

(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2020-518243

(P2020-518243A)

(43) 公表日 令和2年6月25日(2020.6.25)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/13 (2006.01)	C12N 15/13	4B065
C12N 5/10 (2006.01)	C12N 5/10	4C076
C07K 19/00 (2006.01)	C07K 19/00	4C084
C07K 17/00 (2006.01)	C07K 17/00	4C085
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4C087

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 78 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-559720 (P2019-559720)  
 (86) (22) 出願日 平成30年5月1日 (2018.5.1)  
 (85) 翻訳文提出日 令和1年12月24日 (2019.12.24)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/030350  
 (87) 国際公開番号 W02018/204303  
 (87) 国際公開日 平成30年11月8日 (2018.11.8)  
 (31) 優先権主張番号 62/492, 533  
 (32) 優先日 平成29年5月1日 (2017.5.1)  
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 596115687  
 ザ チルドレンズ メディカル センター  
 コーポレーション  
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州02115, ポストン, シャタック・ストリート 55  
 (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PD1抗体試薬に関する方法および組成物

(57) 【要約】

本明細書において、新規な抗PD1抗体試薬（たとえば、抗体、その抗原結合断片および/またはキメラ抗原受容体）が記載される。また、本明細書において、開示される抗体試薬を含む抗体薬物複合体またはキット、ならびに開示される抗体試薬を投与することによって癌を治療する方法が記載される。

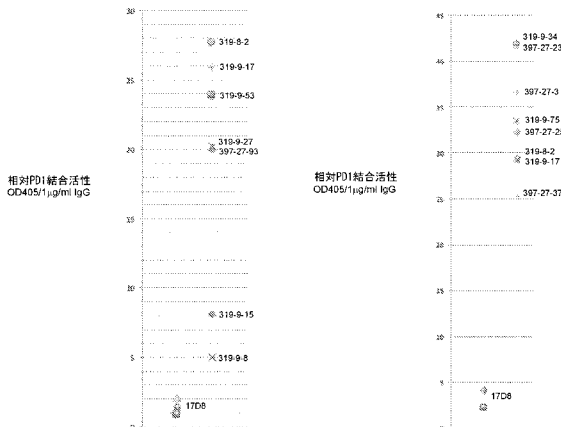


Fig. 5

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

PD1ポリペプチドに特異的に結合する抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体（CAR）であって、

該抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARが、

- (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

10

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域（CDR）を含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

20

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

30

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

40

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

50

- (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む、

前記抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCAR。

【請求項2】

SEQ ID NO: 23~25もしくは29~31もしくは35~37もしくは41~43もしくは47~49もしくは53~55もