検出すること、および/または、そのような結合の有無またはレベルを検出することを含む。ある特定の態様において、接触させること、またはインキュベートすることは、対象からの試料に存在する分子に対する結合試薬の結合を許容する条件のもとで行われる。ある特定の局面において、方法はさらに、CAR（例えば、記載されるようないずれかなど）について特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを含有する陽性対照試料に対して行うことができる。いくつかの態様において、結合試薬に対する分子の結合の有無またはレベルを決定することは、その結合または検出を、結合試薬に対する陽性対照試料の結合または検出と比較することを含むことができる。

40

【0489】

いくつかの態様において、細胞療法は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む抗CD19 CARを発現する遺伝子改変された細胞であるかまたはそのよ

50

うな遺伝子改変細胞を含み、ただし、結合試薬は、SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む。いくつかの態様において、陽性対照は、サブセクションI.Aに記載されるような抗イディオタイプ抗体を含む。

【0490】

いくつかの態様において、細胞療法は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む抗CD19 CARを発現する遺伝子改変された細胞であるかまたはそのような遺伝子改変細胞を含み、ただし、結合試薬は、FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む。いくつかの態様において、陽性対照は、サブセクションI.Bに記載されるような抗イディオタイプ抗体を含む。

【0491】

いくつかの態様において、方法は、結合試薬と、試料に存在する分子（例えば、結合性分子、例えば、抗体など）との間で複合体が形成されるかどうかを検出すること、および/または、そのような結合の有無またはレベルを検出することを含む。ある特定の態様において、接触させること、またはインキュベートすることは、対象からの試料に存在する分子に対する結合試薬の結合を許容する条件のもとで行われる。いくつかの局面において、複合体が、免疫アッセイ、任意ではあるが、サンドイッチアッセイまたは架橋アッセイによって検出される。例えば、免疫アッセイは、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、化学発光性、電気化学発光性、表面プラズモン共鳴（SPR）に基づくバイオセンサー（例えば、BIAcore）、フローサイトメトリー、またはウエスタンブロットである。いくつかの態様において、免疫アッセイはメソスケールディスクアレイであるかまたはメソスケールディスクアレイを含む。

【0492】

いくつかの局面において、免疫アッセイはサンドイッチアッセイまたは架橋アッセイである。サンドイッチアッセイまたは架橋アッセイにおいて、結合試薬は第1の結合試薬であり、分子または分子を含む複合体の有無を検出することは、第1の結合試薬と、分子との間で形成された複合体を第2の結合試薬と接触させることを含み、この場合、第2の結合試薬は、第1の結合試薬と同じ分子または類似する分子に結合することができる作用物質である。いくつかの態様において、第2の結合試薬はCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む。いくつかの局面において、第1の結合剤および第2の結合剤のCARの細胞外ドメインまたはその一部分は同じであるかまたは実質的に同じである。

【0493】

いくつかの態様において、結合試薬（例えば、第1および/または第2の結合試薬など）は検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる。結合試薬（例えば、第1および/または第2の結合試薬など）は、直接的または間接的に、検出可能な標識に連結される。いくつかの態様において、検出可能な標識は、蛍光標識、化学発光標識、エレクトロルミネセンス標識、比色法標識、生物発光標識もしくは放射性標識であるかまたはそのような標識を含む。いくつかの態様において、結合試薬（例えば、第1および/または第2の結合試薬など）は、直接的または間接的にSULFO-Tagに連結される。いくつかの態様において、第1および第2の結合試薬の少なくとも一方は検出可能に標識されているかまたは検出可能なシグナルを生じさせることができ、かつ、第1および第2の結合試薬の他方は固体支持体に付着されているかまたは固定化される。いくつかの局面において、第1の結合試薬は固体支持体に付着されているかまたは固定化され、あるいは、固体支持体に付着させることができるかまたは固定化することができる。結合試薬を固体支持体に直接的または間接的に付着させるための様々な方法が当技術分野において周知である。付着方法は一般には、固体支持体への結合試薬の非特異的な吸着、または、固体支持体表面の化学反応性基（例えば、活性化されたカルボキシル基、ヒドロキシル基またはアルデヒド基など）への、典型的にはフリーのアミン基を介した結合試薬の共有結合性の付着を含む。付着方法にはまた、結合試薬を固体支持体に間接的に付着させることを、例えば、固体支持体を捕捉試薬（例えば、ストレプトアビジンなど）により被覆し、アフィニティー標識された結合試薬（例えば、ビオチン標識された試薬など）を固体支持体に加え、

10

20

30

40

50

その結果、アフィニティー標識（例えば、ビオチン）と、捕捉試薬（例えば、ストレプトアビジン）との間における相互作用により、結合試薬が固体支持体に連結されるようにすることなどによって行うことが含まれる。いくつかの態様において、第1の結合試薬が、直接的または間接的にビオチンに連結される。いくつかの例において、第1の可溶性試薬が、ストレプトアビジンにより被覆された固体支持体に結合させられる。いくつかの態様において、第2の結合試薬が、直接的または間接的に、検出可能に標識に、任意ではあるが、SULFO-Tagに連結される。

【0494】

特定の態様において、試料は、固体表面または支持体（例えば、プレートまたはウエルなど）に付着させられる、結合させられる、被覆される、および/またはコンジュゲートされた第1の結合試薬と接触させられる。ある特定の態様において、第1の結合試薬は、結合試薬を固体支持体に間接的に付着させることを、例えば、固体支持体を捕捉試薬（例えば、ストレプトアビジンなど）により被覆し、アフィニティー標識された結合試薬（例えば、ビオチン標識された試薬など）を固体支持体に加え、その結果、アフィニティー標識（例えば、ビオチン）と、捕捉試薬（例えば、ストレプトアビジン）との間における相互作用により、結合試薬が固体支持体に連結されるようにすることにより行うことなどによって、固体表面または支持体に付着させられており、結合させられており、被覆されており、および/またはコンジュゲートされている。いくつかの態様において、試料は、直接的または間接的にSULFO-Tagに連結される第2の結合試薬と接触させられる。特定の態様において、第1および/または第2の結合試薬は、10 ng/ml ~ 100 µg/mlの間、100 ng/ml ~ 1.0 µg/mlの間、250 ng/ml ~ 10 µg/mlの間、250 ng/ml ~ 1 µg/mlの間、1 µg/ml ~ 10 µg/mlの間、250 ng ~ 2.5 µg/mlの間、または1 µg/ml ~ 10 µg/mlの間の抗イディオタイプ抗体の濃度で使用される。いくつかの態様において、固体表面または支持体は、250 ng/ml ~ 10 µg/mlの間のものでインキュベートされる。ある特定の態様において、固体表面または支持体は、0.25 µg/ml、0.5 µg/ml、1.0 µg/ml、1.25 µg/ml、2 µg/ml、2.5 µg/ml、5 µg/mlもしくは10 µg/ml、または約0.25 µg/ml、0.5 µg/ml、1.0 µg/ml、1.25 µg/ml、2 µg/ml、2.5 µg/ml、5 µg/mlもしくは10 µg/mlとインキュベートされる。

【0495】

いくつかの態様において、キメラ抗原受容体により工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料は、対象からの任意の体液試料であるかまたはそのような体液試料を含む。いくつかの局面において、試料は、全血、血清もしくは血漿であるかまたは、全血、血清もしくは血漿を含む。いくつかの態様において、試料は、細胞療法または細胞の投与を開始した後において1時間 ~ 1年の範囲内で、または約1時間 ~ 1年の範囲内で、例えば、6時間、12時間、24時間、1週間、2週間、3週間、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ヶ月もしくは12ヶ月の範囲内で、または約6時間、12時間、24時間、1週間、2週間、3週間、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ヶ月もしくは12ヶ月の範囲内で対象から得られる。いくつかの局面において、試料は、細胞療法の投与を開始した1ヶ月から6ヶ月または約1ヶ月から6ヶ月まで、例えば、2ヶ月から6ヶ月まで、または2ヶ月から4ヶ月までなど、例えば、細胞療法の投与を開始した後において約2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月後もしくは6ヶ月、またはおよそ2ヶ月、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月後もしくは6ヶ月で対象から得られる。

【0496】

VI. 製造物品

また、提供された抗イディオタイプ抗体および/または組成物を含有する製造物品またはキットが提供される。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む製造物品が提供される。いくつかの場合において、抗イディオタイプ抗体は、抗CD19抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、または抗CD19抗体もしくはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体と結合する。いくつかの例において、抗CD19抗体はSJ25C1またはFMC63である。いくつかの局面において、本明細書にお

いて記載される抗イディオタイプ抗体を含有するコンジュゲートが製造物品またはキットにおいて提供される。

【0497】

いくつかの態様において、キットまたは製造物品は、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントと、抗イディオタイプ抗体が結合する（例えば、特異的に結合する）キメラ抗原受容体（CAR）の細胞外ドメインまたは細胞外ドメインの一部を含有する結合試薬とを含む。いくつかの態様において、CARの細胞外ドメインは、抗CD19抗体（例えば、FMC63またはSJ25C1）またはその抗原結合性フラグメントであるかあるいは、CARの細胞外ドメインは、抗CD19抗体（例えば、FMC63またはSJ25C1）またはその抗原結合性フラグメントを含む。

10

【0498】

いくつかの態様において、結合試薬は第1の結合試薬であり、かつ、キットまたは製造物品はさらに第2の結合試薬を含む。そのような例において、第2の結合試薬は、第1の結合試薬と同じ分子または類似する分子に結合することができる作用物質である。いくつかの態様において、第2の結合試薬はCARの細胞外ドメインまたはその一部を含む。いくつかの局面において、第1の結合剤および第2の結合剤のCARの細胞外ドメインまたはその一部は同じであるかまたは実質的に同じである。

【0499】

いくつかの態様において、結合試薬、すなわち、第1および第2の結合試薬の少なくとも一方が、標識（例えば、検出可能な標識）に、例えば、本明細書において記載される標識などに付着させられる。いくつかの態様において、第1および第2の結合試薬の少なくとも一方が固体支持体（例えば、本明細書において記載される固体支持体など）に付着させられ、または固体支持体（例えば、本明細書において記載される固体支持体など）に付着させることができる。いくつかの局面において、第1および第2の結合試薬の一方は検出可能に標識されるかまたは検出可能なシグナルを生じさせることができ、かつ、第1および第2の結合試薬の他方は固体支持体に付着しているかまたは固定化されている。いくつかの態様において、結合試薬は、イムノアッセイ（例えば、サンドイッチアッセイまたは架橋アッセイ）に関連しての使用について本明細書において他のどこかで記載されるようなキットとして、またはシステムの一部として提供される。いくつかの態様において、第1の結合試薬が、固体支持体に、任意ではあるが、ストレプトアビジン被覆された固体支持体に結合させられる。いくつかの態様において、第2の可溶性タンパク質が、検出可能な標識（例えば、SULFO-Tagなど）に直接的または間接的に連結される。

20

30

【0500】

いくつかの態様において、キットは、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントをさらに含む。いくつかの局面において、抗イディオタイプ抗体は、抗CD19抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、または抗CD19抗体もしくはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体と結合する。いくつかの例において、抗CD19抗体はSJ25C1またはFMC63である。いくつかの態様において、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントは陽性対照試料として提供される。いくつかの例において、陽性対照試料は、CD19抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外ドメインの領域を含有する第1および第2の可溶性タンパク質または試薬との複合体を形成する。

40

【0501】

いくつかの態様において、キットまたは製造物品は、提供された方法のいずれかを行うための試薬または構成成分を含む。いくつかの態様において、製造物品またはキットは、二次抗体、アフィニティー標識、捕捉試薬、緩衝剤、希釈剤、シグナル検出剤、フィルター、ニードル、シリンジ、毛細管、および使用説明書を伴う添付文書を含めて、商業的観点、治療的観点および使用者の観点から望ましい1つまたは複数の試薬または他の材料を含む。

【0502】

50

いくつかの態様において、キットは、抗体もしくはその組成物、または1つもしくは複数のさらなる試薬（例えば、結合試薬）または構成成分を包装するための包装材料を含む製造物品として提供することができる。例えば、キットは、キットの構成要素を隔てるために、または整理するために適する容器、ボトル、チューブ、バイアルおよび任意の包装材料を含有することができる。

【0503】

いくつかの態様において、キットは1つまたは複数の容器を含む。適切な容器には、例えば、ボトル、バイアル（例えば、デュアルチャンバーバイアル）、シリンジ（例えば、シングルチャンバーシリンジまたはデュアルチャンバーシリンジなど）および試験管が挙げられる。前記1つまたは複数の容器は様々な材料（例えば、ガラスまたはプラスチックなど）から形成されてもよい。前記1つまたは複数の容器は、方法における使用のための抗体または他の試薬（例えば、結合試薬）を含む組成物を保持する。本明細書における製造物品またはキットは抗体または試薬を別個の容器において、または同じ容器において含んでもよい。いくつかの態様において、組成物を保持する前記1つまたは複数の容器は、単回使用バイアル、または、再構成された組成物の繰り返し使用がいくつかの場合には考慮され得る多回使用バイアルであってもよい。

10

【0504】

いくつかの態様において、製造物品またはキットは、適切な希釈剤を含む第2の容器をさらに含むことがある。製造物品またはキットはさらに、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、ニードル、シリンジ、治療薬、および/または使用説明書を伴う添付文書を含めて、

20

【0505】

製造物品は、容器と、容器表面の、または容器に付随するラベルまたは添付文書とを含むことがある。適切な容器には、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグなどが含まれる。容器は様々な材料（例えば、ガラスまたはプラスチックなど）から形成されてもよい。容器はいくつかの態様において、本明細書において提供されるような抗イディオタイプ抗体を含有する組成物を単独で保持し、あるいは、疾患または状態を処置するために、防止するために、および/または診断するために効果的な別の組成物と組み合わせられて保持する。いくつかの態様において、容器は無菌アクセスポートを有する。例示的な容器には、注射用ニードルによって突き刺すことができる栓を有するものを含めて、

30

【0506】

いくつかの態様において、製造物品またはキットは固体支持体を含み、固体支持体には、記載されるような結合試薬を直接的または間接的に付着させるための固体支持体において使用される、当技術分野において周知であるガラス（例えば、調節細孔ガラス（controlled pore glass））、多糖（例えば、アガロース）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコール、ニトロセルロース、セルロース、ナイロン、シリコンおよび他の材料から形成される固体支持体が含まれる。本明細書において提供される製造物品またはキットに含まれる固体支持体には、本明細書において記載されるビーズ、カラム（例えば、クロマトグラフィークラムなど）、アレイ（例えば、マイクロアレイ、ナノアレイなど）、アッセイプレート、カートリッジ、スティック、フィルター、ストリップまたは他の任意の固体支持体が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0507】

いくつかの態様において、製造物品またはキットは、適切な希釈剤を含む第2の容器をさらに含むことがある。製造物品またはキットはさらに、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、ニードル、シリンジ、治療薬、および/または使用説明書を伴う添付文書を含めて、

50

商業的観点、治療的観点および使用者の観点から望ましい他の材料を含むことがある。

【0508】

いくつかの態様において、キットは任意ではあるが、説明書を含むことができる。説明書は典型的には、抗体、そして、任意ではあるが、キットに含まれる他の構成成分（例えば、結合試薬）、ならびに、前記抗体および/または他の構成成分を、記載されるような使用もしくは方法のいずれかにおいて、または記載されるような使用もしくは方法のいずれかに関連して使用するための方法を説明する具体的な表現を含む。いくつかの態様において、説明書は、容器表面にある、または容器に付随するラベルまたは添付文書として提供される。いくつかの態様において、説明書は、組成物の再構成および/または使用のための指示を示していてもよい。

10

【0509】

いくつかの態様において、説明書が、抗イディオタイプ抗体を、例えば、記載されるような方法もしくはアッセイのいずれかに従って、または記載されるような方法もしくはアッセイのいずれかに関連して使用して、SJ25C1抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、またはSJ25C1抗体もしくはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するために提供される。いくつかの例において、説明書が、抗イディオタイプ抗体を使用して、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択するために、または濃縮するために提供される。いくつかの例において、説明書が、抗イディオタイプ抗体を使用して、SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するために提供される。

20

【0510】

いくつかの態様において、説明書が、抗イディオタイプ抗体を、例えば、記載されるような方法もしくはアッセイのいずれかに従って、または記載されるような方法もしくはアッセイのいずれかに関連して使用して、FMC63抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、またはFMC63抗体もしくはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するために提供される。いくつかの局面において、説明書が、抗イディオタイプ抗体を使用して、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択するために、または濃縮するために提供される。いくつかの態様において、説明書が、抗イディオタイプ抗体を使用して、FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するために提供される。

30

【0511】

いくつかの態様において、説明書が、細胞療法のキメラ抗原受容体に結合する分子（例えば、抗体など、例えば、キメラ抗原受容体（CAR）に対する体液性免疫応答によって産生される抗体）を検出するために提供されるキットの使用のために提供される。いくつかの態様において、説明書が、結合試薬を、抗CD19抗体（例えば、FMC63またはSJ25C1）またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させるために提供され、この場合、結合試薬は、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたは該細胞外ドメインの一部を含む。いくつかの態様において、説明書はまた、結合試薬と、第1および第2の結合試薬の両方に結合する試料由来の分子とを含む複合体の有無を検出することを規定しており、任意ではあるが、該分子は抗体であるかまたは抗体を含む。いくつかの局面において、CD19抗体はSJ25C1またはFMC63である。いくつかのさらなる態様において、結合試薬および陽性対照試料を使用するための説明書が提供される。

40

【0512】

VII. 定義

別段の定義がある場合を除き、本明細書において使用する専門用語、表記ならびに他の技術用語および科学用語または用語法は、特許請求の範囲の内容が関係する技術分野の当

50

業者に一般に理解されているものと同じ意味を有するものとする。場合により、一般に理解されている意味を持つ用語を、明快さのために、かつ/またはいつでも参照できるように、本明細書において定義するが、本明細書にそのような定義を含めることは、必ずしも、当技術分野において一般に理解されているものとの実質的な相違を表すと解釈すべきでない。

【0513】

本明細書にいう「対応する形態」の抗体とは、2つの抗体の性質または活性を比較する場合に、その性質が同じ形態の抗体を使って比較されることを意味する。例えば、ある抗体が、対応する形態の第1抗体と比較して高い活性を有するという場合、それは、その抗体のscFvなどの特定の形態が、第1抗体のscFv形と比較して高い活性を有することを意味する。

10

【0514】

本明細書において、ヌクレオチドまたはアミノ酸位置が、開示した（例えば配列表に示す）配列中のヌクレオチドまたはアミノ酸位置「に対応する」とは、GAPアルゴリズムなどの標準的のアライメントアルゴリズムを使って一致が最大になるように開示の配列とアライメントした時に同定されるヌクレオチドまたはアミノ酸位置を指す。配列をアライメントすることにより、当業者は、例えば保存されたアミノ酸残基および同一のアミノ酸残基をガイドとして使って、対応する残基を同定することができる。一般に、対応する位置を同定するには、最も高水準のマッチが得られるようにアミノ酸の配列をアライメントする（例えばComputational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., およびGriffin, H.G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; およびSequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991; Carrillo et al. (1988) SIAM J Applied Math 48:1073を参照されたい）。

20

【0515】

「エフェクター機能」とは、抗体のFc領域に帰することができる生物学的活性を指し、これは抗体アイソタイプによって異なる。抗体エフェクター機能の例には、C1q結合および補体依存性細胞傷害（CDC）；Fc受容体結合；抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）；貪食；細胞表面受容体（例えばB細胞受容体）のダウンレギュレーション；およびB細胞活性化がある。

30

【0516】

「Fc領域」という用語は、本明細書では、定常領域の少なくとも一部分を含有する免疫グロブリン重鎖のC末端領域を規定するために使用される。この用語は、ネイティブ配列Fc領域および変異体Fc領域を包含する。一態様において、ヒトIgG重鎖Fc領域は、Cys226またはPro230から重鎖のカルボキシル末端までにわたる。ただし、Fc領域のC末端リジン（Lys447）は存在しても存在しなくてもよい。本明細書において別段の指定がある場合を除き、Fc領域または定常領域におけるアミノ酸残基のナンバリングは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載のEUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）による。

40

【0517】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」および「全抗体」という用語は、本明細書では、ネイティブ抗体構造に実質的に類似する構造を有する抗体または本明細書に規定するFc領域を含有する重鎖を有する抗体を指すために、可換的に使用される。

【0518】

「単離された」抗体は、その自然環境の構成成分から分離されたものである。いくつかの態様において、抗体は、例えば電気泳動（例えばSDS-PAGE、等電点電気泳動（IEF）、

50

キャピラリー電気泳動)またはクロマトグラフィー(例えばイオン交換または逆相HPLC)による決定で、95%超または99%超の純度まで精製される。抗体純度の評価方法の概要については、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照されたい。

【0519】

「単離された」核酸とは、その自然環境の構成成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸には、当該核酸分子を通常含有する細胞中に含まれている核酸分子であるが、その核酸分子が染色体外に存在するか、その自然の染色体位置とは異なる染色体位置にあるものが包含される。

【0520】

「抗イディオタイプ抗体をコードする単離された核酸」は、抗体重鎖および抗体軽鎖(またはそのフラグメント)をコードする1つまたは複数の核酸分子を指し、単一のベクターまたは別々のベクター中に存在するそのような核酸分子、および宿主細胞中の1つまたは複数の場所に存在するそのような核酸分子を包含する。

【0521】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」および「宿主細胞培養」という用語は可換的に使用され、外来核酸が導入されている細胞を指し、そのような細胞の子孫を包含する。宿主細胞は「形質転換体」および「形質転換細胞」を包含し、これには初代形質転換細胞とそこから派生する子孫が、継代数とは関係なく含まれる。子孫は、核酸の内容が親細胞と完全には同一ではなくて、突然変異を含有してもよい。元の形質転換細胞においてスクリーニングまたは選択の対象となったものと同じ機能または生物学的活性を有する突然変異形子孫は、ここに包含される。

【0522】

本明細書にいう「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」および「同一性パーセント」は、あるアミノ酸配列(リファレンスポリペプチド配列)に関して使用する場合、配列をアライメントし、保存的置換はいずれも配列同一性の一部とはみなさないで、最大の配列同一性パーセントが達成されるように、必要であればギャップを導入した後に、リファレンスポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列(例えば対象抗体またはフラグメント)中のアミノ酸残基のパーセンテージと定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定するためのアライメントは、当技術分野における技量の範囲内にあるさまざまな方法で、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMegalign(DNASTAR)ソフトウェアなどの公に利用できるコンピュータソフトウェアを使って達成することができる。当業者は、配列をアライメントするための適当なパラメータ(比較される配列の全長にわたって最大のアライメントを達成するために必要なあらゆるアルゴリズムを含む)を、決定することができる。

【0523】

アミノ酸置換には、ポリペプチド中のあるアミノ酸の、別のアミノ酸による置き換えを含めることができる。置換は、保存的アミノ酸置換であってもよく、または非保存的アミノ酸置換であってもよい。結合分子、例えば関心対象の抗体中にアミノ酸置換を導入し、その産物を、保持された/改良された抗原結合性、減少した免疫原性、または改良されたADCCもしくはCDCなどの所望の活性について、スクリーニングすることができる。

【0524】

アミノ酸は、一般に、次に挙げる共通の側鎖特性に従ってグループ分けすることができる:

- (1) 疎水性: ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile;
- (2) 中性親水性: Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;
- (3) 酸性: Asp、Glu;
- (4) 塩基性: His、Lys、Arg;
- (5) 鎖の配向に影響を及ぼす残渣: Gly、Pro;
- (6) 芳香族: Trp、Tyr、Phe。

10

20

30

40

50

【0525】

いくつかの態様では、保存的置換はこれらのクラスのうちの一つを同じクラスの別のメンバーと交換することになる。いくつかの態様では、非保存的アミノ酸置換では、これらのクラスのうちの一つを別のクラスと交換することになる。

【0526】

本明細書において使用する「ベクター」という用語は、それが連結された別の核酸を増殖させる能力を有する核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクターも、それが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターも包含する。一定のベクターは、それらが機能的に連結された核酸の発現を指示する能力を有する。そのようなベクターを本明細書では「発現ベクター」という。

10

【0527】

「添付文書」という用語は、治療製品の市販パッケージに通例含まれていて、適応症、使用法、用量、投与、併用療法、禁忌症に関する情報および/または前述の治療製品の使用に関する警告を含む説明書を指すために使用される。

【0528】

本明細書において使用する単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、文脈上そうでないことが明確である場合を除き、複数の指示対象を包含する。例えば「1つの(a)」または「1つの(an)」は、「少なくとも1つの」または「1つまたは複数の」を意味する。本明細書に記載する局面および変形は、局面および変形「からなる」ならびに/または局面および変形「から本質的になる」を包含すると理解される。

20

【0529】

この開示の全体を通して、特許請求の範囲に記載する内容のさまざまな局面は、範囲形式で提示される。範囲形式での記載は単に便宜上および簡潔化のためであり、特許請求の範囲に記載する内容に対する柔軟性のない限定として解釈すべきでないことを理解すべきである。したがって範囲の記載は、可能な部分範囲およびその範囲内の個々の数値をすべて具体的に開示しているとみなすべきである。例えば、値の範囲が与えられた場合、その範囲の上限および下限と、他の任意の明示された値またはその明示された範囲内の中間値との間にある中間値は、特許請求の範囲の内容に包含される。これら小範囲の上端および下端は独立してその小範囲に含まれてよく、それらもまた、特許請求の範囲の内容に包含される。ただし、明示されたその範囲内において特に除外された端点はいずれも除く。明示された範囲が端点の一方または両方を含む場合、それら含まれた端点の一方または両方を除外した範囲も特許請求の範囲の内容に含まれる。これは範囲の幅とは無関係に適用される。

30

【0530】

本明細書において使用する「約」という用語は、当業者にとっては明白な、各値に関する通常の誤差範囲を指す。本明細書において「約」がつく値またはパラメータは、その値またはパラメータそのものに向けられた態様を包含する（そしてそのような態様を記載している）。例えば「約X」という記載は「X」の記載を包含する。

【0531】

「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために可換的に使用され、最小の長さに限定されることはない。ポリペプチド、例えばここに提供する抗体および抗体鎖、ならびに他のペプチド、例えばリンカーおよびCD19結合ペプチドは、アミノ酸残基（天然アミノ酸残基および/または非天然アミノ酸残基を含む）を含みうる。これらの用語は、ポリペプチドの発現後修飾、例えばグリコシル化、シアリル化、アセチル化、リン酸化なども包含する。いくつかの局面において、ポリペプチドは、タンパク質が所望の活性を維持している限り、ネイティブ配列または天然配列に対する修飾を含有しうる。これらの修飾は、部位特異的突然変異導入によるもののように、意図的である場合もあるし、タンパク質を生産する宿主の突然変異によるもの、またはPCR増幅のエラーによるものなど、偶発的である場合もある。

40

【0532】

50

本明細書にいう組成物とは、2種類以上の製品、物質、または化合物（細胞を含む）の任意の混合物を指す。これは溶液、懸濁液、液体、粉末、ペースト、水性、非水性、またはそれらの任意の組み合わせでありうる。

【0533】

本明細書において、ある細胞または細胞の集団がある特定マーカーに関して「陽性」であるとは、その細胞上またはその細胞中における特定マーカー（典型的には表面マーカー）の検出可能な存在を指す。表面マーカーに関する場合、この用語は、フローサイトメトリーによって（例えばマーカーに特異的に結合する抗体で染色し、該抗体を検出することによって）検出される表面発現の存在を指し、この場合、前記染色は、アイソタイプ対照を他の点では同一な条件下で使って同じ手順を実行することで検出される染色を実質的に上回るレベル、および/またはそのマーカーに関して陽性であることがわかっている細胞でのレベルと類似するレベルで、および/またはそのマーカーに関して陰性であることがわかっている細胞でのレベルより実質的に高いレベルで、フローサイトメトリーによって検出されうる。

10

【0534】

本明細書において、ある細胞または細胞の集団が特定マーカーに関して「陰性」であるとは、その細胞上またはその細胞中における特定マーカー（典型的には表面マーカー）の検出可能な実質的存在がないことを指す。表面マーカーに関する場合、この用語は、フローサイトメトリーによって（例えばマーカーに特異的に結合する抗体で染色し、該抗体を検出することによって）検出される表面発現の非存在を指し、この場合、前記染色は、アイソタイプ対照を他の点では同一な条件下で使って同じ手順を実行することで検出される染色を実質的に上回るレベル、および/またはそのマーカーに関して陽性であることがわかっている細胞でのレベルより実質的に低いレベル、および/またはそのマーカーに関して陰性であることがわかっている細胞でのレベルと比較して実質的に類似するレベルでは、フローサイトメトリーによって検出されない。

20

【0535】

VIII. 例示的態様

本明細書において提供する態様には、次に挙げるものがある。

1.

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

30

2.

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む軽鎖可変（VL）領域、および/または

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む重鎖可変（VH）領域

を含む、態様1の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

3.

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含むVL領域、および/または

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含むVH領域

を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

40

4.

VH領域が、

SEQ ID NO: 11もしくは84に示されるアミノ酸配列を含む重鎖相補性決定領域3（CDR-H3）、または、SEQ ID NO: 1に示されるVH配列に含まれるCDR-H3を含むCDR-H3

を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、

SEQ ID NO: 14もしくは87に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖相補性決定領域3（CDR-

50

L3)、または、SEQ ID NO: 5に示されるVL配列に含まれるCDR-L3を含むCDR-L3を含む、

態様2または3の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

5.

VH領域が

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列およびCDR-H2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1およびCDR-H2を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列およびCDR-L2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1およびCDR-L2を含む、

態様2~4のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

6.

VH領域が、SEQ ID NO: 9、78、79または80に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82または83に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 11または84に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 12または85に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 13または86に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 14または87に示されるCDR-L3を含む、

態様2~5のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

7.

SEQ ID NO: 1に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 5に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

8.

SEQ ID NO: 9、78、79または80のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO: 10、81、82または83のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO: 11または84として示されるアミノ酸配列を含むCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 12または85のアミノ酸配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO: 13または86のアミノ酸配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO: 14または87のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

9.

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含む、態様1~8のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

10.

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 1のアミノ酸配列を含み、かつ、抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 5のアミノ酸配列を含む、態様9の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

11.

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、態様1~10のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

12.

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

10

20

30

40

50

13.

SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含む軽鎖可変(VL)領域、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有する重鎖可変(VH)領域を含む、態様12の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

14.

SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有するVL領域、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に対する少なくとも90%の配列同一性を含有するVH領域を含む、抗体またはその抗原結合性フラグメント。

10

15.

VH領域が、

以下において、 X_3 はTまたはSであり、 X_5 はTまたはSであり、 X_6 はDまたはRであり、 X_8 はYまたはWであり、かつ X_{10} はKまたはNであるアミノ酸配列
GYX₃FX₅X₆YX₈MX₁₀ (SEQ ID NO: 108)

を含む、重鎖相補性決定領域1(CDR-H1)と；

以下において、 X_4 はDまたはMであり、 X_6 はNまたはHであり、 X_8 はNまたはSであり、 X_9 はNまたはDであり、 X_{10} はGまたはSであり、 X_{11} はGまたはEであり、 X_{13} はDまたはRであり、 X_{14} はYまたはLであり、 X_{17} はNまたはKであり、かつ X_{20} はGまたはDであるアミノ酸配列
WIGX₄IX₆PX₈X₉X₁₀X₁₁TX₁₃X₁₄NQX₁₇FKX₂₀ (SEQ ID NO: 109)

20

を含む、重鎖相補性決定領域2(CDR-H2)と；

以下において、 X_2 はRまたはSであり、 X_3 はEまたはIであり、 X_4 はGまたはYであり、 X_5 はNまたはYであり、 X_6 はNまたはEであり、 X_7 はYまたはヌルであり、 X_8 はGまたはヌルであり、 X_9 はSまたはヌルであり、 X_{10} はRまたはヌルであり、 X_{11} はDまたはヌルであり、 X_{12} はAまたはヌルであり、 X_{13} はMまたはヌルであり、 X_{14} はDまたはEであり、かつ X_{15} はYまたはAであるアミノ酸配列

AX₂X₃X₄X₅X₆X₇X₈X₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄X₁₅ (SEQ ID NO: 110)

を含む、重鎖相補性決定領域3(CDR-H3)と

30

を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、

以下において、 X_1 はSまたはRであり、 X_3 はSまたはRであり、 X_4 はSまたはGであり、 X_5 はGまたはNであり、 X_6 はVまたはIであり、 X_7 はIまたはHであり、 X_8 はNまたはヌルであり、 X_{10} はMまたはLであり、かつ X_{11} はYまたはAであるアミノ酸配列
X₁AX₃X₄X₅X₆X₇X₈YX₁₀X₁₁WY (SEQ ID NO: 111)

を含む、軽鎖相補性決定領域3(CDR-L1)と；

以下において、 X_1 はPまたはLであり、 X_2 はWまたはLであり、 X_3 はIまたはVであり、 X_5 はLまたはNであり、 X_6 はTまたはAであり、 X_7 はSまたはKであり、 X_8 はNまたはTであり、かつ X_{11} はSまたはDであるアミノ酸配列
X₁X₂X₃YX₅X₆X₇X₈LAX₁₁ (SEQ ID NO: 112)

40

を含む、軽鎖相補性決定領域2(CDR-L2)と；

以下において、 X_2 はQまたはHであり、 X_3 はWまたはFであり、 X_4 はSまたはWであり、 X_5 はSまたはWであり、 X_6 はNまたはTであり、かつ X_8 はLまたはYであるアミノ酸配列
QX₂X₃X₄X₅X₆PX₈T (SEQ ID NO: 113)

を含む、軽鎖相補性決定領域3(CDR-L3)と

を含む、

態様13~14のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

16.

相補性決定領域3(CDR-H3)が、SEQ ID NO: 94もしくは104に示されるアミノ酸配列を

50

含む、または、SEQ ID NO: 36もしくは58に示されるVH配列に含まれるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

軽鎖相補性決定領域3 (CDR-L3) が、SEQ ID NO: 97もしくは107に示されるアミノ酸配列を含む、または、SEQ ID NO: 40もしくは62に示されるVL配列に含まれるCDR-L3を含む、
態様15の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

17.

VH領域が、SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列およびCDR-H2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1およびCDR-H2を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列およびCDR-L2配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1およびCDR-L2を含む、
態様13~16のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

18.

VH領域が、SEQ ID NO: 88、89、90、98、99または100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 91、92、93、101、102または103に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 94または104に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 95または105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 96または106に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 97または107に示されるCDR-L3を含む、
態様13~17のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

19.

SEQ ID NO: 36または58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 40または62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

20.

SEQ ID NO: 88、89、90、98、99または100のアミノ酸配列を含むCDR-H1、SEQ ID NO: 91、92、93、101、102または103のアミノ酸配列を含むCDR-H2、およびSEQ ID NO: 94または104として示されるアミノ酸配列を含むCDR-H3、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 95または105のアミノ酸配列を含むCDR-L1、SEQ ID NO: 96または106のアミノ酸配列を含むCDR-L2、およびSEQ ID NO: 97または107のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

21.

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 36または58のアミノ酸配列を含む、ならびに/あるいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 40または62のアミノ酸配列を含む、
態様13~21のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

22.

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 36または58のアミノ酸配列を含み、かつ、抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 40または62のアミノ酸配列を含む、
態様21の抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

23.

VH領域が、SEQ ID NO: 44、88、89または90に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 45、91、92または93に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 46または94に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 47または95に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 48または96に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 49または97に示されるCDR-L3を含む、
態様13~22のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

10

20

30

40

50

24.

VH領域が、SEQ ID NO: 65、98、99または100に示されるCDR-H1、SEQ ID NO: 66、101、102または103に示されるCDR-H2、およびSEQ ID NO: 67または104に示されるCDR-H3を含む、ならびに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 68または105に示されるCDR-L1、SEQ ID NO: 69または106に示されるCDR-L2、およびSEQ ID NO: 100または107に示されるCDR-L3を含む、
態様13~23のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

25.

VH領域が、SEQ ID NO: 36に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む、なら
びに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 40に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、
態様13~24のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

26.

VH領域が、SEQ ID NO: 58に示されるVH領域アミノ酸配列に含まれるCDR-H1配列、CDR-H2配列およびCDR-H3配列のアミノ酸配列を含むCDR-H1、CDR-H2およびCDR-H3を含む、なら
びに/あるいは

VL領域が、SEQ ID NO: 62に示されるVL領域アミノ酸配列に含まれるCDR-L1配列、CDR-L2配列およびCDR-L3配列のアミノ酸配列をそれぞれ含むCDR-L1、CDR-L2およびCDR-L3を含む、
態様13~24のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

27.

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を含む、ならびに/あ
るいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を含む、
態様13~25のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

28.

抗体またはフラグメントのVH領域がSEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を含む、ならびに/あ
るいは

抗体またはフラグメントのVL領域がSEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を含む、
態様13~24および26のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

29.

標的抗体または抗原結合性フラグメントが一本鎖フラグメントである、態様1~28のい
ずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

30.

前記フラグメントが、柔軟なリンカーによってつながれた抗体可変領域を含む、態様29
の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

31.

前記フラグメントがscFvを含む、態様29または態様30の抗イディオタイプ抗体または抗
原結合性フラグメント。

32.

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、

SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖
可変領域を含む、ならびに/あるいは

SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含むscFvである、
態様1~11および29~31のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメン
ト。

33.

10

20

30

40

50

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、
SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含む、ならびに/あるいは
SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含むscFvである、
態様12~31のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

34.

態様1~33のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合フラグメントが特異的に結合するエピトープと同じであるかまたは重複する、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントのエピトープ
に特異的に結合する、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

10

35.

標的抗体または抗原結合性フラグメントがキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在し、または、キメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれ、ならびに/あるいは

抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントが、

CARの細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に含まれる、または、CARの細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる標的抗体または抗原結合性フラグメント
と特異的に結合する、

態様1~34のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

36.

標的抗体または抗原結合性フラグメントがscFvであり、かつ、抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントがCARのscFvにおけるエピトープに特異的に結合する、態様35の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

20

37.

キメラ抗原受容体の細胞外部分に含まれる抗体SJ25C1由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)に特異的に結合し、任意で、抗体SJ25C1由来のscFvが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含む、態様1~11、29~32および35のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

38.

キメラ抗原受容体の細胞外部分に含まれる抗体FMC63由来の一本鎖可変フラグメント(scFv)に特異的に結合し、任意で、抗体FMC63由来のscFvが、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含む、ならびに/あるいは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含む、態様12~31および33~35のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

30

39.

標的抗体または抗原結合性フラグメントの相補性決定領域(CDR)のすべてまたは一部分の内部にあるエピトープ、あるいは標的抗体または抗原結合性フラグメントの相補性決定領域(CDR)のすべてまたは一部分を含むエピトープに特異的に結合する、態様1~38のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

40

40.

CARが、スパーサーを介して抗原結合ドメインに連結された膜貫通ドメインをさらに含む、態様35~39のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

41.

スパーサーが、

任意でヒトCD28である、CD28からの細胞外部分を含む、態様40の抗イディオタイプ抗体。

42.

CD28からの細胞外部分が、SEQ ID NO: 27に示されるアミノ酸の配列を含む、態様41の抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

50

43.

膜貫通ドメインが、
任意でヒトCD28である、CD28の膜貫通部分
を含む、態様40～42のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

44.

CARのスペーサードメインにおけるエピトープに結合しない、態様40～43のいずれかの
抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

45.

SEQ ID NO: 27に示されるアミノ酸の配列を任意で含むCD28の細胞外部分を任意で含む
、任意でヒトCD28であるCD28またはその一部分
に結合しない、または特異的に結合しない、態様1～44のいずれかの抗イディオタイプ抗
体または抗原結合性フラグメント。

10

46.

任意でヒトIgG1 FcドメインであるFcドメインにおけるエピトープ
に結合しない、態様1～45のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメ
ント。

47.

標的抗体または抗原結合性フラグメントがヒトCD19に特異的に結合する、態様1～46の
いずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

48.

別のCARの細胞外の抗原結合ドメインに任意で含まれる他の抗CD19抗体と交差反応しな
い、態様1～47のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

20

49.

別のCARと交差反応しない、態様1～48のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗
原結合性フラグメント。

50.

標的抗体または抗原結合性フラグメントを含むCARのアゴニスト抗体である、態様1～49
のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

51.

標的抗体または抗原結合性フラグメントを含むCARのアンタゴニストである、態様1～50
のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

30

52.

ヒト化されている、態様1～51のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合
性フラグメント。

53.

組換え体である、態様1～52のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性
フラグメント。

54.

モノクローナルである、態様1～53のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原
結合性フラグメント。

40

55.

抗原結合性フラグメントである、態様1～54のいずれかの抗イディオタイプ抗体または
その抗原結合性フラグメント。

56.

抗原結合性フラグメントが、フラグメント抗原結合 (Fab) フラグメント、 $F(ab')_2$ フ
ラグメント、Fab' フラグメント、Fvフラグメント、一本鎖可変フラグメント (scFv) また
は単ドメイン抗体の中から選択される、態様55の抗イディオタイプ抗体または抗原結合
性フラグメント。

57.

免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分を含む、態様1～54のいずれかの抗イディ

50

オタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

58.

免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部分が、CH2ドメインおよびCH3ドメインを含むFc領域または該Fcの一部を含む、態様57の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

59.

定常領域がヒトIgGに由来する、態様57または態様58の抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

60.

インタクトな抗体または全長抗体である、態様57~59のいずれかの抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメント。

61.

態様1~60のいずれかの抗イデオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントと、異種分子または異種部分とを含む、コンジュゲート。

62.

異種分子または異種部分が標識である、態様61のコンジュゲート。

63.

標識が、蛍光色素、蛍光タンパク質、放射性同位体、発色団、金属イオン、金粒子、銀粒子、磁性粒子、ポリペプチド、酵素、ストレプトアビジン、ビオチン、発光化合物またはオリゴヌクレオチドから選択される、態様62のコンジュゲート。

64.

異種分子または異種部分が、タンパク質、ペプチド、核酸または小分子であり、任意で、これらは毒素またはStrep-Tagであるかあるいは毒素またはStrep-Tagを含む、態様62のコンジュゲート。

65.

態様1~60のいずれかの抗イデオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントの重鎖および/または軽鎖をコードする、核酸分子。

66.

(i) SEQ ID NO: 15に示される重鎖可変領域、(ii) SEQ ID NO: 15に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (iii) (i) もしくは (ii) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 19に示される軽鎖可変領域、(v) SEQ ID NO: 19に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (vi) (iv) もしくは (v) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、態様65の核酸分子。

67.

(i) SEQ ID NO: 17に示される重鎖、(ii) SEQ ID NO: 17に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (iii) (i) もしくは (ii) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 21に示される軽鎖、(v) SEQ ID NO: 21に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (vi) (iv) もしくは (v) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、態様65または態様66の核酸分子。

68.

(i) SEQ ID NO: 50もしくは71に示される重鎖可変領域、(ii) SEQ ID NO: 50もしくは71に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレ

10

20

30

40

50

オチドの配列、または (iii) (i) もしくは (ii) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 54 もしくは 75 に示される軽鎖可変領域、(v) SEQ ID NO: 54 もしくは 75 に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (vi) (iv) もしくは (v) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、態様65の核酸分子。

69.

(i) SEQ ID NO: 52 もしくは 73 に示される重鎖、(ii) SEQ ID NO: 52 もしくは 73 に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (iii) (i) もしくは (ii) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列、ならびに/あるいは

(iv) SEQ ID NO: 56 もしくは 76 に示される軽鎖、(v) SEQ ID NO: 56 もしくは 76 に示されるヌクレオチドの配列に対する少なくとも90%の配列同一性を有するヌクレオチドの配列、または (vi) (iv) もしくは (v) の縮重配列

をコードするヌクレオチドの配列

を含む、態様65または態様68の核酸分子。

70.

重鎖および/または軽鎖をコードするヌクレオチド配列がシグナル配列を含む、態様65~69のいずれかの核酸分子。

71.

態様65~70のいずれかの核酸分子を含む、ベクター。

72.

態様1~41のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいは態様65~70のいずれかの核酸分子を含む、細胞。

73.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを製造する方法であって、態様65~70のいずれかの核酸分子または態様71のベクターによってコードされる重鎖および/または軽鎖を適切な宿主細胞において発現させる工程、および

該抗体を回収する工程、または該抗体を単離する工程

を含む、方法。

74.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントを製造する方法であって、態様72の細胞を、重鎖および/または軽鎖が発現される条件のもとで培養する工程、および

該抗体を回収する工程、または該抗体を単離する工程

を含む、方法。

75.

態様73または態様74の方法によって製造される、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント。

76.

態様1~60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、態様61~64のいずれかのコンジュゲート、あるいは態様72の細胞を含む、組成物。

77.

薬学的に許容される賦形剤をさらに含む、態様76の組成物。

78.

態様1~60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメント、態様61~64のいずれかのコンジュゲート、態様65~70のいずれかの核酸のうちの1つまたは複数、および、任意で、使用説明書

を含む、キット。

10

20

30

40

50

79.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいはコンジュゲートを固定化するための試薬または支持体をさらに含み、前記試薬または支持体が、ビーズ、カラム、マイクロウエル、スティック、フィルター、ストリップ、または可溶性のオリゴマー型ストレプトアビジンムテイン試薬である、態様78のキット。

80.

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出する方法であって、

(a) 抗体SJ25C1または抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1~11および29~32、34~37および39~60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61~64のいずれかのコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出する工程を含む、方法。

81.

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを検出する方法であって、

(a) 抗体FMC63または抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様12~31、33~36および38~60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61~64のいずれかのコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 標的抗体または抗原結合性フラグメントに結合した抗イディオタイプ抗体を検出する工程を含む、方法。

82.

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、細胞に結合されているかまたは細胞の表面に発現されており、かつ、(b)において検出する工程が、抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む、態様81の方法。

83.

細胞がその表面に、標的抗体または標的抗原結合性フラグメントを含むCARを発現する、態様82の方法。

84.

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを検出する方法であって、

(a) 抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞と、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1~11および29~32、34~37および39~60のいずれかのものあるいは態様61~64のいずれかのコンジュゲートを接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出する工程を含む、方法。

85.

標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARを検出する方法であって、

(a) 抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様12~31、33~36および38~60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61~64のいずれかのコンジュゲートと接触させること、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を検出することを含む、方法。

86.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが検出のために直接的または

10

20

30

40

50

間接的に標識される、態様80～85のいずれかの方法。

87.

細胞を細胞集団から選択する方法であって、以下を含む、方法：

(a) 標的抗体を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞集団、または標的抗体に結合した細胞を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートと接触させる工程であって、標的抗体が抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである、工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択する工程。

10

88.

細胞を細胞集団から選択する方法であって、以下を含む、方法：

(a) 標的抗体を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞集団、または標的抗体に結合した細胞を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートと接触させる工程であって、標的抗体が抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである、工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体と結合した細胞を選択する工程。

89.

20

抗イディオタイプ抗体と結合した細胞が、アフィニティーに基づく分離によって選択される、態様87または態様88の方法。

90.

アフィニティーに基づく分離が、イムノアフィニティーに基づく分離である、態様89の方法。

91.

アフィニティーに基づく分離が、フローサイトメトリーによる分離である、態様89または態様90の方法。

92.

アフィニティーに基づく分離が、磁気活性化細胞選別 (magnetic-activated cell sorting) による分離である、態様89または態様90の方法。

30

93.

アフィニティーに基づく分離が、アフィニティークロマトグラフィーを含む、態様89または態様90の方法。

94.

抗イディオタイプ抗体が、支持体または固定相に可逆的に結合させられる、または固定化される、態様92または態様93の方法。

95.

細胞を刺激する方法であって、

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞を含むインプット組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートとインキュベートし、それにより、刺激された細胞を含むアウトプット組成物を生じさせる工程を含む、方法。

40

96.

細胞を刺激する方法であって、

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体 (CAR) を発現する細胞を含むインプット組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラ

50

グメントである標的抗体に特異的に結合する態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートとインキュベートし、それにより、刺激された細胞を含むアウトプット組成物を生じさせる工程を含む、方法。

97.

細胞組成物を製造する方法であって、

(a) キメラ抗原受容体 (CAR) をコードする核酸分子を細胞に導入し、それにより、インプット組成物を生じさせる工程、および

(b) 該インプット組成物を、CARの抗原受容体について特異的な抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントとインキュベートし、それにより、細胞組成物を製造する工程を含む、方法。

98.

CARが、CD19に特異的に結合する標的抗体を含む、態様97の方法。

99.

標的抗体が、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである、態様98の方法。

100.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントである、態様97～99のいずれかの方法。

101.

標的抗体が、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである、態様98の方法。

102.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗体FMC63である標的抗体に特異的に結合する、態様97～98および101のいずれかの方法。

103.

前記(a)において導入することが、ウイルス形質導入、転移、エレクトロポレーションまたは化学的トランスフェクションによって核酸分子を細胞に導入することを含む、態様97～102のいずれかの方法。

104.

前記(a)において導入することが、核酸分子を含むウイルスベクターによる形質導入によって該核酸分子を細胞に導入することを含み、任意で、ウイルスベクターがレトロウイルスベクターまたはレンチウイルスベクターである、態様97～103のいずれかの方法。

105.

前記(a)において導入することが、核酸分子を含むトランスポゾンによる転移によって該核酸分子を細胞に導入することを含む、態様97～103のいずれかの方法。

106.

前記(a)において導入することが、核酸分子を含むベクターのエレクトロポレーションまたはトランスフェクションによって該核酸分子を細胞に導入することを含む、態様97～103のいずれかの方法。

107.

細胞を工程(a)の前に活性化する工程をさらに含む、態様97～106のいずれかの方法。

108.

細胞を活性化する工程が、細胞を、

CD3のアゴニスト、任意でCD28のアゴニスト

と接触させることを含む、態様107の方法。

10

20

30

40

50

109.

細胞を活性化する工程が、細胞を、
アゴニスト的な抗CD3抗体および抗CD28抗体を含む試薬
と接触させることを含む、態様108の方法。

110.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントがCARに結合し、それにより、
シグナルをインプット組成物における1つまたは複数の細胞において誘導するまたは調
節する条件のもとでインキュベーションが実施される、態様95～109のいずれかの方法。

111.

細胞がT細胞を含む、態様95～110のいずれかの方法。

10

112.

T細胞がCD4+および/またはCD8+のT細胞を含む、態様111の方法。

113.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが固体支持体に固定化され、
任意で、固体支持体は、抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆
的に結合することができる複数の結合部位を含む試薬を含む、あるいはそのような試薬に
コンジュゲートされる、態様95～112のいずれかの方法。

114.

抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントが可溶性試薬に固定化され、
任意で、可溶性試薬は抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントに可逆
的に結合することができる複数の結合部位である、あるいは、抗イディオタイプ抗体または
その抗原結合性フラグメントに可逆的に結合することができる複数の結合部位を含む、態
様95～112のいずれかの方法。

20

115.

試薬がストレプトアビジンムテインを含む、態様113または態様114の方法。

116.

インキュベーションが、少なくともまたはおよそ少なくとも5分間、10分間、30分間、6
0分間、2時間、6時間、12時間、24時間、36、48時間、72時間または96時間である、態様
95～115のいずれかの方法。

117.

インプット組成物が、組成物における総細胞に対する百分率として、60%未満もしくは
約60%未満、50%未満もしくは約50%未満、40%未満もしくは約40%未満、30%未満も
しくは約30%未満、20%未満もしくは約20%未満、または10%未満もしくは約10%未満のCAR
発現細胞を含む、態様95～116のいずれかの方法。

30

118.

アウトプット組成物におけるCAR発現細胞の数が、インプット組成物におけるCAR発現細
胞の数と比較して、1.2倍、1.5倍、2.0倍、3.0倍、4.0倍、5.0倍、10倍またはそれ以上を
超えて増加し、ならびに/あるいは

組成物における総細胞と比較された場合のアウトプット組成物におけるCAR発現の百分
率が、10%、20%、40%、50%、60%、70%、80%またはそれ以上を超えて増大する、
態様95～117のいずれかの方法。

40

119.

導入および/またはインキュベートする前に、細胞は、CAR発現細胞についての選択また
は濃縮が行われたい、態様95～118のいずれかの方法。

120.

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、
および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、態様80、82～84、86、87、
89～95、97～100、103～119のいずれかの方法。

121.

標的抗体または抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、

50

および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含む、態様81、82、83、85、86、88～94、96～99、101および102～119のいずれかの方法。

122.

抗体またはその抗原結合性フラグメントを精製する方法であって、

(a) 抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体を含む複合体を単離する工程を含む、方法。

10

123.

抗体またはその抗原結合性フラグメントを精製する方法であって、

(a) 抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含む組成物を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートと接触させる工程、ならびに

(b) 抗イディオタイプ抗体を含む複合体を単離する工程を含む、方法。

124.

抗イディオタイプ抗体を含む複合体が、アフィニティーに基づく分離によって単離される、態様122または態様123の方法。

20

125.

アフィニティーに基づく分離が、イムノアフィニティーに基づく分離である、態様124の方法。

126.

アフィニティーに基づく分離が、磁気に基づく分離である、態様124の方法。

127.

アフィニティーに基づく分離が、アフィニティークロマトグラフィーを含む、態様124の方法。

30

128.

抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントを特定する方法であって、

(a) 可溶化部分に融合された標的抗体の抗原結合性フラグメントを含む可溶性の免疫化試薬を対象に導入する工程、および

(b) 標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する対象由来の抗体を特定する工程を含む、方法。

129.

抗原結合性フラグメントが、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む、態様128の方法。

40

130.

抗原結合性フラグメントが一本鎖フラグメントである、態様128または129の方法。

131.

抗原結合性フラグメントがscFvである、態様130の方法。

132.

抗原結合性フラグメントが、キメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインの内部に存在する、またはキメラ抗原受容体(CAR)の細胞外部分の抗原結合ドメインに含まれる、態様128～131のいずれかの方法。

133.

可溶化部分が、

50

任意でヒトIgG1 FcであるFcドメインまたはそのフラグメントである、態様128～132のいずれかの方法。

134.

可溶化部分が、ヒンジ領域を欠くFcドメインである、態様133の方法。

135.

可溶化部分が、SEQ ID NO: 32に示されるアミノ酸配列を含む、態様134の方法。

136.

抗体を特定することが、

(i) B細胞を対象の脾臓から単離し、不死化B細胞と融合して、ハイブリドーマを作製すること、

(ii) 標的抗体もしくはその抗原結合性フラグメント、または抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体と特異的に結合する抗体の産生について、ハイブリドーマをスクリーニングすること、および

(iii) 特異的に結合する抗体を産生するハイブリドーマからの抗体を配列決定し、それにより、抗イディオタイプ抗体を特定することを含む、態様128～135のいずれかの方法。

137.

標的抗体がCD19に結合する、態様128～136のいずれかの方法。

138.

標的抗体の抗原結合性フラグメントが抗体SJ25C1に由来し、任意で、標的抗体の抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 23に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 24に示される軽鎖可変領域を含む、態様128～137のいずれかの方法。

139.

標的抗体の抗原結合性フラグメントが、抗体SJ25C1に由来する一本鎖可変フラグメント(scFv)であり、任意で、scFvが、SEQ ID NO: 28に示されるアミノ酸の配列を含む、態様128～138のいずれかの方法。

140.

標的抗体の抗原結合性フラグメントが抗体FMC63に由来し、任意で、標的抗体の抗原結合性フラグメントが、SEQ ID NO: 30に示される重鎖可変領域、および/またはSEQ ID NO: 31に示される軽鎖可変領域を含む、態様128～137のいずれかの方法。

141.

標的抗体の抗原結合性フラグメントが、抗体FMC63に由来する一本鎖可変フラグメント(scFv)であり、任意で、scFvは、SEQ ID NO: 34に示されるアミノ酸の配列を含む、態様128～137および140のいずれかの方法。

142.

細胞を枯渇させる方法であって、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートを含む組成物を対象に投与する工程を含み、該対象は、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞を投与されたことがある、方法。

143.

細胞を枯渇させる方法であって、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体に特異的に結合する態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートを含む組成物を対象に投与する工程を含み、該対象は、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体(CAR)を発現する細胞を投与されたことがある、方法。

144.

前記枯渇が、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害(ADCC)を介して起こる、態様109の方法

10

20

30

40

50

。

145.

キメラ抗原受容体（CAR）に結合する分子の有無を明らかにする方法であって、以下を含む、方法：

（a）結合試薬と、結合試薬に結合する試料由来の分子とを含む複合体を形成させるための条件のもとで、結合試薬を、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させる工程であって、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む、工程、および

（b）複合体の有無を検出し、それにより、CARと結合する分子の有無を明らかにする工程を含む、方法。

146.

工程（a）および工程（b）を陽性対照試料に対して行う工程、ならびに、

任意で、前記分子の有無を陽性対照との比較によって明らかにする工程

をさらに含み、陽性対照試料が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートを含む、態様145の方法。

147.

キメラ抗原受容体（CAR）に結合する分子の有無を明らかにする方法であって、以下を含む、方法：

（a）結合試薬と、結合試薬に結合する試料由来の分子とを含む複合体を形成させるための条件のもとで、結合試薬を、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象からの試料と接触させる工程であって、結合試薬が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたは該細胞外ドメインの一部分を含む、工程、

（b）複合体の有無を検出する工程

を含む、方法。

148.

工程（a）および工程（b）を陽性対照試料に対して行う工程、ならびに、

任意で、前記分子の有無を陽性対照との比較によって明らかにする工程

をさらに含み、陽性対照試料が、標的抗体またはその抗原結合性フラグメントに特異的に結合する態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲートを含む、態様147の方法。

149.

結合試薬に結合する分子が抗体である、または抗体を含む、態様145～148のいずれかの方法。

150.

結合試薬が検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、態様145～149のいずれかの方法。

151.

結合試薬が固体支持体に結合されている、または可溶性である、態様145～150のいずれかの方法。

152.

複合体がイムノアッセイによって検出される、態様145～153のいずれかの方法。

153.

イムノアッセイが、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、化学発光アッセイ、電気化学発光アッセイ、表面プラズモン共鳴（SPR）に基づくバイオセンサー（例えば、BIAcore

10

20

30

40

50

)、フローサイトメトリー、またはウエスタンブロットである、態様152の方法。

154.

イムノアッセイがメソスケールディスクアバリーを含む、態様152または態様153の方法。

155.

イムノアッセイがサンドイッチアッセイまたは架橋アッセイである、態様152～154のいずれかの方法。

156.

結合試薬が第1の結合試薬であり、かつ、複合体の有無を検出することが、以下：

(i) 工程(a)において形成される複合体を第2の結合試薬と接触させる段階であって、第2の結合試薬が、(1) 標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むCARの細胞外ドメインまたはその一部分を含み、かつ、(2) 検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、段階、および

(ii) 検出可能なシグナルの有無を評価する段階を含む、態様145～155のいずれかの方法。

157.

第1の結合試薬が固体支持体に結合しており、任意で、第1の結合試薬が、直接的もしくは間接的にビオチンに連結されている、および/または、ストレプトアビジンを介して固体支持体に結合している、ならびに/あるいは

第2の結合試薬が可溶性である、態様156の方法。

158.

第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分が同じである、態様156または態様157の方法。

159.

検出可能な標識が、蛍光標識、化学発光標識、エレクトロルミネセンス標識、比色法標識、生物発光標識もしくは放射性標識である、またはそのような標識を含む、ならびに/あるいは

検出可能なシグナルが、蛍光シグナル、化学発光シグナル、エレクトロルミネセンスシグナル、比色法シグナル、生物発光シグナルもしくは放射性シグナルである、またはそのようなシグナルを含む、

態様150～158のいずれかの方法。

160.

検出可能な標識がSULFO-TAGである、またはSULFO-TAGを含む、態様150～159のいずれかの方法。

161.

標的抗体の抗原結合性フラグメントが、標的抗体の可変重鎖領域および/または可変軽鎖領域を含む、態様145～160のいずれかの方法。

162.

標的抗体の抗原結合性フラグメントが一本鎖フラグメントである、態様145～161のいずれかの方法。

163.

標的抗体の抗原結合性フラグメントがscFvである、態様145～162のいずれかの方法。

164.

試料が、全血、血清または血漿を含む、態様145～163のいずれかの方法。

165.

態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲート、ならびに

抗イディオタイプ抗体を使用して、

SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいはSJ25C1抗体またはその抗原

10

20

30

40

50

結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するための；

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択または濃縮するための；

SJ25C1抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するための

説明書

を含む、製造物品。

166.

態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体またはその抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲート、ならびに

10

抗イディオタイプ抗体を使用して、

FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメント、あるいはFMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を検出するための；

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体（CAR）を発現する工学的に改変された細胞を細胞の集団から選択または濃縮するための；

FMC63抗体またはその抗原結合性フラグメントを含むキメラ抗原受容体を発現する細胞を含むインプット組成物を刺激するための

説明書

を含む、製造物品。

167.

20

以下を含む、製造物品：

抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含有するキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外ドメインを含む結合試薬であって、該細胞外ドメインまたはその一部分が標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む、結合試薬；ならびに

態様12～31、33～36および38～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲート。

168.

結合試薬が第1の結合試薬であり、製造物品が、CARの細胞外ドメインまたはその一部分を含む第2の結合試薬をさらに含む、態様167の製造物品。

169.

30

第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分が同じである、態様167または態様168の製造物品。

170.

イムノアッセイを使用して、結合試薬に結合する分子の有無について試料をアッセイするために、結合試薬を使用するための、任意で、第1および第2の結合試薬を使用するための、説明書

をさらに含み、

任意で、イムノアッセイが架橋イムノアッセイまたはサンドイッチイムノアッセイであり、任意で、試料が、抗体FMC63またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象から得られている、態様167～169のいずれかの製造物品。

40

171.

以下を含む、製造物品：

抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むキメラ抗原受容体（CAR）の細胞外ドメインを含む結合試薬であって、該細胞外ドメインまたはその一部分が標的抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む、結合試薬；ならびに

態様1～11および29～32、34～37および39～60のいずれかの抗イディオタイプ抗体または抗原結合性フラグメントあるいは態様61～64のいずれかのコンジュゲート。

172.

結合試薬が第1の結合試薬であり、製造物品が、CARの細胞外ドメインまたはその一部分

50

を含む第2の結合試薬をさらに含む、態様171の製造物品。

173.

第1および第2の結合試薬のCARの細胞外ドメインまたはその一部分が同じである、態様171または態様172の製造物品。

174.

イムノアッセイを使用して、結合試薬に結合する分子の有無について試料をアッセイするために、結合試薬を使用するための、任意で、第1および第2の結合試薬を使用するための、説明書をさらに含み、

任意で、イムノアッセイが架橋イムノアッセイまたはサンドイッチイムノアッセイであり、任意で、試料が、抗体SJ25C1またはその抗原結合性フラグメントである標的抗体を含むCARにより工学的に改変された細胞を含む細胞療法が施されたことがある対象から得られている、態様171～173のいずれかの製造物品。

175.

結合試薬、任意で、第1および/または第2の結合試薬が検出可能に標識され、または検出可能なシグナルを生じさせることができる、態様167～174のいずれかの製造物品。

176.

第1および第2の結合試薬の一方が固体支持体に付着されているかまたは固体支持体に付着させることができ、かつ、第1および第2の結合試薬の他方が検出可能な標識であるかまたは検出可能なシグナルを生じさせることができる、態様168～170および172～175のいずれかの製造物品。

177.

固体支持体をさらに含み、任意で、第1および第2の結合試薬の一方が、直接的または間接的にビオチンに連結され、かつ、固体支持体がストレプトアビジン被覆表面を含む、態様176の方法。

【実施例】

【0536】

IX. 実施例

以下の実施例は説明目的のためだけに含まれ、本発明の範囲を限定することは意図されない。

【0537】

実施例1 SJ25C1可変領域由来の抗体に対する抗イディオタイプ抗体の作製

本実施例は、SJ25C1に由来する可変重鎖領域および可変軽鎖領域を有する抗CD19 scFv (SEQ ID NO:23および24の可変領域配列が、SEQ ID NO:25に示されるリンカーによって隔てられている抗体(この場合にはscFv))と、ヒトCD28由来の細胞外部分と、ヒトCD28由来の膜貫通ドメインと、ヒトCD28由来の細胞内のシグナリングドメインと、ヒトCD3ゼータ由来のシグナリングドメインとを含有する例示的な抗CD19キメラ抗原受容体(CAR)のscFv部分を認識する抗イディオタイプ抗体(抗ID)の作製を記載する。

【0538】

A. ハイブリドーマの作製および抗体のスクリーニング

マウスを、(SJ25C1に由来する可変領域を有する抗CD19 scFvを含有する)CARの細胞外ドメイン(ECD)部分により免疫化した。ECD部分は、下記の配列:

EVKLLQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGD

GDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVVDYFDYWGQGTTV

TVSSGGGGSGGGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSP

KPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR

(SEQ ID NO: 28)

と、CD28由来の細胞外部分(SEQ ID NO:27)とを含有した。

10

20

30

40

50

【0539】

免疫化マウスから単離された血清を、二次抗体を用いた検出により組換え可溶性ECD部分に対するその結合能についてELISAによって調べた。ハイブリドーマ融合クローンを作製し、ECDに対する結合についてELISAによってさらに特徴づけし、5つの陽性クローンを選択した。それぞれの選択されたハイブリドーマクローンを増殖させ、抗体を精製した。抗体の検出をその後のアッセイにおいて可能にするために、それぞれの抗体をAlexa647とコンジュゲートした。

【0540】

抗体を、抗CD19 (SJ25C1由来) CARにより工学的に改変されたT細胞に特異的に結合し得るかについて評価した (モック形質導入を受けた対照T細胞に対する結合との比較によって評価した)。T細胞をイムノアフィニティーに基づく濃縮によってヒト対象から単離し、細胞を活性化し、抗CD19 (SJ25C1由来) CARをコードするウイルスベクターによる形質導入を行った。抗イディオタイプ抗体のそれぞれの一連の2倍連続希釈物 (20 µg/mLから始めて、0.0195 µg/mLにまで希釈される) を個々に使用して、CARの表面発現をフローサイトメトリーによって検出した。陽性対照として、細胞を、CARのECD部分のマウス可変領域部分を検出することができるヤギ抗マウス (「GAM」) 抗体の類似濃度を使用してCARの表面発現についても評価した。抗体無しの対照もまた試験した。CARが形質導入されたT細胞におけるAlexa647シグナルについて陽性である細胞の割合についての用量応答曲線は、試験した抗イディオタイプ抗体のそれぞれについて類似しており、陽性対照GAM抗体についての用量応答曲線と同等であった。なお、これらの抗体のどれもが、空のベクターによる形質導入を受けたモックT細胞を認識しなかった。抗イディオタイプ抗体およびGAM抗体の染色指数 (これはまた、陽性ピークおよびバックグラウンド (モック) ピークの平均と、バックグラウンドピークの広がりとの差である) を求め、染色指数は、抗イディオタイプ抗体と、陽性対照GAM抗体との間において同等であることが見いだされた。抗イディオタイプ抗体クローンA-1 (抗ID A-1) をさらなる特徴づけのために選択した。

【0541】

B. 機能的活性

上記のCARを発現するように工学的に改変されたJurkat細胞におけるErk1/2リン酸化を、抗ID A-1抗体または抗CD3抗体による刺激をそれぞれの場合において架橋剤抗体の存在下または非存在下で行った後でフローサイトメトリーによって評価した。インキュベーション後、細胞をホルムアルデヒドにより固定し、透過処理し、リン酸化Erk1/2について特異的な抗体とインキュベートし、フローサイトメトリーによって分析した。図1に示されるように、細胞を抗ID A-1抗体の存在下でインキュベートした後では、Erk 1/2リン酸化の増大が、架橋剤の存在下における抗CD 3抗体による刺激について認められる増大に類似するレベルで認められた。両抗体は、架橋がない場合でさえ、類似する程度のErk1/2リン酸化を誘導することが認められた。

【0542】

さらにウエスタンブロッティングを使用して、Erkリン酸化を、架橋剤抗体の存在下または非存在下での、抗ID A-1、アイソタイプ対照もしくは抗CD3による刺激の後あるいは刺激の非存在下におけるCAR発現のJurkat細胞またはCAR非発現の親Jurkat細胞において比較した。結果は、抗イディオタイプ抗体による刺激により、Erk1/2リン酸化が、抗CD3抗体によって誘導されるのと類似する程度に、抗CD19 (SJ25C1由来) CARが形質導入されたJurkat細胞において特異的に増大し、しかし、親Jurkat細胞では増大しなかった (親Jurkat細胞では、未刺激細胞およびアイソタイプ対照刺激細胞と類似して、バックグラウンドシグナルのみが認められた) ことを示していた。対照的に、抗CD3抗体はリン酸化を非特異的な様式で、すなわち、CAR発現細胞および親Jurkat細胞の両方において誘導した。

【0543】

C. 配列特定

抗ID A-1抗体の配列を決定した。総RNAを、抗ID A-1を発現するハイブリドーマクローンを含有するハイブリドーマ細胞から抽出し、cDNAは、PrimeScript (商標) 1st Strand

cDNA Synthesis Kit (Takara, Cat.No.6110A) を使用して、アイソタイプ特異的アンチセンスプライマーまたはユニバーサルプライマーを使用して、RACE PCRを行って、抗体の可変領域(重鎖および軽鎖)および定常領域を増幅し、その後、これらをクローニングベクターに別々にクローニングし、配列決定した。表2は、抗体のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の対応する配列番号(SEQ ID NO)を示す。

【0544】

(表2) 抗ID A-1の配列

	軽鎖			重鎖		
	全長	可変	定常	全長	可変	定常
ヌクレオチド	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 16
アミノ酸	SEQ ID NO: 7	SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 3	SEQ ID NO: 1	SEQ ID NO: 2

【0545】

実施例2 FMC63由来抗体に対する抗イディオタイプ抗体の作製

本実施例は、FMC63に由来するVHドメインおよびVLドメインを有する抗CD19 scFv (SEQ ID NO:30および31にそれぞれ示される可変重鎖(VH)配列および可変軽鎖(VL)配列を含有する抗体)を含有する例示的な抗CD19キメラ抗原受容体(CAR)の結合ドメイン(scFv)部分を認識する抗イディオタイプ抗体の作製を記載する。このscFvは、SEQ ID NO:34に示されており、SEQ ID NO:33に示されるリンカーによって隔てられているVH領域およびVL領域を含有する。

【0546】

A. ハイブリドーマの作製および抗体のスクリーニング

マウスを、このCAR (SEQ ID NO:34) のscFv部分を含有する可溶性タンパク質により免疫化し、ヒトIgG1 Fcドメイン (SEQ ID NO:32; このタンパク質はヒンジ領域を欠いた) に融合した。免疫化のために使用される可溶性タンパク質試薬は、SEQ ID NO:35に示される。

【0547】

免疫化マウスから単離された血清を、二次抗体を用いた検出によりscFv-Fc部分への結合能についてELISAによって調べた。クローンを、Fcドメイン (SEQ ID NO:32) だけを含有するペプチドに対して対比スクリーニングして、マウスを免疫化するために使用されたscFv-FcのFc部分と交差反応しない抗イディオタイプ抗体について選択した。クローンはまた、ヒンジ非含有のFcドメイン (SEQ ID NO:32) に融合される、別のCD19抗体 (SJ25C1) に由来するscFv (SEQ ID NO:25に示されるリンカーによって隔てられているSEQ ID NO:23および24の可変領域配列) を含有する構築物に対して対比スクリーニングして、異なる抗CD19抗体と交差反応しない抗イディオタイプ抗体についてさらに選択した。

【0548】

ハイブリドーマ融合クローンを作製し、12個の候補クローンをフローサイトメトリーによってさらに特徴づけした。末梢血単核球をヒト対象から単離し、細胞を活性化し、抗CD19 CARをコードするウイルスベクターによる形質導入を行った。フローサイトメトリーのために、100 μ Lあたり約 1×10^6 個の細胞を10 μ Lのビオチンコンジュゲート化抗イディオタイプ抗体とインキュベートし、その後、PEコンジュゲート化ストレプトアビジンにより染色した。CARの表面発現についての陽性対照として、細胞を抗EGFR抗体により染色して、CAR発現の代用物であるEGFR形質導入マーカーの発現を確認した。モック対照として、PBMCを、CARを発現しない空のベクターによる形質導入に供した。細胞をCD3⁺ CD4⁺ /CD8⁺ PBMCに関してゲート制御し、蛍光シグナルを求めた。結果から、候補の抗イディオタイプ抗体がPBMCの表面におけるCARについての特異的な結合を示すことが示された。抗体

10

20

30

40

50

が、FMC63由来の抗CD19抗体に由来するscFvについて特異的であることを確認するために、類似する実験を、実施例1に記載されるようなSJ25C1由来の抗CD19 CARが形質導入された細胞に対して行った。FMC63由来の抗体に対する候補の抗イディオタイプ抗体はどれも、SJ25C1由来のscFvを含有する異なる抗CD19 CARを発現する細胞についての特異的な結合を示さなかった。抗イディオタイプ抗体のクローンB-1（抗ID B-1）およびクローンB-2（抗ID B-2）をさらなる特徴づけのために選択した。

【0549】

B. 配列特定

抗ID B-1抗体および抗ID B-2抗体の配列を決定した。総RNAを、抗ID B-1または抗ID B-2を発現するハイブリドーマクローンを含有するハイブリドーマ細胞から抽出し、cDNAを、PrimeScript（商標）1st Strand cDNA Synthesis Kit（Takara, Cat.No.6110A）を使用して、アイソタイプ特異的アンチセンスプライマーまたはユニバーサルプライマーを使用して作製した。RACE PCRを行って、抗体の可変領域（重鎖および軽鎖）および定常領域を増幅し、その後、これらをクローニングベクターに別々にクローニングし、配列決定した。表3は、抗体のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の対応する配列番号（SEQ ID NO:）を示す。

10

【0550】

（表3）抗ID B-1および抗ID B-2の配列

	軽鎖			重鎖		
	全長 (SEQ ID NO)	可変 (SEQ ID NO)	定常 (SEQ ID NO)	全長 (SEQ ID NO)	可変 (SEQ ID NO)	定常 (SEQ ID NO)
抗ID B-1 ヌクレオチド	56	54	55	52	50	51
抗ID B-1 アミノ酸	42	40	41	38	36	37
抗ID B-2 ヌクレオチド	76	75	55	73	71	72
抗ID B-2 アミノ酸	63	62	41	60	58	59

20

【0551】

実施例3 T細胞刺激に対するプレート結合抗イディオタイプ抗体の影響

本実施例は、実施例1に記載されるSJ25C1特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID A-1）の存在下、または実施例2に記載されるFMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体（抗ID B-1）の存在下でのCAR T細胞のインキュベーションの後における結果を記載する。

30

【0552】

末梢血単核球をヒト対象から単離し、細胞を活性化し、FMC63由来またはSJ25C1由来のVHドメインおよびVLドメインを有するscFvを含む結合ドメインを有する抗CD19 CARをコードするウイルスベクターによる形質導入を行った。そのようなベクターを細胞に導入して、FMC63由来scFvを含有するCARを発現するように工学的に改変されたT細胞と、SJ25C1由来scFvを含有するCARを発現するように工学的に改変されたT細胞とをそれぞれ作製した。FMC63由来CARの場合、CARをコードする構築物にはさらに、形質導入およびCAR発現についての代用マーカーとして役立つ短縮型EGFR（EGFRt）をコードする配列が含まれ、EGFRtコード領域はT2Aスキップ配列によってCARコード配列から隔てられていた。工学的に改変された細胞を様々なアッセイで評価した。

40

【0553】

増殖研究のために、工学的に改変されたT細胞を50 nMのカルボキシフルオレセインスクシンイミジルエステル（CFSE）またはCELL TRACE VIOLET（CTV）色素により標識した。関連する場合には、代用EGFRtマーカーの発現を抗EGFR抗体による染色によって検出した。細胞を、10、5、2.5または1.25 μg/mlのOKT3（抗CD3抗体）、またはSJ25C1およびFMC63を認識する抗イディオタイプ抗体（抗ID A-1および抗ID B-1、それぞれ）により炭酸ナトリ

50

ウム/重炭酸塩緩衝液 (pH 9.0) において一晩にわたって事前に被覆されるウエルにおいてウエルあたり一定数の細胞で播種した。抗体被覆を伴わないウエルに播種される細胞を陰性対照として含めた。細胞を4日間培養し、生存性、増殖、ならびにCD69およびCD25の発現について評価した。

【0554】

抗CD19 (SJ25C1またはFMC63) CARを発現するT細胞の増殖を、フローサイトメトリーを使用して色素希釈によって評価した。抗CD19 (SJ25C1) CARを発現するT細胞を抗ID A-1により刺激した後において認められるCD3⁺/CFSE^{low}細胞の割合が図2Aに示される。抗CD19 (FMC63) CARを発現するT細胞を抗ID B-1により刺激した後において認められるCD3⁺/EGFR⁺/CFSE^{low}細胞の割合が図2Bに示される。SJ25C1由来scFv特異的な抗ID A-1抗体の存在下でのインキュベーションは、抗CD19 (SJ25C1) CARを発現するT細胞の増殖を抗CD3抗体による刺激と同程度のレベルで引き起こすことが認められた (図2A)。対照的に、異なる抗CD19 CAR結合ドメインについて特異的な他方の抗ID (FMC63由来scFv特異的な抗ID B-1) の存在下でインキュベートされた、抗CD19 (SJ25C1) CARを発現するT細胞において認められる増殖が、刺激作用物質が何ら存在しない場合の細胞において認められる増殖と類似していた。同様に、FMC63由来scFv特異的な抗イディオタイプ抗体の抗ID B-1の存在下でのインキュベーションは、抗CD19 (FMC63由来の結合ドメイン) CARを発現するT細胞の増殖を抗CD3抗体による刺激と同程度のレベルでもたすことが認められた。対照的に、異なる抗CD19 CARを認識する別の抗ID (SJ25C1由来scFv特異的な抗ID A-1抗体) の存在下でインキュベートされた細胞は、刺激作用物質の非存在下でインキュベートされた細胞について認められる増殖と類似していた (図2B)。これらの結果から、抗ID A-1および抗ID B-1のそれぞれが、抗体が特異的であるそれぞれのscFvを含有するCARを発現するT細胞の増殖の刺激および誘導の両方を生じさせることができ、かつ、同じ抗原に向けられ、しかし、抗体が特異的であった特異的な結合ドメインを含有しない異なるCARを発現するT細胞の増殖を誘導しないことが明らかにされた。これらの結果は、抗ID A-1および抗ID B-1はそれらのそれぞれの標的を特異的に認識することができ、同じ抗原に対する他の結合ドメインを含有するCARを認識することができないことと一致している。

10

20

【0555】

別のアッセイの結果から、このアッセイで評価された例示的な抗IDはCAR特異的シグナルを抗ID濃度特異的な様式でT細胞に与えることができることが確認され、このことは、CD19特異的CARを発現するT細胞を介して受け取るシグナルの量を調整するために抗IDが役立つことと一致していた。このアッセイでは、モック形質導入T細胞およびCAR形質導入T細胞をCELL TRACE VIOLET (CTV) により標識した。播種前に、ウエルを、抗CD19 CARの結合ドメインについて特異的な例示的な抗イディオタイプ抗体により、0.25、0.5または1 μg/mlで被覆した。細胞を4日間培養し、増殖を、色素希釈の程度をフローサイトメトリーにより評価することによって評価した。図2Cは、CD8⁺ CAR T細胞の増殖の抗イディオタイプ濃度依存的な誘導を示す。これらの結果から、本実施例において提供されるプレート結合の例示的な抗イディオタイプ抗体の量を調整して、例えば、CAR発現T細胞のシグナル量を調整すること、ならびに/あるいは、CAR発現T細胞の制御されたレベルの刺激を提供すること、および/または、CAR発現T細胞の刺激の程度を最適化することが様々な状況において可能であることが明らかにされる。

30

40

【0556】

抗ID A-1および抗ID B-1の刺激能をさらに探査するために、標的抗CD19 CAR (SJ25C1由来またはFMC63由来、それぞれ) が形質導入されたT細胞を、1.25、2.5、5および10 μg/mlを含む様々な濃度でプレート結合抗体を使用する刺激の後におけるT細胞活性化の2つのマーカー (CD69およびCD25) の発現についてフローサイトメトリーを使用して評価した。形質導入T細胞を、CAR発現についての代用物としてのEGFRについてゲート制御し、CD4⁺またはCD8⁺のEGFR⁺細胞をCD69またはCD25の発現について評価した。

【0557】

SJ25C1由来の抗CD19 CARが形質導入されたT細胞については図3に示されるように、抗ID

50

A-1は、CD4⁺ T細胞およびCD8⁺ T細胞の両方において、抗CD3抗体により刺激された細胞の場合よりも大きいCD25の発現を誘導した。抗ID A-1はまた、CD4⁺ T細胞およびCD8⁺ T細胞において、細胞が抗CD3抗体により刺激されたときと類似する、またはそれよりもわずかに少ないレベルでCD69の発現を誘導した。CD69およびCD25の発現が非刺激細胞において、またはFMC63由来scFv特異的な抗ID B-1により処理された細胞において認められなかった。FMC63由来の抗CD19 CARが形質導入されたT細胞については図4に示されるように、抗ID B-1は、CD4⁺/EGFR⁺ T細胞およびCD8⁺/EGFR⁺ T細胞の両方において、抗CD3抗体により刺激された細胞の場合よりも大きいCD25の発現を誘導した。抗CD3抗体による刺激と比較した場合、CD69の発現もまた、抗ID B-1抗体に関して、CD4⁺/EGFR⁺ T細胞ではより大きいレベルで誘導され、CD8⁺/EGFR⁺ T細胞では類似する、またはわずかにより大きいレベルで誘導された。CD69の発現は、CD8⁺/EGFR⁺ T細胞において、より高い抗体濃度では類似しており、またはわずかにより高かった。CD69およびCD25の発現が非刺激細胞において、またはSJ25C1特異的な抗ID A-1抗体により処理された細胞において認められなかった。これらの結果は、抗ID A-1および抗ID B-1の両方が、それらの標的scFvを含有するCARを発現するT細胞を特異的に刺激することができたことを示している。

10

20

30

40

50

【0558】

実施例4 導入遺伝子産物特異的な宿主免疫応答の分析

架橋抗治療抗体(ATA)アッセイを、投与された抗CD19 CARを認識する、処置された対象の血清における抗体の有無を検出するために開発した。実施例1~3に記載されるある種の抗ID抗体を陽性対照として使用し、本アッセイによりそのような抗体の存在が検出されるかを検証するために使用した。

【0559】

FMC63に由来する可変領域を有するCARの(SEQ ID NO:34に示される)scFv部分を含有するビオチン化ヒトFc融合タンパク質(ビオチン化ECD融合タンパク質)を使用した。ビオチン化ECD融合タンパク質をストレプトアビジン被覆ウエルに加え、プレートを、融合タンパク質の結合を可能にするための条件のもとでインキュベートし、洗浄した。ビオチン化融合タンパク質で被覆されたウエルに、様々な濃度の抗ID B-1または抗ID B-2をウエルに加え、抗体の特異的な結合を可能にするための条件のもとでインキュベートした。洗浄後、FMC63由来のFc-scFv融合体を含有するsulfoタグ化型のECD融合タンパク質(sulfo-ECD融合タンパク質)。ウエルを洗浄し、電気化学発光(ECL)シグナルをMeso Scale Discovery(MSD)Sector Imagerで読み取った。

【0560】

図5に示されるように、ECLシグナルが、抗ID B-1および抗ID B-2の濃度が増大するにつれて増大した。このことは、本アッセイが、血清試料における抗体の有無およびレベルを評価するために使用することができ、これらの例示的な抗ID抗体のどちらもが陽性対照として使用することができることを示していた。

【0561】

いくつかの態様において、本ATAアッセイは、抗ID B-1抗体および/または抗ID B-2抗体を陽性対照として使用する場合には、抗CD19(FMC63)CARを発現するT細胞を含有する細胞療法との所与用量の注入を受けたことがある対象からの試料におけるCARに対するATA抗体の有無を評価するために使用される。そのようなATAはいくつかの状況では潜在的に、投与されたCARに対する宿主の体液性免疫応答を示すものであるかもしれない。例示的なアッセイにおいて、血漿試料が、様々な時点において、例えば、注入前、ならびに/あるいは、細胞療法との投与を開始した後の14日目および28日目、そして、いくつかの場合には3ヶ月、6ヶ月および/または12ヶ月などにおいて対象から得られる。そのような血漿試料に由来する試料が、例えば、上記のようなアッセイなどにおいて、抗ID抗体を含有する対照試料と一緒に使用される。

【0562】

類似する架橋アッセイもまた、抗CD19(SJ25C1)CARを発現するT細胞を含有する細胞療法との所与用量の注入を受けたことがある対象からの試料を評価するために作製された。こ

のアッセイでは、抗ID A-1抗体を陽性対照として使用した。このアッセイは、感度が、陽性対照の抗ID抗体に基づいて測定された場合、100 ng/mL未満であること、そして、シグナルが血漿バックグラウンドの4倍~5倍を超えていることが認められた。

【0563】

実施例5 抗イディオタイプ抗体のビーズへのコンジュゲート化

実施例2に記載されるような抗ID B-1または抗ID-B1のどちらも、超常磁性かつ非多孔性かつ単分散性のトシル活性化ビーズである市販のトシル活性化磁気ビーズ (ThermoFisher, Waltham MA) の表面に共有結合カップリングした。ビーズは第一級アミノ基およびスルフィドリル基と共有結合する。コンジュゲート化を、直径がおよそ2.8 μmであるビーズ (M-280と称される) または4.5 μmであるビーズ (M-450と称される) を使用して行った。

10

【0564】

200 μgの抗ID抗体をおよそ1 mLのトシル活性化ビーズ (例えば、およそ4 x 10⁹個の、直径が2.8 μmであるトシル活性化ビーズ、または約4 x 10⁸個の、直径が4.5 μmであるトシル活性化ビーズ) に加え、共有結合カップリングを、0.1%のヒト血清アルブミン (HSA) を含有するリン酸塩緩衝化溶液 (PBS) における37 °Cで一晩のインキュベーションによって行った。ビーズを洗浄し、0.1%のHSAを含む1 mLのPBSに再懸濁した。コンジュゲート化後、ビーズ濃度を、Cellometerを使用して求めた。

【0565】

抗IDコンジュゲート化ビーズの安定性を評価するために、ビーズをペレット化し、上清を除き、4~12%ビス-トリスSDS-PAGEゲルに負荷し、ゲルをクーマシーブルーにより染色した。ビーズ表面にコンジュゲートされた総タンパク質の対照として、ペレット化ビーズを4X (ドデシル硫酸リチウム) LDS試料緩衝液において約70 °Cで20分間煮沸し、およそ12.5 μLまたは25 μLの煮沸上清もまたSDS-PAGEゲルで泳動し、クーマシーブルーによって評価した。ビーズにコンジュゲートされていないおよそ2.5 μgもしくは5.0 μgの抗ID抗体 (陽性対照)、または5 μLの0.1%のHSA (陰性対照) もまた、SDS-PAGEおよびクーマシー染色によって評価した。抗ID抗体が、煮沸されなかったコンジュゲート化試料からの上清では検出されず、このことは、このコンジュゲート化が安定であることを示しており、これに対して、抗ID抗体が、煮沸されたコンジュゲート化試料からの上清において検出された。

20

【0566】

実施例6 抗イディオタイプ抗体コンジュゲート化ビーズと培養されたT細胞の刺激の評価

FMC63由来scFv特異的な抗ID B-1とコンジュゲートされたビーズをT細胞とインキュベートした。CD3精製のT細胞を、健康なドナーからの白血球アフェレーシス試料から、イムノアフィニティーに基づく濃縮によって単離した。単離された細胞への形質導入を、FMC63に由来するscFvを有する抗CD19 CARをコードするウイルスベクターを用いて行った。ウイルスベクター構築物はさらに、CAR発現についての代用マーカーとして役立つ短縮型EGFR (EGFRt) をコードし、EGFRtコード領域はT2Aスキップ配列によってCAR配列から隔てられていた。形質導入後、細胞を培養で増殖し、凍結保存によって凍結した。

30

【0567】

T細胞刺激試験のために、解凍したCD4+またはCD8+のCAR発現細胞を別々に、ウエルあたりおよそ50,000個の総細胞で播種した。いくつかの場合において、培養培地にはさらに、下記のようなサイトカインを補充した:CD4+細胞については、およそ1200 IU/mLの組換えIL-7、20 IU/mLの組換えIL-15および100 IU/mLの組換えIL-2;CD8+細胞については、およそ200 IU/mLの組換えIL-2および20 IU/mLの組換えIL-15。抗ID B-1コンジュゲート化ビーズを1:1または1:5の細胞:ビーズ比で細胞に加え、50%の培地交換を2日~3日毎に行いながら14日までインキュベートした。陽性対照として、細胞を、示されたサイトカインの存在下または非存在下、抗CD3/抗CD28磁気ビーズとともに3:1の細胞:ビーズ比で培養した。

40

【0568】

培養の様々な時点で、(代用マーカーの発現について抗EGFRによって検出されるような

50

) CD4+ またはCD8+ の形質導入細胞を、増殖、PD-1発現および生存性について評価した。

【0569】

図6および図7に示されるように、細胞が1:1または1:5のいずれかの細胞:ビーズ比で抗IDコンジュゲート化ビーズとともに培養されたとき、特にサイトカインの存在下では、CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞の増殖がそれぞれ認められた。増殖の程度は、細胞が対照の抗CD3/抗CD28磁気ビーズとともに培養されたときよりも大きかった。

【0570】

CD4+ 細胞サブセットにおけるPD-1の表面発現を、培養の3日目、7日目、10日目および14日目にフローサイトメトリーによって評価した。図8に示されるように、PD-1発現が、抗CD3/抗CD28磁気ビーズとともに培養された細胞の表面では高く、しかしながら、PD-1のレ

10

【0571】

図9に示されるように、1:1または1:5の比率の抗IDコンジュゲート化ビーズまたは対照抗CD3/抗CD28コンジュゲート化ビーズのいずれかとともに培養されたCD4+ T細胞およびCD8+ T細胞のパーセント生存性は、細胞がサイトカインの存在下でさらに培養されたときには培養期間中一貫して高いままであった。しかしながら、すべての条件のもとにおいて、細胞の生存性は、サイトカインが加えられない場合には低下し、細胞生存性における最大の喪失が細胞培養の後半で生じた。

【0572】

20

実施例7 抗イディオタイプ抗体コンジュゲート化ビーズとともに培養されたT細胞のサイトカイン産生の評価

FMC63に由来するscFvを有する抗CD19 CARにより工学的に改変されたT細胞を、実質的には実施例6に記載されるように作製した。解凍したCD8+ T細胞を、ゴルジ阻害剤の存在下で4時間、抗ID B-1コンジュゲート化ビーズとともに培養した。TNF、IFN およびIL-2の細胞内サイトカインレベルを、(代用EGFRt形質導入マーカーについての抗EGFRによる陽性表面染色によって決定されるような)CAR+ T細胞サブセット、または(EGFRtについての抗EGFRによる陰性表面染色によって決定されるような)CAR- T細胞サブセットのいずれかにおいてフローサイトメトリーによって求めた。比較として、CAR+ T細胞(EGFR+)もまた、1:2のエフェクター:T細胞比で、CD19発現の標的細胞(CD19を発現するように形質導入されたK562細胞、K562-CD19)とともに培養した。

30

【0573】

図10Aに示されるように、細胞が抗ID B-1コンジュゲート化ビーズの存在下で培養されたとき、TNF、IFN およびIL2の各サイトカインの細胞内サイトカインレベルが、CAR+ T細胞(EGFRt+)において誘導され、しかし、CAR- T細胞(EGFR-)では誘導されなかった。この研究において、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下で認められる刺激の程度は、代替のCAR特異的刺激試薬である抗原発現K562-CD19細胞を使用するCAR+ T細胞の刺激と類似していた(図10B)。これらの結果から、ビーズにコンジュゲートされる抗IDはアゴニスト性であり、かつ、抗ID抗体によって認識される抗原結合ドメインを有するCARを発現するT細胞を特異的に刺激することが明らかにされた。さらに、このビーズ試薬は、細胞培養を必要とし、かつ、ロット毎の変動を生じさせやすい細胞株と比較して、より良好なCAR特異的刺激試薬であることを認める。

40

【0574】

実施例8 連続再刺激の後における増殖の評価

細胞が反復刺激後にエクスピボで増殖し得ることは、CAR+ T細胞が(例えば、初期活性化後で)持続することができるための潜在的な代用であるかもしれない、および/またはインピボでの機能を示唆する(Zhaoら(2015) Cancer Cell, 28:415-28)。CAR+ T細胞を上記のように作製し、解凍したCD4+ またはCD8+ のCAR発現T細胞を別々に、ウエルあたり50,000個のCAR+ 細胞で平板培養した。抗ID B-1コンジュゲート化ビーズを、実施例6に記載されるようなサイトカインの存在下または非存在下、1:1または1:5の細胞:ビーズ

50

比で細胞に加えた。対照として、抗CD3/抗CD28磁気ビーズを、サイトカインの存在下または非存在下、3:1の細胞:ビーズ比で細胞に加えた。細胞を3日~4日毎に集め、計数し、細胞数を各回について初期播種密度に再設定した後で同じ培養条件を使用して新たな標的細胞により再刺激した。14日の培養期間中における合計で4回の刺激を行った。各回の刺激について、倍加数を求めた。

【0575】

図11に示されるように、CAR発現(EGFR+)のCD4+細胞の継続した細胞増殖が、抗IDコンジュゲート化ビーズによる再刺激の後で認められ、だが、増殖の程度は、細胞がサイトカインの存在下で培養されたときの方が大きかった。また、増殖の程度は、細胞が抗CD3/抗CD28ビーズとともに培養されたときよりも大きかった。CD8+ T細胞については、類似する増殖動態が、細胞が抗IDコンジュゲート化ビーズまたは抗CD3/抗CD28ビーズのいずれかの存在下で培養されたときに認められ、だが、増殖は、細胞が抗IDコンジュゲート化ビーズとともに培養されたときの方が、特に組換えサイトカインが加えられない場合の方がやや大きかった。

10

【0576】

実施例9 抗イディオタイプ抗体コンジュゲート化ビーズを使用するCAR特異的な細胞増殖のさらなる分析

実施例7および8に記載される研究と類似する研究を、2名の異なる患者ドナーから作製されたCAR発現T細胞を使用することを除いて行った。CD3精製のT細胞を2名のドナー患者の末梢血単核球(PBMC)から単離し、FMC63に由来するscFvを有する抗CD19 CARをコードするウイルスベクターによる形質導入に供し、培養で増殖し、凍結し、解凍した。

20

【0577】

解凍したCD4+、CD8+、またはCD4/CD8の共培養物(1:1の比率)を、下記のようなサイトカインがさらに補充された培養培地においてウエルあたりおよそ 5×10^6 個の総細胞で6ウエルプレートのウエルに播種した:CD4+細胞またはCD4+/CD8+共培養物については、培地に、およそ1200 IU/mLの組換えIL-7、20 IU/mLの組換えIL-15および100 IU/mLの組換えIL-2を補充し、CD8+細胞については、培地に、200 IU/mLの組換えIL-2および20 IU/mLの組換えIL-15を補充した。抗ID B-1コンジュゲート化ビーズを1:1の細胞:ビーズ比で細胞に加え、50%の培地交換を2日~3日毎に行いながら9日までインキュベートした。

30

【0578】

培養の様々な時点で、それぞれの条件について培養物に存在する(代用マーカーの発現について抗EGFRによって検出されるような)CD4+またはCD8+の形質導入細胞の数を評価し、総細胞のパーセントとしてのCAR発現細胞の増殖倍数または頻度を求めた。PD-1およびCD25の発現ならびに細胞生存性もまた求めた。

【0579】

図12Aに示されるように、CAR発現(EGFRt+)のCD4+ T細胞の60倍超の増殖が、CD4+細胞が抗IDコンジュゲート化ビーズとだけで培養されたときに認められた。CD8+ T細胞については、CAR発現(EGFRt+)のCD8+ T細胞の実質的により大きい増殖が、CD8+ T細胞がCD4+細胞と共培養されたとき、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下で生じた。図12Bに示されるように、CAR発現(EGFRt+)のCD4+またはCD8+の頻度が、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下における9日の培養の期間中に増大し、90%超の形質導入細胞(EGFRt+)が9日目での培養物に存在した。CD4+細胞およびCD8+細胞の生存性もまた、培養期間中において100%に近いままであり、CD8+ T細胞のややより大きい生存性が、CD4+ T細胞と共培養されたときに認められた(図12C)。類似する結果が両方のドナーについて認められた。

40

【0580】

形質導入された(EGFRt+)のCD4+細胞またはCD8+細胞におけるPD-1およびCD25の表面発現を、抗IDコンジュゲート化ビーズとの培養の5日目、7日目および9日目にフローサイトメトリーによって評価した。図13Aに示されるように、CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞の両方でのPD-1発現が、抗IDコンジュゲート化ビーズとともに培養された場合、時間と

50

ともに実質的に低下した。図13Bに示されるように、CD25発現もまた、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下における9日間の培養の後で低下した。類似する結果が両方のドナーについて認められた。

【0581】

実施例10 抗イディオタイプ抗体コンジュゲート化ビーズとの培養の後におけるサイトカインレベルおよび表現型の比較

CD3精製のT細胞を2名のドナー患者の末梢血単核球(PBMC)から単離し、FMC63に由来するscFvを有する抗CD19 CARをコードするウイルスベクターによる形質導入に供し、抗CD3抗体被覆ビーズおよびCD28抗体被覆ビーズのいずれかと一緒での培養で増殖した。増殖後、増殖したT細胞を凍結保存によって凍結した。研究のために、凍結T細胞を解凍し、CD4 + T細胞およびCD8 + T細胞を細胞内サイトカインレベルまたは表面表現型について評価し(d=0)、あるいは、解凍したCD4 +、CD8 +、またはCD4 + /CD8 + 共培養のT細胞を抗ID B-1コンジュゲート化ビーズの存在下でさらに9日間培養し、その後、細胞内サイトカインレベルおよび表面マーカー表現型をPMA/イオノマイシンまたはCD19形質導入K562細胞による刺激の後で評価した(d=9)。

10

【0582】

細胞内サイトカインレベルの評価のために、ゴルジ阻害剤を4時間加え、その後、TNF、IFN およびIL-2をフローサイトメトリーによって評価した。すべての条件について、細胞内サイトカイン発現の程度が、CD19形質導入K562細胞によるCAR特異的な刺激と比較した場合、細胞がPMA/イオノマイシンにより刺激されたときの方が実質的に大きかった。図14Aに示されるように、TNF およびIL-2のサイトカインのレベルが、解凍直後のCD4 + またはCD8 + の細胞においては、対応するCD4 + またはCD8 + の細胞、あるいは、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下で9日間さらに培養されたCD4/CD8 T細胞の共培養物と比較して類似していた。IFN の増大したレベルが、解凍直後のCD4 + またはCD8 + のT細胞におけるIFN のレベルと比較して、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下で9日間さらに培養された解凍したCD4 +、CD8 +、またはCD4/CD8共培養のT細胞において認められた。これらの結果から、T細胞機能が抗IDコンジュゲート化ビーズによる9日間の増殖の後で維持されることが明らかにされた。類似する結果が2名のドナーからの細胞において得られた。

20

【0583】

活性化マーカーCD25の表面発現、阻害性受容体のPD-1およびLAG-3の表面発現、ならびに増殖マーカーKi-67の核発現もまた、解凍直後のCD4 + またはCD8 + の細胞(d=0)において、あるいは単独で増殖した、または抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下でのさらに9日間にわたるCD4/CD8共培養物として増殖したCD4 + またはCD8 + のT細胞(d=9)において評価した。図14Bに示されるように、Ki-67ではなく、CD25の低下した発現が、解凍直後のT細胞と比較して、抗IDコンジュゲート化ビーズの存在下で9日間さらに培養された細胞において認められた。CD25の低下した発現は、CD8 + 細胞の方がCD4 + 細胞よりも実質的に大きかった。加えて、PD-1およびLAG-3の低下した発現もまた、解凍直後の細胞における発現と比較して、単独で培養された、または抗IDコンジュゲート化ビーズとの9日間のインキュベーションの後のCD4/CD8共培養物として培養されたCD4 + 細胞およびCD8 + 細胞の両方において認められた。この結果から、抗IDコンジュゲート化ビーズとのインキュベーションの後において、以前に凍結された形質導入細胞は、細胞増殖を示すマーカーKi-67について陽性である細胞の百分率が大きいことによって明白であるように、機能的能力を保持し、しかし、CD25の活性化マーカーと、阻害性受容体マーカーのPD-1およびLAG-3とについての低い表面発現によって特徴づけられる異なる活性化状態もまた示すことが明らかにされた。

30

40

【0584】

実施例11 抗イディオタイプ抗体を用いたCAR発現細胞の検出

FMC63抗体に由来する可変領域を有する抗CD19 scFvと、免疫グロブリンスペーサーと、CD28に由来する膜貫通ドメインと、4-1BBに由来する共刺激領域と、CD3-ゼータの細胞内のシグナリングドメインとを含有する抗CD19 CARを発現するCAR-T細胞を含むT細胞組成物

50

を作製した。CARをコードするウイルス構築物はさらに、T2Aスキップ配列によってCAR配列から隔てられているEGFRt代用マーカをコードした。

【0585】

抗CD19 CARを発現する細胞を、健康者の末梢血単核球（PBMC）を含有する細胞の試料に添加した。得られた細胞組成物を種々の濃度の抗CD19 FMC63 scFv特異的な抗ID B1抗体または抗ID B2抗体とインキュベートした。対照として、それぞれの条件の試料もまた、形質導入細胞でのEGFRt代用マーカを検出することができる所与濃度の抗EGFR抗体とインキュベートした。対照試料には、追加のCAR発現T細胞が加えられない、PBMCを含有するだけである試料が含まれた。幾何平均蛍光強度（MFI）を陽性標識された細胞において定量化して、抗体染色を評価した。

10

【0586】

図15Aに示されるように、両方の抗イデオタイプ抗体により、FMC63に由来する可変領域を含むscFvを有する抗CD19 CARを含むT細胞が濃度依存的様式で検出された。図15Bに示されるように、抗ID B1抗体および抗ID B2抗体により、陽性細胞が、CAR発現細胞を含有する組成物において検出され、PBMCのみを含有する組成物では検出されなかった。EGFRtについての染色では、導入遺伝子を発現する細胞の対PBMC比率がすべての条件にわたって一貫していることが示された。これらの結果から、抗ID B1抗体および抗ID B2抗体は、CARを発現しないヒトPBMCを含有する試料の中でさえ、抗CD19 FMC63 scFv CARを発現する細胞を特異的に検出することができることが確認された。これらの結果は、抗イデオタイプ抗体が、CAR発現細胞を、該抗体によって認識される該CAR発現細胞が投与されたことがある対象からの試料（例えば、ヒト対象から採取される末梢血試料など）において検出して、例えば、そのような細胞の増殖、輸送および/または持続性を対象の様々な組織および/または体液において経時的に測定するために使用され得るという解釈と一致している。

20

【0587】

本発明は、例えば、本発明の様々な態様を例示するために提供される特定の開示された態様に範囲が限定されることは意図されない。記載される組成物および方法に対する様々な改変が本明細書における説明および教示から明らかになるであろう。そのような変形は、本開示の真の範囲および趣旨から逸脱することなく実施され得るし、本開示の範囲内に含まれることが意図される。

30

【0588】

配列

#	配列	注記
1	QVQLQQPGSELVRPGGSVKLSCKASDYTFSTSYWMHWVRQRPGQ GLEWIGNIYPGSGGTNYDEKFKRKATLTVDTSSSTAYMQLRSLTS EDSAVYYCTREVTTVAYYYYSMDYWGQGTSTVTVSS	抗ID VH
2	AKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASST KVDKKIVPRDCGCKKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTVC VVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSEL PIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIP PPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLVNQQSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSL SHSPGK	抗ID CH
3	QVQLQQPGSELVRPGGSVKLSCKASDYTFSTSYWMHWVRQRPGQ GLEWIGNIYPGSGGTNYDEKFKRKATLTVDTSSSTAYMQLRSLTS EDSAVYYCTREVTTVAYYYYSMDYWGQGTSTVTVSSAKTTPPSVYP LAPGSAQAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPA VLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRD CGCKKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTVCVVVDISKDDP EVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSEL PIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIP PPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLVNQQSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSL SHSPGK	抗ID重鎖
4	MGWSSIILFLVATASGVHS	抗ID HCシグナル配列
5	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVK LLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGK TVPFTFGSGTKLEIK	抗ID VL
6	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPKIDINVKWKIDGS ERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTKDEYERHNNYTCEAT HKTSTSPIVKSFNRENEC	抗ID CL
7	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVK LLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGK TVPFTFGSGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFP YPKIDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTLTK DEYERHNNYTCEATHKTSTSPIVKSFNRENEC	抗ID軽鎖
8	MMSSAQFLGLLLLCFQGTRC	抗ID LCシグナル配列
9	SYWMH	抗ID HC-CDR1
10	NIYPGSGGTNYDEKFKR	抗ID HC-CDR2
11	EVTTVAYYYYSMDY	抗ID HC-CDR3
12	RASQDISNYLN	抗ID LC-CDR1
13	YTSRLHS	抗ID LC-CDR2

10

20

30

40

14	QQGKTVPFT	抗ID LC-CDR3	
15	CAGGTCCAACCTGCAACAACCTGGGTCTGAGCTGGTGAGGCCTG GAGGTTCAAGCTGTCTGCAAGGCTTCTGACTACACTTTC ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGAGGCCTGGACAA GGCCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTGGTA CTAACTACGATGAGAAGTTCAAGAGGAAGGCCACACTGACTGT AGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCCGCAGCCTG ACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGAGAGGTTA CTACAGTAGCTTATTACTATTCTATGGACTACTGGGGTCAAGG AACCTCAGTCACCGTCTCCTCA	抗ID VH	
16	GCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTGGAT CTGCTGCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGT CAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCT GGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCA GTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCA GCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACTGCAACGTTGCCACCC GGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGA TTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCAT CTGTCTTCATCTTCCCCCAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATT ACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCA AGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGT GGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTT CAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACC AGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACA GTGCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC CAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTACACCATTCCACCT CCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGATAAAGTCAGTCTGACCTGC ATGATAACAGACTTCTTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGC AGTGAATGGGCAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACACTCAGC CCATCATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCT CAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTTCAC CTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAACCACCATACTGAG AAGAGCCTCTCCACTCTCCTGGTAAATGA	抗ID CH	10 20 30 40
17	CAGGTCCAACCTGCAACAACCTGGGTCTGAGCTGGTGAGGCCTG GAGGTTCAAGCTGTCTGCAAGGCTTCTGACTACACTTTC ACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAGGCAGAGGCCTGGACAA GGCCTTGAGTGGATTGGAAATATTTATCCTGGTAGTGGTGGTA CTAACTACGATGAGAAGTTCAAGAGGAAGGCCACACTGACTGT AGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCCGCAGCCTG ACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACAAGAGAGGTTA CTACAGTAGCTTATTACTATTCTATGGACTACTGGGGTCAAGG AACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACGACACCCCCATCT GTCTATCCACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCCAACTAACTCCAT GGTGACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCA GTGACAGTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGC ACACCTTCCCAGCTGTCTGCACTGTGACCTCTACACTCTGAGC AGCTCAGTGACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCGAGACCG TCACCTGCAACGTTGCCACCCGGCCAGCAGCACCAAGGTGGA CAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATA	抗ID 重鎖	30 40

	TGTACAGTCCCAGAAGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCC GCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAGGTCACG TGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGT TCAGCTGGTTTGTAGATGATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGAC GCAACCCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCGCTCAGTC AGTGAACCTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAGG AGTTCAAATGCAGGGTCAACAGTGCAGCTTTCCTGCCCCAT CGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCTCC ACAGGTGTACACCATTCCACCTCCAAGGAGCAGATGGCCAAG GATAAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAACAGACTTCTTCCCTG AAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAAATGGGCAGCCAGCGG AGAACTACAAGAACACTCAGCCATCATGGACACAGATGGCTC TTACTTCGTCTACAGCAAGCTCAATGTGCAGAAGAGCAACTGG GAGGCAGGAAATACTTTCACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCC TGCACAACCACCATACTGAGAAGAGCCTCTCCACTCTCCTGG TAAATGA		10
18	ATGGGATGGAGCTCTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCCTC AGGTGTCCACTCC	抗ID HC シグナル配列	
19	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCT GGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACAT TAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGA ACTGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAG TCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTC TCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTAC TTTTGTCAGCAGGGTAAAACGGTTCATTACGTTCCGGCTCGG GGACAAAGTTGGAATAAAA	抗ID VL	20
20	CGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAG TGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGA ACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAAGATTGA TGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCTTGAACAGTTGGACTGAT CAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTC ACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACA ACTATACTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAG CTTCAACAGGAATGAGTGTTAG	抗ID CL	30
21	GATATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCT GGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACAT TAGCAATTATTTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGA ACTGTTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAG TCCCATCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTC TCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTAC TTTTGTCAGCAGGGTAAAACGGTTCATTACGTTCCGGCTCGG GGACAAAGTTGGAATAAAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGT ATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAAGCAGTTAACATCTGGAGGT GCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACA ACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGG CGTCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACC TACAGCATGAGCAGCACCCCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATG AACGACATAACA ACTATACTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAG	抗ID 軽鎖	40

22	ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTT CAAGGTACCAGATGT	抗ID LCシグナル配列	
23	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQG LEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSE DSAVYFCARKTISSVVDYFDYWGQGTTVTVSS	SJ25C1 VH	
24	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSP KPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFLTITNVQSKDLADYFCQQ YNRYPYTSGGGTKLEIKR	SJ25C1 VL	
25	GGGGSGGGGSGGGGS	リンカー	
26	GGGGS	4GSリンカー	
27	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP	CD28の細胞外部分	10
28	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQG LEWIGQIYPGDGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSE DSAVYFCARKTISSVVDYFDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQK GQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFLTITNVQSKDLADY FCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	SJ25C1 scFv	
29	GGGS	3GSリンカー	
30	EVKLQESGGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGL EWLGVWIGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDT AIYYCAKHYYGGSYAMDYWGQGTSTVTVSS	FMC63 VH	
31	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLWYQQKPDGTVK LLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGN TLPYTFGGGTKLEIT	FMC63 VL	20
32	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	ヒンジを欠く IgG1 Fc	
33	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	リンカー	
34	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLWYQQKPDGTVK LLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGN TLPYTFGGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGGLVA PSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYGG SYAMDYWGQGTSTVTVSS	FMC63 scFv	30
35	DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLWYQQKPDGTVK LLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGN TLPYTFGGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGGLVA PSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYGG SYAMDYWGQGTSTVTVSSPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK	FMC63 試薬	40
36	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKWVKQCHGK	抗ID B-1 VH	

	SLEWIGDINPNNGGTDYDYNQNFKGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTS EDSAVYYCAREGNNGSRDAMDYWGQGTSTVTVSS	
37	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST KVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLS PIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQTTHREDYNSTL RVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSGDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGL HNHHTTKSFSRTPGK	抗ID B-1 CH
38	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKWVKQCHGK SLEWIGDINPNNGGTDYDYNQNFKGKATLTVDKSSSTAYMQLNSLTS EDSAVYYCAREGNNGSRDAMDYWGQGTSTVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVD VSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQQTTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFS RTPGK	抗ID B-1 重鎖
39	MGWSWIFLFLLSGTAGVLS	抗ID B-1 HC シグナル配列
40	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSGVIYMYWYQQKPRSSPKP WIYLTSLNASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQW SSNPLTFGAGTKLELK	抗ID B-1 VL
41	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNFPKIDINVKWKIDGS ERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEAT HKTSTSPIVKSFRNEC	抗ID B-1 CL
42	QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSGVIYMYWYQQKPRSSPKP WIYLTSLNASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQW SSNPLTFGAGTKLELKRAADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLT TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFRNEC	抗ID B-1 軽鎖
43	MDFQVQIFSLLMSASVIMSRG	抗ID B-1 LC シグナル配列
44	DYYMK	抗ID B-1 HC- CDR1
45	DINPNNGGTDYDYNQNFKG	抗ID B-1 HC- CDR2
46	EGNNYGSRDAMDY	抗ID B-1 HC- CDR3
47	SASSGVIYMY	抗ID B-1 LC- CDR1
48	LTSNLAS	抗ID B-1 LC- CDR2
49	QQWSSNPLT	抗ID B-1 LC- CDR3
50	GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTG	抗ID B-1 VH

10

20

30

40

	<p>GGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATT CACTGACTACTACATGAAGTGGGTGAAGCAGTGTCATGGAAAG AGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTA CTGACTACAACCAGAACTTTAAGGGCAAGGCCACATTGACTGT AGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGCCTG ACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGGGGA ATAACTACGGTAGTAGAGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGG AACGTCAGTCACCGTCTCCTCA</p>	
51	<p>GCCAAAACAACAGCCCCATCGGTCTATCCACTGGCCCCTGTGT GTGGAGATACTGGCTCCTCGGTGACTCTAGGATGCCTGGT CAAGGGTTATTTCCCTGAGCCAGTGACCTTGACCTGGAACCTCT GGATCCCTGTCCAGTGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCA GTCTGACCTCTACACCCTCAGCAGCTCAGTGACTGTAACCTCG AGCACCTGGCCCAGCCAGTCCATCACCTGCAATGTGGCCCACC CGGCAAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGAGCCCAGAG GGCCCACAATCAAGCCCTGTCCTCCATGCAAATGCCCAGCACCC TAACCTCTTGGGTGGACCATCCGTCTTCATCTTCCCTCCAAAGA TCAAGGATGTAATCATGATCTCCCTGAGCCCCATAGTCACATGT GTGGTGGTGGATGTGAGCGAGGATGACCCAGATGTCCAGATCA GCTGGTTTGTGAACAACGTGGAAGTACACACAGCTCAGACACA AACCCATAGAGAGGATTACAACAGTACTCTCCGGGTGGTCACT GCCCTCCCCATCCAGCACCAAGGACTGGATGAGTGGCAAGGAGT TCAAATGCAAGGTCAACAACAAGACCTCCCAGCGCCCATCGA GAGAACCATCTCAAACCCAAAGGGTCAGTAAGAGCTCCACA GGTATATGTCTTGCCCTCACCAGAAGAAGAGATGACTAAGAAA CAGGTCACTCTGACCTGCATGGTCCACAGACTTCATGCCTGAAG ACATTTACGTGGAGTGGACCAACAACGGGAAAACAGAGCTAA ACTACAAGAACACTGAACCAGTCTGGACTCTGATGGTTCTTA CTTCATGTACAGCAAGCTGAGAGTGGAAAAGAAGAACTGGGT GGAAAGAAATAGCTACTCCTGTTTCAGTGGTCCACGAGGGTCTG CACAATCACCACACGACTAAGAGCTTCTCCCGGACTCCGGGTA AA</p>	<p>抗ID B-1 CH</p>
52	<p>GAGGTCCAGCTGCAACAATCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTG GGGCTTCAGTGAAGATGTCCTGTAAGGCTTCTGGATACACATT CACTGACTACTACATGAAGTGGGTGAAGCAGTGTCATGGAAAG AGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTAATCCTAACAATGGTGGTA CTGACTACAACCAGAACTTTAAGGGCAAGGCCACATTGACTGT AGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAGCTCAACAGCCTG ACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGAGGGGA ATAACTACGGTAGTAGAGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGG AACGTCAGTCACCGTCTCCTCAGCCAAAACAACAGCCCCATCG GTCTATCCACTGGCCCCTGTGTGTGGAGATACTGGCTCCTC GGTGACTCTAGGATGCCTGGTCAAGGGTTATTTCCCTGAGCCA GTGACCTTGACCTGGAACCTCTGGATCCCTGTCCAGTGGTGTGC ACACCTTCCCAGCTGTCTGTCAGTCTGACCTCTACACCCTCAGC AGCTCAGTGACTGTAACCTCGAGCACCTGGCCCAGCCAGTCCA TCACCTGCAATGTGGCCCACCCGGCAAGCAGCACCAAGGTGGA CAAGAAAATTGAGCCCAGAGGGGCCACAATCAAGCCCTGTCCT CCATGCAAATGCCCAGCACCTAACCTCTTGGGTGGACCATCCG</p>	<p>抗ID B-1 重鎖</p>

10

20

30

40

	TCTTCATCTTCCCTCCAAAGATCAAGGATGTACTCATGATCTCC CTGAGCCCCATAGTCACATGTGTGGTGGTGGATGTGAGCGAGG ATGACCCAGATGTCCAGATCAGCTGGTTTGTGAACAACGTGGA AGTACACACAGCTCAGACACAAACCCATAGAGAGGATTACAA CAGTACTCTCCGGGTGGTCAGTGCCCTCCCCATCCAGCACCAG GACTGGATGAGTGGCAAGGAGTTCAAATGCAAGGTCAACAAC AAAGACCTCCAGCGCCCATCGAGAGAACCATCTCAAAACCCA AAGGGTCAGTAAGAGCTCCACAGGTATATGTCTTGCCTCCACC AGAAGAAGAGATGACTAAGAAACAGGTCCTCTGACCTGCAT GGTCACAGACTTCATGCCTGAAGACATTTACGTGGAGTGGACC ACAACGGGAAAACAGAGCTAAACTACAAGAACACTGAACCA GTCCTGGACTCTGATGGTTCTTACTTCATGTACAGCAAGCTGAG AGTGGAAAAGAAGAAGTGGGTGGAAAGAAATAGCTACTCCTG TTCAGTGGTCCACGAGGGTCTGCACAATCACCACACGACTAAG AGCTTCTCCCGGACTCCGGGTAAA		10
53	ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCTCTTGTGTCAGGAAGTGC AGGTGTCCTCTCT	抗ID B-1 HC シグナル配列	
54	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCACTCATGTCTGCATCTCC AGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAGGTGTA ATTTACATGTACTGGTACCAACAGAAGCCAAGATCCTCCCCCA AACCTGGATTTATCTCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCT GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTACTCTCTCAC AATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGC CAGCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGCACCA AGCTGGAGCTGAAA	抗ID B-1 VL	20
55	CGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAG TGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGA ACAATTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAAGATTGA TGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACTGAT CAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTC ACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCT GTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAG CTTCAACAGGAATGAGTGT	抗ID B-1 CL	
56	CAAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCACTCATGTCTGCATCTCC AGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAGGTGTA ATTTACATGTACTGGTACCAACAGAAGCCAAGATCCTCCCCCA AACCTGGATTTATCTCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCT GCTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACCTTTACTCTCTCAC AATCAGCAGCATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGC CAGCAGTGGAGTAGTAACCCGCTCACGTTCCGGTGCTGGCACCA AGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTATCCAT CTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCA GTCGTGTGCTTCTTGAACAACCTTCTACCCCAAAGACATCAATGT CAAGTGGAAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCCT GAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAG CATGAGCAGCACCCCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGA CATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTT CACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT	抗ID B-1 軽鎖	30
57	ATGGATTTTCAAGTGCAGATTTTCAGCTTCTGCTAATGAGTGC CTCAGTCATAATGTCCAGGGGA	抗ID B-1 LC シグナル配列	40

58	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKTSGYSFTRYWMNWVKQRPGQ GLEWIGMIHPSDSETRLNQQKFKDKATLTVDNSSSTAYMQLSSPTS EDSAVYYCASIIYEEAWGQGTLVTVSA	抗ID B-2 VH	
59	AKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGS LSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASST KVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTC VVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSEL PIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIP PPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNNHTEKSL SHSPGK	抗ID B-2 CH	
60	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKTSGYSFTRYWMNWVKQRPGQ GLEWIGMIHPSDSETRLNQQKFKDKATLTVDNSSSTAYMQLSSPTS EDSAVYYCASIIYEEAWGQGTLVTVSAAKTTPPSVYPLAPGSA QTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDL YTLSSSVTVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPC ICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTCVVVDISKDDPEVQFSW FVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCR VNSAAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCM ITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGSYFVYSKLNQ KSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNNHTEKSLSHSPGK	抗ID B-2 重鎖	10
61	MGWSSIILFLVATATGVHS	抗ID B-2 HC シグナル配列	20
62	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQ LLVYNAKTLADSVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYQCQHF WSTPYTFGGGKLEIK	抗ID B-2 VL	
63	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQ LLVYNAKTLADSVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYQCQHF WSTPYTFGGGKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN NFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTL TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNREC	抗ID B-2 軽鎖	
64	MSVLTQVLALLLWLTGARC	抗ID B-2 LC シグナル配列	
65	RYWMN	抗ID B-2 HC- CDR1	30
66	MIHPSDSETRLNQQKFKD	抗ID B-2 HC- CDR2	
67	IYYEEA	抗ID B-2 HC- CDR3	
68	RASGNIHNYLA	抗ID B-2 LC- CDR1	
69	NAKTLAD	抗ID B-2 LC- CDR2	
70	QHFWSPTYT	抗ID B-2 LC- CDR3	
71	CAGGTCCAACCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTG GAGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGACTTCTGGCTACTCCTTC ACCAGGTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAA	抗ID B-2 VH	40

	<p>GGCCTTGAGTGGATTGGCATGATTCATCCTTCCGATAGTGAAA CTAGGTTAAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTGT AGACAATTCCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCCG ACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGCATCTACTA TGAAGAGGCCTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA</p>	
72	<p>GCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTGGAT CTGCTGCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGT CAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCT GGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCA GTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCA GCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACTGCAACGTTGCCACCC GGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGA TTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCAT CTGTCTTCATCTTCCCCCAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATT ACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCA AGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGT GGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTT CAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACC AGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACA GTGCAGCTTTCCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC CAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTACACCATTCCACCT CCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGATAAAGTCAGTCTGACCTGC ATGATAACAGACTTCTTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGC AGTGGAATGGGCAGCCAGCGGAGA ACTACAAGA AACTCAGC CCATCATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCT CAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTTCAC CTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAACCACCATACTGAG AAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAA</p>	<p>抗ID B-2 CH</p>
73	<p>CAGGTCCAACCTGCAGCAGCCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTG GAGCTTCAGTGAAGCTGTCTGCAAGACTTCTGGCTACTCCTTC ACCAGGTACTGGATGAACTGGGTGAAGCAGAGGCCTGGACAA GGCCTTGAGTGGATTGGCATGATTCATCCTTCCGATAGTGAAA CTAGGTTAAATCAGAAGTTCAAGGACAAGGCCACATTGACTGT AGACAATTCCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCCG ACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGCATCTACTA TGAAGAGGCCTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA GCCAAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTGGAT CTGCTGCCAAACTAACTCCATGGTGACCCTGGGATGCCTGGT CAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACCTCT GGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCA GTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCCTCCA GCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACTGCAACGTTGCCACCC GGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGA TTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGAAGTATCAT CTGTCTTCATCTTCCCCCAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATT ACTCTGACTCCTAAGGTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCA AGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATGATGT GGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTT CAACAGCACTTTCCGCTCAGTCAGTGAACCTCCCATCATGCACC</p>	<p>抗ID B-2 重鎖</p>

10

20

30

40

	AGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACA GTGCAGCTTTCCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC CAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGGTGTACACCATTCCACCT CCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGATAAAGTCAGTCTGACCTGC ATGATAACAGACTTCTTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGC AGTGGAAATGGGCAGCCAGCGGAGAACTACAAGAACAACACTCAGC CCATCATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCT CAATGTGCAGAAGAGCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTTAC CTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAACCACCATACTGAG AAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAA		
74	ATGGGATGGAGCTCTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTAC AGGTGTCCACTCC	抗ID B-2 HC シグナル配列	10
75	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGT GGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGGGAATATT CACAATTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTC CTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAACCTTAGCAGATAGTGT GCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGAACACAATATTCT CTCAAGATCAACAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAGTTATT ACTGTCAACATTTTGGAGTACTCCGTACACGTTTCGGAGGGGG GACCAAGCTGGAAATAAAA	抗ID B-2 VL	
76	GACATCCAGATGACTCAGTCTCCAGCCTCCCTATCTGCATCTGT GGGAGAACTGTCACCATCACATGTCGAGCAAGTGGGAATATT CACAATTATTTAGCATGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAATCTC CTCAGCTCCTGGTCTATAATGCAAAAACCTTAGCAGATAGTGT GCCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGAACACAATATTCT CTCAAGATCAACAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGGGAGTTATT ACTGTCAACATTTTGGAGTACTCCGTACACGTTTCGGAGGGGG GACCAAGCTGGAAATAAAAACGGGCTGATGCTGCACCAACTGTA TCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTG CCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCTACCCCAAAGACATC AATGTCAAGTGGGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGC GTCCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCT ACAGCATGAGCAGCACCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGA ACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCA ACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGT	抗ID B-2 軽鎖	20 30
77	ATGAGTGTGCTCACTCAGGTCCTGGCGTTGCTGCTGCTGTGGCT TACAGGTGCCAGATGT	抗ID B-2 LC シグナル配列	
78	DYTFTSY	抗ID HC-CDR1	
79	DYTFTSYWMH	抗ID HC-CDR1	
80	TSYWMH	抗ID HC-CDR1	
81	YPGSGG	抗ID HC-CDR2	
82	NIYPGSGGTN	抗ID HC-CDR2	
83	WIGNIYPGSGGTN	抗ID HC-CDR2	
84	TREVTTVAYYYSMD	抗ID HC-CDR3	
85	SNYLNWY	抗ID LC-CDR1	40
86	LLIYYTSRLH	抗ID LC-CDR2	
87	QQGKTVPF	抗ID LC-CDR3	
88	GYTFTDY	抗ID B-1 HC- CDR1	

89	GYTFTDYMK	抗ID B-1 HC- CDR1	
90	TDYMK	抗ID B-1 HC- CDR1	
91	NPNNGG	抗ID B-1 HC- CDR2	
92	DINPNNGGTD	抗ID B-1 HC- CDR2	
93	WIGDINPNNGGTD	抗ID B-1 HC- CDR2	
94	AREGNNYGSRDAMD	抗ID B-1 HC- CDR3	10
95	IYMYWY	抗ID B-1 LC- CDR1	
96	PWIYLTSNLA	抗ID B-1 LC- CDR2	
97	QQWSSNPL	抗ID B-1 LC- CDR3	
98	GYSFTRY	抗ID B-2 HC- CDR1	
99	GYSFTRYWMN	抗ID B-2 HC- CDR1	20
100	TRYWMN	抗ID B-2 HC- CDR1	
101	HPSDSE	抗ID B-2 HC- CDR2	
102	MIHPSDSETR	抗ID B-2 HC- CDR2	
103	WIGMIHPSDSETR	抗ID B-2 HC- CDR2	
104	ASIYYEE	抗ID B-2 HC- CDR3	
105	HNYLAWY	抗ID B-2 LC- CDR1	30
106	LLVYNAKTLA	抗ID B-2 LC- CDR2	
107	QHFWSPTY	抗ID B-2 LC- CDR3	
108	GYX ₃ FX ₅ X ₆ YX ₈ MX ₁₀ X ₃ = T または S; X ₅ = T または S; X ₆ = D または R; X ₈ = Y または W; X ₁₀ = K または N	HC-CDR1 コンセンサス	
109	WIGX ₄ IX ₆ PX ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ TX ₁₃ X ₁₄ NQX ₁₇ FKX ₂₀ X ₄ = D または M; X ₆ = N または H; X ₈ = N または S;	HC-CDR2 コンセンサス	40

	<p>X₉ = N または D; X₁₀ = G または S; X₁₁ = G または E; X₁₃ = D または R; X₁₄ = Y または L; X₁₇ = N または K; X₂₀ = G または D</p>		
110	<p>AX₂X₃X₄X₅X₆ X₇X₈ X₉ X₁₀X₁₁ X₁₂ X₁₃ X₁₄ X₁₅ X₂ = R または S; X₃ = E または I; X₄ = G または Y; X₅ = N または Y; X₆ = N または E; X₇ = Y または ヌル; X₈ = G または ヌル; X₉ = S または ヌル; X₁₀ = R または ヌル; X₁₁ = D または ヌル; X₁₂ = A または ヌル; X₁₃ = M または ヌル; X₁₄ = D または E; X₁₅ = Y または A</p>	HC-CDR3 コンセンサス	10
111	<p>X₁AX₃X₄X₅X₆ X₇X₈ YX₁₀X₁₁WY X₁ = S または R; X₃ = S または R; X₄ = S または G; X₅ = G または N; X₆ = V または I; X₇ = I または H; X₈ = N または ヌル; X₁₀ = M または L; X₁₁ = Y または A</p>	LC-CDR1 コンセンサス	20
112	<p>X₁X₂X₃YX₅X₆ X₇X₈ LAX₁₁ X₁ = P または L; X₂ = W または L; X₃ = I または V; X₅ = L または N; X₆ = T または A; X₇ = S または K; X₈ = N または T; X₁₁ = S または D</p>	LC-CDR2 コンセンサス	30
113	<p>QX₂X₃X₄X₅X₆PX₈T X₂ = Q または H; X₃ = W または F; X₄ = S または W; X₅ = S または W; X₆ = N または T; X₈ = L または Y</p>	LC-CDR3 コンセンサス	40
114	SYWMN	SJ25C1 HC-CDR1	

115	QIYPGDGDTNYNGKFKG	SJ25C1 HC-CDR2	
116	KTISSVVDYFDY	SJ25C1 HC-CDR3	
117	KASQNVGTNVA	SJ25C1 LC-CDR1	
118	SATYRNS	SJ25C1 LC-CDR2	
119	QQYNRYPYT	SJ25C1 LC-CDR3	
120	DYGVVS	FMC63 HC-CDR1	
121	VIWGSETTYYNNSALKS	FMC63 HC-CDR2	
122	HYYYGGSYAMDY	FMC63 HC-CDR3	
123	RASQDISKYLN	FMC63 LC-CDR1	
124	HTSRLHS	FMC63 LC-CDR2	
125	QQGNTLPYT	FMC63 LC-CDR3	10
126	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A	
127	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A	
128	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A	
129	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A	
130	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A	
131	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A	
132	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVS DYTFTSY GVHWVRQSPGKGLEWLGVI YPGSGG TDYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR EVTTVAYYYYSMDY WGQGTLVTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 SJ25C1重鎖	20
133	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSC RASQDISNYLN WYQQRRTNGSPRLLIK YTSRLHS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QQGKTVPF FGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	例示的なヒト化抗 SJ25C1 軽鎖	30
134	QVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSL TSYWMH WVRQSPGKGLE WIGNIYPGSGGTN YNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYC TREVTTVAYYYYSMD YWGQGTLVTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 SJ25C1重鎖	40

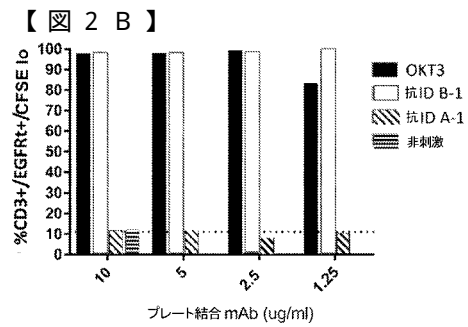
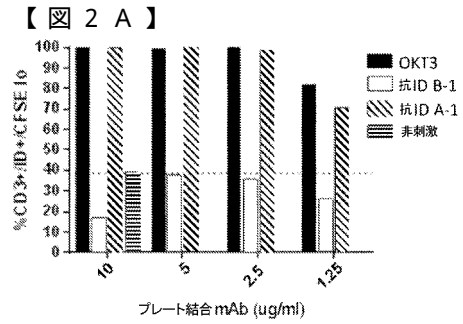
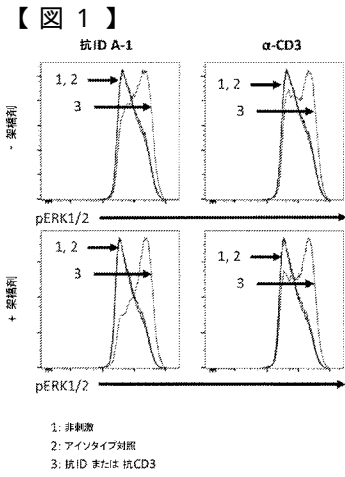
135	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSI SNYLNWY QQRTNGSPR LLIYYTSRLH SGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QQGKTVPF TFGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	例示的なヒト化抗 SJ25C1軽鎖	
136	QVQLKQSGPGLVQPSQLSITCTVSGFSLT SYWMH WVRQSPGKGLEWLG NIYPGSGGTNYDEKFKR RLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR EVTTVAYYYSDMY WGQGTLTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 SJ25C1重鎖	10
137	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSC RASQDISNYLN WYQQRTNGSPRLLIK YTSRLHS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QQGKTVPFT FGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	例示的なヒト化抗 SJ25C1軽鎖	20
138	QVQLKQSGPGLVQPSQLSITCTVS GYTFTDY GVHWVRQSPGKGLEWLGVI NPNNGG TDYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR EGNNYGSRDAMDY WGQGTLTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 FMC63重鎖	30
139	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSC SASSGVIYMY WYQQRTNGSPRLLIK LTSNLAS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QQWSSNPLT FGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGL LSSPVTKSFNRGEC	例示的なヒト化抗 FMC63軽鎖	
140	QVQLKQSGPGLVQPSQLSITCTVSGFSLT DYYMK WVRQSPGKGLEWLG DINPNNGGTDYNQNFKG RLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR EGNNYGSRDAMDY WGQGTLTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT	例示的なヒト化抗 FMC63重鎖	40

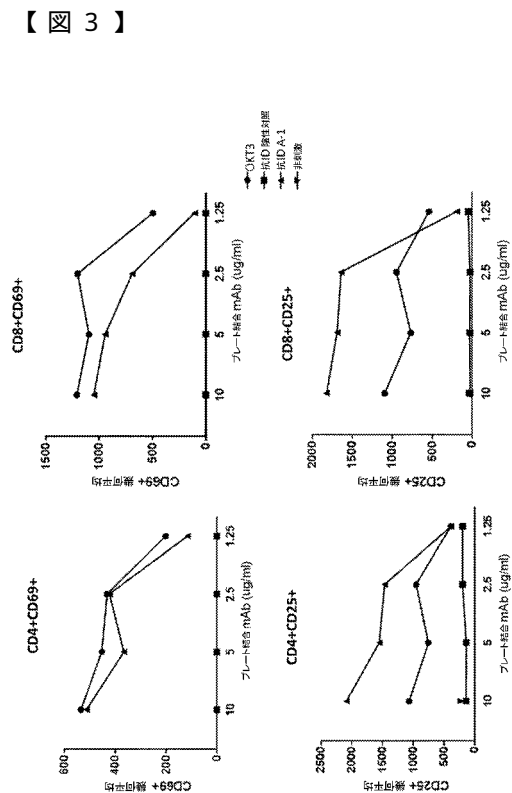
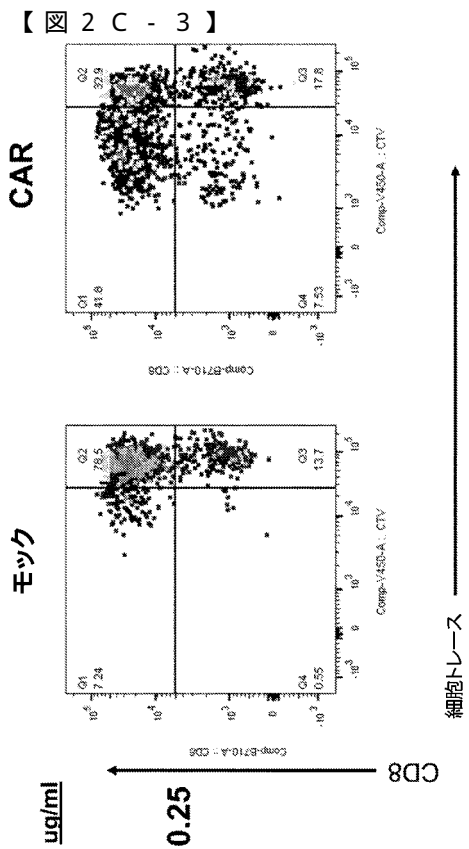
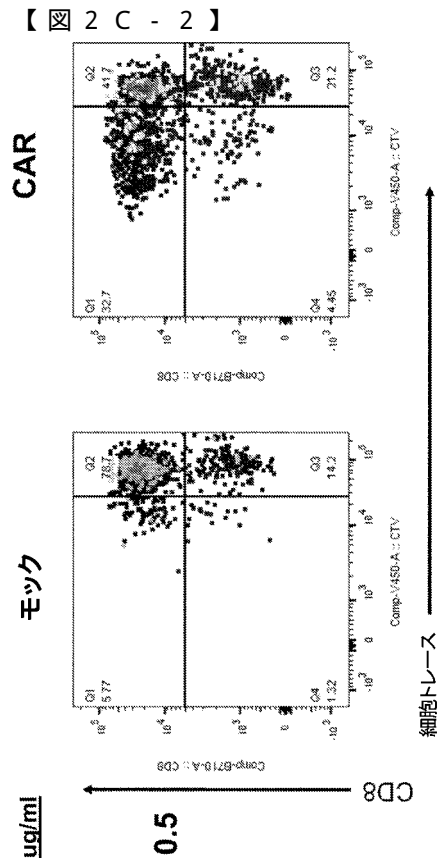
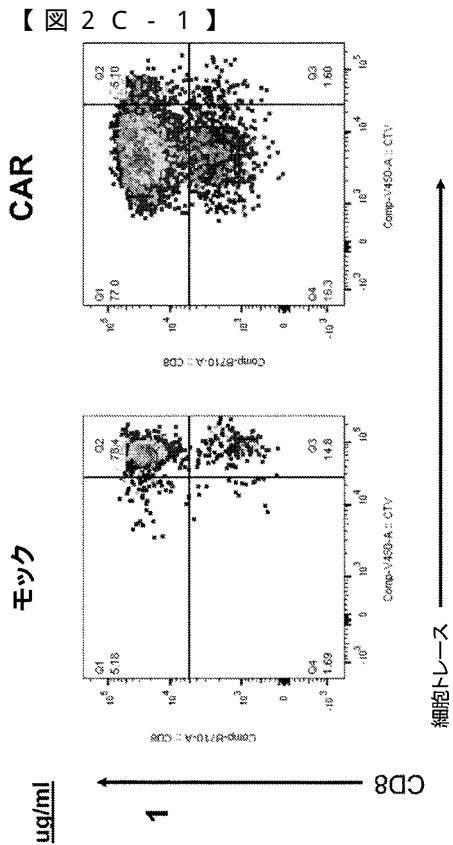
	SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK		
141	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSC SASSGVIYMY WYQQRRTNGSPRLLIK LTSNLAS GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QWSSNPLT FGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	例示的なヒト化抗 FMC63 軽鎖	10
142	QVQLKQSGPGLVQPSQLSITCTVSGFSL TDYYMK WVRQSPGKGLE WIGDINPNNGGTD YNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYC AREGNNYGSRDAMD YWGQGLTVTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 FMC63 重鎖	20
143	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSI IYMYWY QQRRTNGSPR PWIYLTSNLA SGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QWSSNPL TFGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	例示的なヒト化抗 FMC63 軽鎖	
144	QVQLKQSGPGLVQPSQLSITCTVS GYSFTRY GVHWVRQSPGKGLEWLGVI HPSDSE TDYNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR IYYEEA WGQGLTVTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 FMC63 重鎖	30
145	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSC RASGNIHNYLA WYQQRRTNGSPRLLIK NAKTLAD GIPSRFSGSGSGTDFTLINSVESEDIADYYC QHFWSTPYT FGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ	例示的なヒト化抗 FMC63 軽鎖	40

	SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC		
146	QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSLT RYWMN WVRQSPGKGLEWLG MIHPSDSETRLNQKFKD RLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCAR IYYEEA WGQGLVTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 FMC63 重鎖	10
147	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSC RASGNIHNYLA WYQQRNGSPRLLIK NAKTLAD GIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC QHFWSTPYT FGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	例示的なヒト化抗 FMC63 軽鎖	
148	QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSL TRYWMN WVRQSPGKGLE WIGMIHPSDSETR YNTPFTRSLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYC ASIYYEE YWGQGLVTVSA TLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	例示的なヒト化抗 FMC63 重鎖	20
149	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSI HNYLAWY QQRNGSPR LLVYNAKTLA SGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESEDIADYYC QHFWSTPY TFGAGTKLELKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	例示的なヒト化抗 FMC63 軽鎖	30
150	ESKYGPPCPPCP	スペーサー (IgG4ヒンジ) (aa) ヒト (Homo sapiens)	
151	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCTTGCCCT	スペーサー (IgG4ヒンジ) (nt) ヒト	
152	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQE GNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK	ヒンジ-CH3 スペーサー ヒト	40

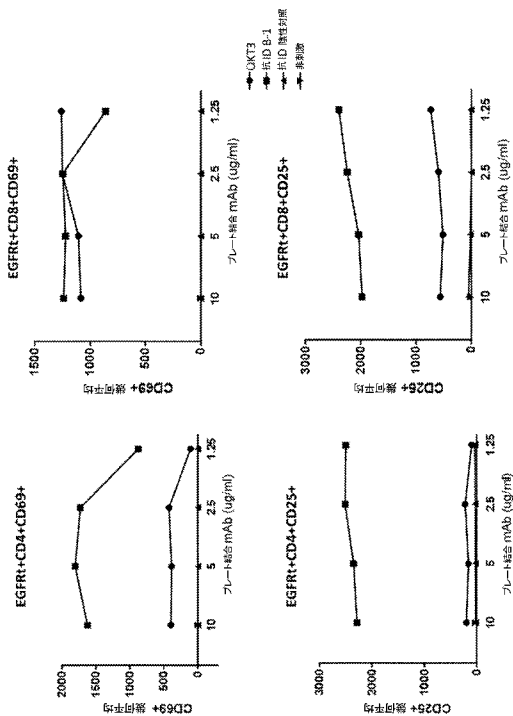
153	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK	ヒンジ-CH2-CH3 スパーサー ヒト	
154	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEK KKEKEKEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKAT FTCFVVGSDLKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQH SRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAQAQAPVKLS LNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPNILLMWLEDQREVNTSGFAP ARPPPQGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQATYTCVVSHEDSRTLLN ASRSLEVSyvTDH	IgD-ヒンジ-Fc ヒト	10
155	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSIGDLHILPVAFRGDS FTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIR GRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVHISGNKNLCYAN TINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGP EPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLP QAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVW KYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCP TNGPKIPSIATGMVG ALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR 人工物	
156	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKH KNCTSIGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLI QAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSL KEISDGDVHISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENS KATGQVCHALCSPEGCWGP EPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLE GEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGP HCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGP GLEGCP TNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR 人工物	20
157	FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (アクセシオン番号 P10747のアミノ酸153~179) ヒト	30
158	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKP FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV	CD28 (アクセシオン番号 P10747のアミノ酸114~179) ヒト	
159	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (P10747のアミノ酸 180~220) ヒト	
160	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL→GG) ヒト	
161	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL	4-1BB (Q07011.1の アミノ酸214~255) ヒト	40
162	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDH	CD3ゼータ ヒト	

	GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	
163	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDH GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	CD3ゼータ ヒト
164	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPE MGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDH GLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR	CD3ゼータ ヒト

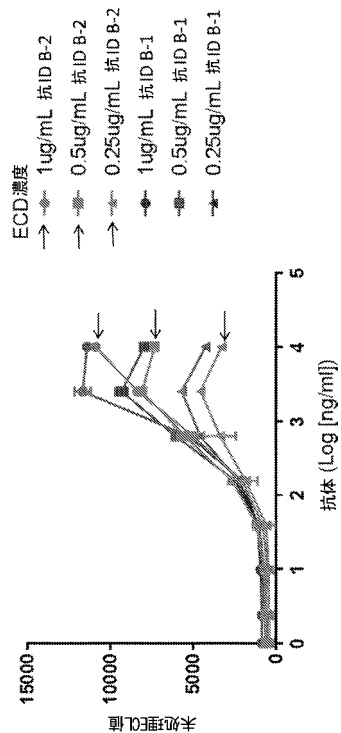




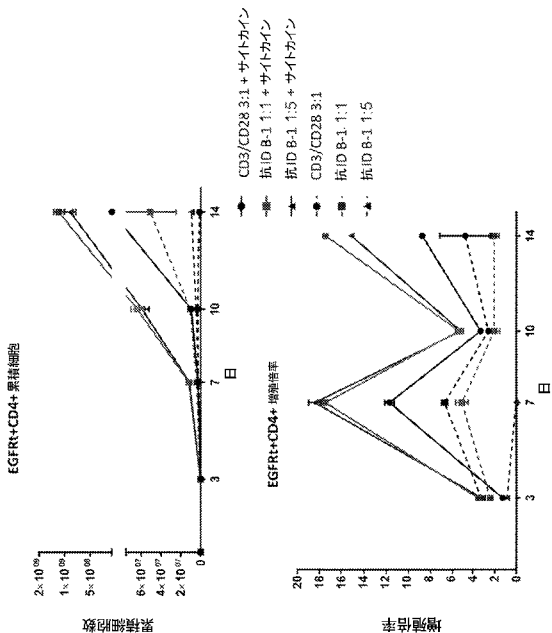
【 図 4 】



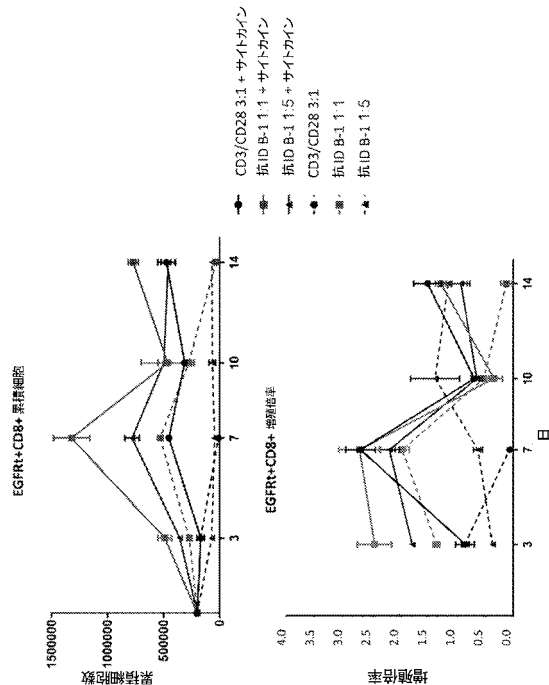
【 図 5 】



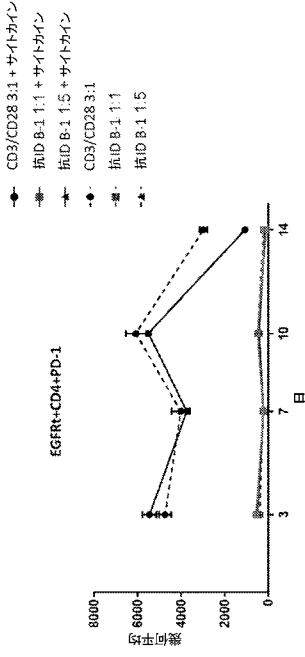
【 図 6 】



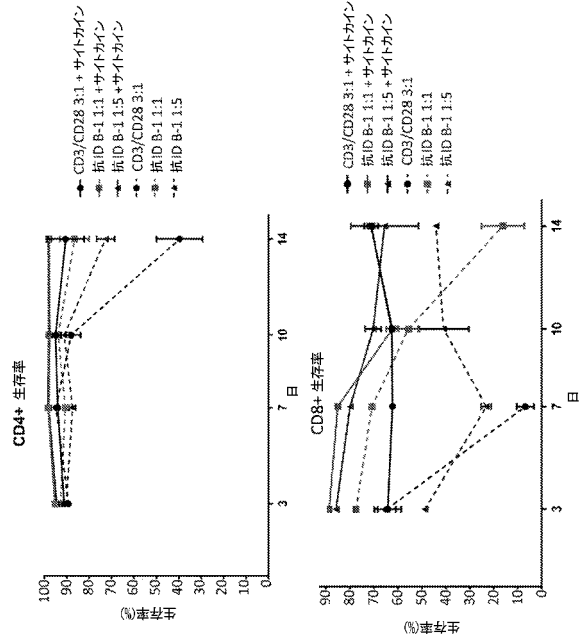
【 図 7 】



【 図 8 】

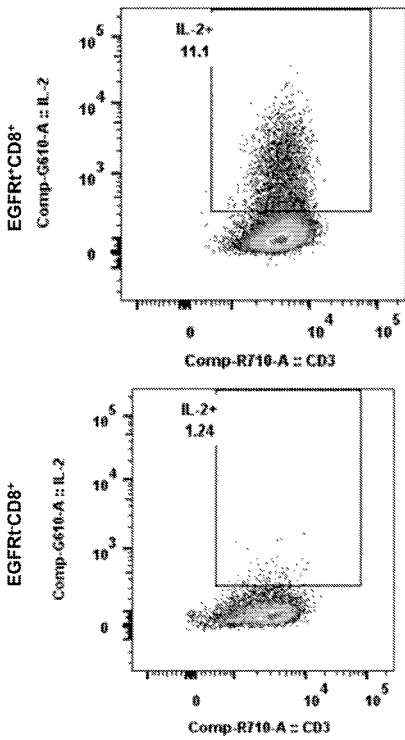


【 図 9 】



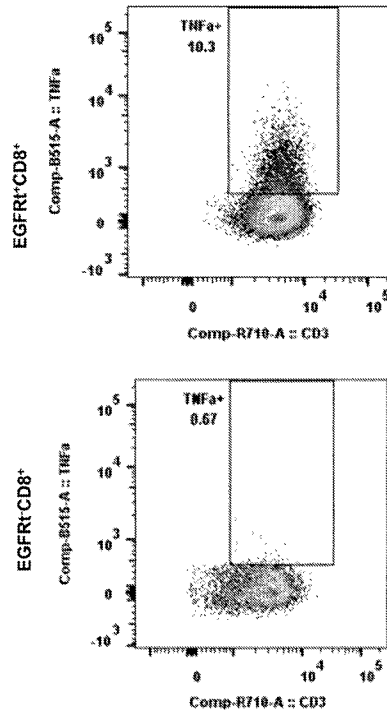
【 図 10 A - 1 】

IL-2



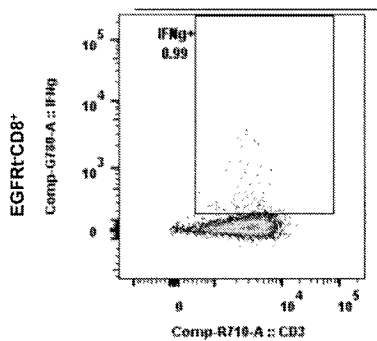
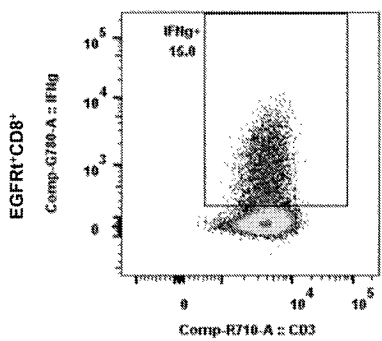
【 図 10 A - 2 】

TNF α



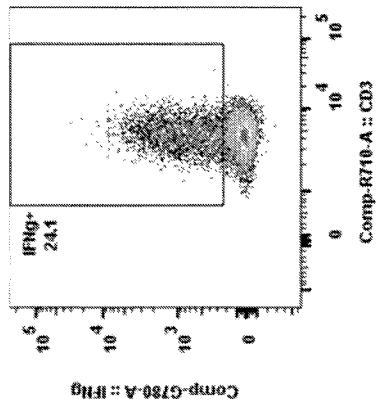
【 10 A - 3 】

IFN γ



【 10 B - 2 】

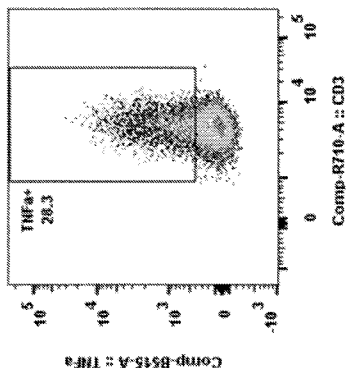
IFN γ



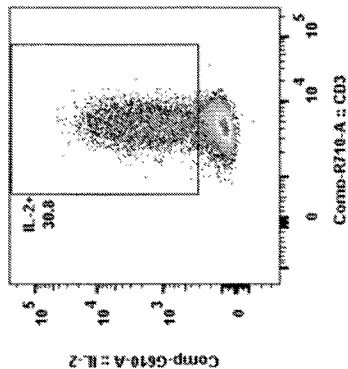
K562-CD19 (E:T = 1:2)

【 10 B - 1 】

TNF α



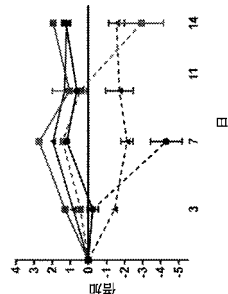
IL-2



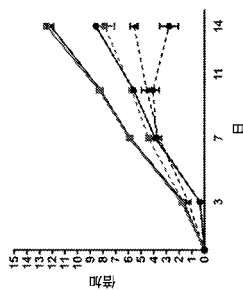
K562-CD19 (E:T = 1:2)

【 11 】

EGFR+CD8+

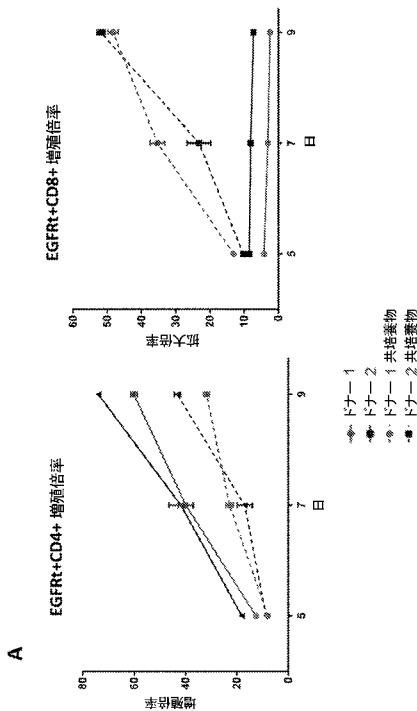


EGFR+CD4+

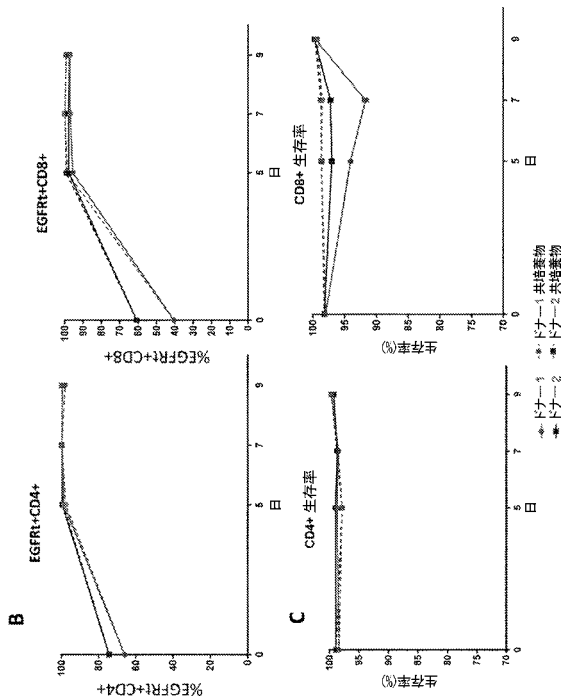


- CD3/CD28 3:1 + サイトカイン
- 抗ID B-1.1:1 + サイトカイン
- ▲ 抗ID B-1.1:5 + サイトカイン
- CD3/CD28 3:1
- 抗ID B-1.1:1
- ▲ 抗ID B-1.1:5

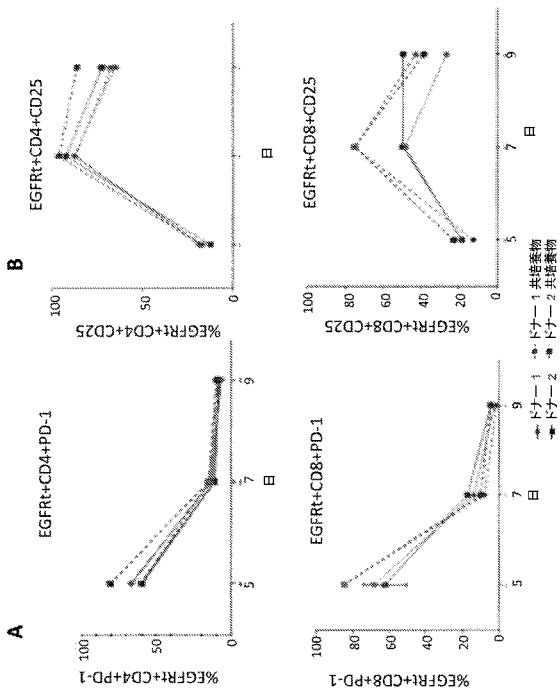
【図 1 2 - 1】



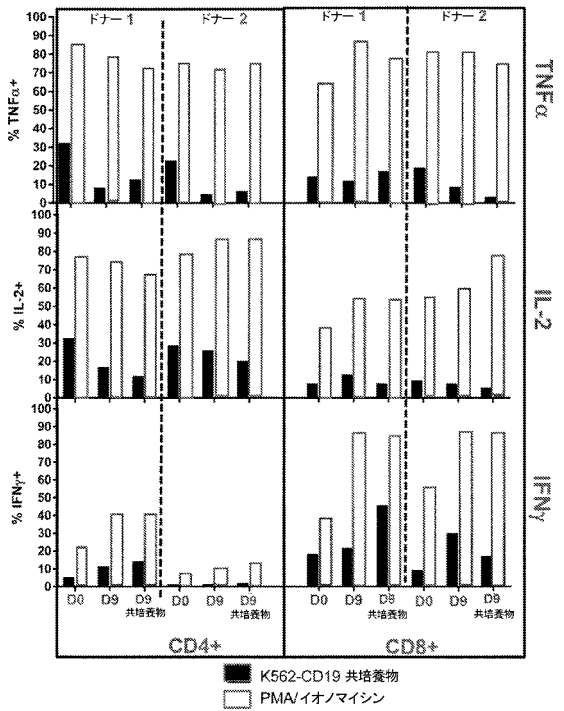
【図 1 2 - 2】



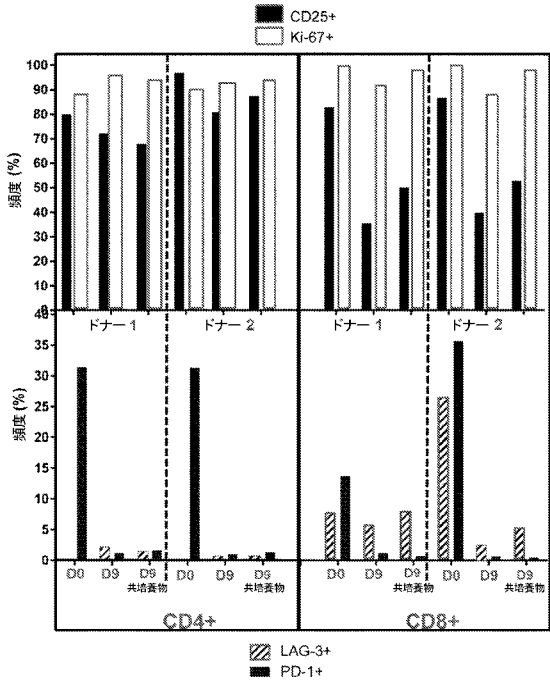
【図 1 3】



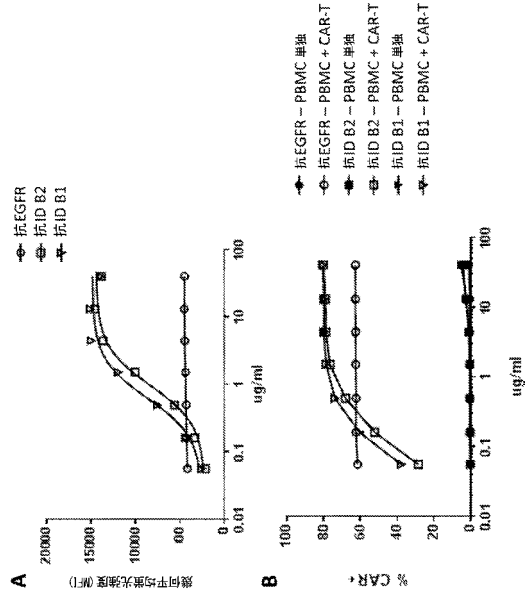
【図 1 4 A】



【 図 1 4 B 】



【 図 1 5 】



【 配 列 表 】

2019527553000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/044560

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	
INV. C07K16/28 C07K16/42 G01N33/00 ADD.	
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC	
B. FIELDS SEARCHED	
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K	
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched	
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data	
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
	Relevant to claim No.
X	BIPULENDU JENA ET AL: "Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Specific Monoclonal Antibody to Detect CD19-Specific T Cells in Clinical Trials", PLOS ONE, vol. 8, no. 3, 1 March 2013 (2013-03-01), page e57838, XP055122892, DOI: 10.1371/journal.pone.0057838 abstract; figure 6 ----- -/--
	12-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85,86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143,144, 147-164, 166-170, 176,177
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.
<input checked="" type="checkbox"/>	See patent family annex.
* Special categories of cited documents :	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
8 January 2018	02/02/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Saame, Tina

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/044560

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>W0 2014/190273 A1 (UNIV TEXAS [US]) 27 November 2014 (2014-11-27)</p> <p>example 2; table 2</p>	<p>12-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85,86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143,144, 147-164, 166-170, 176,177</p>
A	<p>----- DATABASE Geneseq [Online] 10 October 2013 (2013-10-10), "Anti-IgE mAb light chain variable region, SEQ ID 2.", XP002775184, retrieved from EBI accession no. GSP:BAS38022 Database accession no. BAS38022</p> <p>sequence</p>	<p>12-24, 26, 28-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85,86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143,144, 147-164, 166-170, 176,177</p>
A	<p>----- DATABASE Geneseq [Online] 13 August 2015 (2015-08-13), "Anti-LING01 antibody heavy chain variable region, SEQ ID 63.", XP002775185, retrieved from EBI accession no. GSP:BCB30778 Database accession no. BCB30778</p> <p>sequence</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	<p>12-24, 26, 28-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85,86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143,144, 147-164, 166-170, 176,177</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2017/044560

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE Geneseq [Online]</p> <p>26 February 2015 (2015-02-26), "Mouse anti-tau antibody F11G3 heavy chain variable region, SEQ ID 11.", XP002777043, retrieved from EBI accession no. GSP:BBT47915 Database accession no. BBT47915</p> <p>sequence -----</p>	<p>12-25, 27, 29-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85,86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143,144, 147-164, 166-170, 176,177</p>
A	<p>DATABASE Geneseq [Online]</p> <p>18 March 2010 (2010-03-18), "Mouse anti-FGFR3 monoclonal antibody VL sequence, SEQ ID 8.", XP002777044, retrieved from EBI accession no. GSP:AXU66902 Database accession no. AXU66902</p> <p>sequence -----</p>	<p>12-25, 27, 29-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85,86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143,144, 147-164, 166-170, 176,177</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/044560**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
**12-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85, 86, 88-94, 96-98, 101-119, 121
123-127, 143, 144, 147-164, 166-170, 176, 177(all partially)**
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ US2017/ 044560

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 12-24, 26, 28-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85, 86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143, 144, 147-164, 166-170, 176, 177(all partially)

Subject-matter relating to anti-idiotypic antibody designated anti-ID B-2 directed against FMC63 and having a VH sequence set forth in SEQ ID No 58 and a VL sequence set forth in SEQ ID No 62

- 2-3. claims: 1-127, 142-177(all partially)

Subject-matter relating to anti-idiotypic antibody designated anti-ID A-1 directed against SJ25C1 and having a VH sequence set forth in SEQ ID No 1 and a VL sequence set forth in SEQ ID No 5 (invention 2) or subject-matter relating to anti-idiotypic antibody designated anti-ID B-1 directed against FMC63 and having a VH sequence set forth in SEQ ID No 36 and a VL sequence set forth in SEQ ID No 40 (invention 3)

4. claims: 128-141

Subject-matter relating to methods of identifying anti-idiotypic antibodies using antigen-binding fragments of target antibodies, in particular target antibodies binding to CD19

International Application No. PCT/ US2017/ 044560

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1-11, 32, 37, 66, 67, 80, 84, 87, 95, 99, 100, 120, 122, 142, 145, 146, 165, 171-175(completely); 12-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85, 86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143, 144, 147-164, 166-170, 176, 177(partially) In an invitation to provide informal clarification, the applicant had been notified that no meaningful search could be carried out in relation to the international application (Article 17(2)(a)(ii) PCT) due to the multitude of sequence possibilities and resulting infinite amount of structural possibilities for the claimed anti-idiotypic antibodies. In the reply to this invitation, the applicant had requested that the initial search be directed to the antibody Anti-ID B-2 directed against FMC63 and having a VH sequence set forth in SEQ ID No 58 and a VL sequence set forth in SEQ ID No 62.

In response to an ensuing invitation to pay additional search fees for additional inventions, which had been identified following the same principles, i.e. based on exemplified antibodies as defined by their VH and VL sequences, the applicant had requested that a further search be carried out for subject-matter relating to an anti-idiotypic antibody designated anti-ID B-1 directed against FMC63 and having a VH sequence set forth in SEQ ID No 36 and a VL sequence set forth in SEQ ID No 40.

The search is hence carried out on claims 12-31, 33-36, 38-65, 68-79, 81-83, 85, 86, 88-94, 96-98, 101-119, 121, 123-127, 143, 144, 147-164, 166-170, 176, 177 partially, i.e. insofar as they relate to the subject-matter identified by the applicant (antibodies anti-ID B-1 and B-2 directed against FMC63 and having VH sequences set forth in SEQ ID No 58 or SEQ ID No 36 respectively and VL sequences set forth in SEQ ID No 62 or SEQ ID No 40 respectively).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/044560

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014190273 A1	27-11-2014	AU 2014268364 A1	10-12-2015
		CA 2913052 A1	27-11-2014
		EP 3004168 A1	13-04-2016
		HK 1223943 A1	11-08-2017
		SG 11201509609S A	30-12-2015
		US 2016096902 A1	07-04-2016
		US 2017342164 A1	30-11-2017
		WO 2014190273 A1	27-11-2014

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z 4 C 0 8 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
C 1 2 M 1/34 (2006.01)	C 1 2 M 1/34	F
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04	
C 1 2 N 1/02 (2006.01)	C 1 2 N 1/02	
C 1 2 N 15/867 (2006.01)	C 1 2 N 15/867	Z
C 1 2 N 15/85 (2006.01)	C 1 2 N 15/85	Z
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 0 7 K 1/22 (2006.01)	C 0 7 K 1/22	
C 1 2 N 15/06 (2006.01)	C 1 2 N 15/06	1 0 0
A 6 1 K 51/10 (2006.01)	A 6 1 K 51/10	
G 0 1 N 33/48 (2006.01)	G 0 1 N 33/48	P
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N
G 0 1 N 33/531 (2006.01)	G 0 1 N 33/531	A
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/543	5 0 1 A
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	U
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
	C 0 7 K 14/705	
	A 6 1 K 39/395	N

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

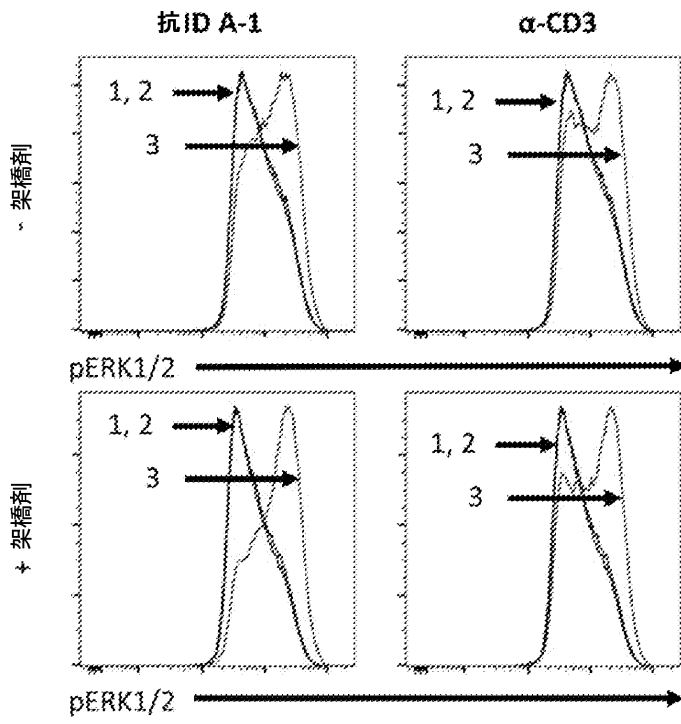
- (74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
- (74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

- (72)発明者 ハウスキンス コリン
 アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0
 0 スイート 1 2 0 0
- (72)発明者 ハイベル マーク ディー.
 アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0
 0 スイート 1 2 0 0
- (72)発明者 サザーランド クレア エル.
 アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0
 0 スイート 1 2 0 0
- (72)発明者 ササリヤ タヘル
 アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0
 0 スイート 1 2 0 0
- (72)発明者 スミス ジェフ
 アメリカ合衆国 9 8 1 0 9 ワシントン州 シアトル デクスター アベニュー ノース 4 0
 0 スイート 1 2 0 0

F ターム(参考) 2G045 AA13 AA16 AA24 AA25 AA40 BA13 BA14 BB20 BB24 CA11
 CA18 CA25 CA26 CB01 CB03 CB12 CB26 DA36 DA37 FA16
 FA37 FB01 FB02 FB03 FB08 FB12 FB13 FB15 GC12 GC15
 4B029 AA07 BB11 BB17 CC01 CC03 FA04 FA12
 4B063 QA01 QA18 QQ08 QQ79 QR48 QR77 QS33
 4B064 AG27 CA10 CA19 CC15 CC24 CE12 CE13 DA01 DA13
 4B065 AA91X AA91Y AB01 AC14 BA02 BA03 BA08 BB19 BD39 BD50
 CA25 CA44 CA46
 4C085 AA08 AA14 AA16 AA27 BB31 BB36 BB41 BB42 BB43 CC01
 CC02 CC08 CC23 DD23 DD33 DD62 DD88 HH11 KA11 KA27
 KA28 KA29 KA36 KB07 KB52 KB82 KB92
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA50 DA76 DA86 EA22 FA74
 GA26

【要約の続き】



- 1: 非刺激
- 2: アインタイプ対照
- 3: 抗ID または 抗CD3

专利名称(译)	抗CD19抗体的抗独特型抗体		
公开(公告)号	JP2019527553A	公开(公告)日	2019-10-03
申请号	JP2019504855	申请日	2017-07-29
[标]申请(专利权)人(译)	朱诺治疗学股份有限公司		
[标]发明人	ハイベルマークディー スミスジェフ		
发明人	ハウスキンス コリン ハイベル マーク ディー. サザーランド クレア エル. ササリヤ タヘル スミス ジェフ		
IPC分类号	C12N15/13 C07K16/42 C07K16/28 C07K19/00 C12N15/62 C12N15/63 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C12M1/34 C12Q1/04 C12N1/02 C12N15/867 C12N15/85 C12N5/0783 C07K1 /22 C12N15/06 A61K51/10 G01N33/48 G01N33/53 G01N33/531 G01N33/543 C07K14/705 A61K39 /395		
CPC分类号	C07K16/2803 C07K16/4241 C07K2317/622 C07K2317/75 C07K2319/03 C07K2319/33		
FI分类号	C12N15/13 C07K16/42.ZNA C07K16/28 C07K19/00 C12N15/62.Z C12N15/63.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C12M1/34.F C12Q1/04 C12N1/02 C12N15/867.Z C12N15/85.Z C12N5/0783 C07K1/22 C12N15/06.100 A61K51/10 G01N33/48.P G01N33/53.N G01N33/531.A G01N33/543.501.A G01N33/53.U G01N33/53.Y C07K14/705 A61K39/395.N		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA16 2G045/AA24 2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/BA14 2G045 /BB20 2G045/BB24 2G045/CA11 2G045/CA18 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/CB12 2G045/CB26 2G045/DA36 2G045/DA37 2G045/FA16 2G045/FA37 2G045/FB01 2G045 /FB02 2G045/FB03 2G045/FB08 2G045/FB12 2G045/FB13 2G045/FB15 2G045/GC12 2G045/GC15 4B029/AA07 4B029/BB11 4B029/BB17 4B029/CC01 4B029/CC03 4B029/FA04 4B029/FA12 4B063 /QA01 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QR77 4B063/QS33 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC15 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/CE13 4B064/DA01 4B064 /DA13 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/BA03 4B065/BA08 4B065/BB19 4B065/BD39 4B065/BD50 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C085/AA08 4C085 /AA14 4C085/AA16 4C085/AA27 4C085/BB31 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/BB43 4C085/CC01 4C085/CC02 4C085/CC08 4C085/CC23 4C085/DD23 4C085/DD33 4C085/DD62 4C085 /DD88 4C085/HH11 4C085/KA11 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4C085/KA36 4C085/KB07 4C085/KB52 4C085/KB82 4C085/KB92 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045 /CA40 4H045/DA50 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA22 4H045/FA74 4H045/GA26		
代理人(译)	清水初衷 井上隆一 佐藤俊光 小林智彦 正人大关 五十嵐弘		
优先权	62/369008 2016-07-29 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

本文提供了抗独特型抗体，其特异性识别抗CD19抗体部分，特别是存在于包括嵌合抗原受体 (CAR) 的重组受体中的抗CD19抗体部分。它本公开进一步涉及抗独特型抗体在特异性鉴定和/或选择表达此类重组受体的细胞，例如抗CD19 CAR T细胞中的用途。本公开进一步涉及抗独特型抗体在特异性活化此类细胞中的用途。

FIG. 1

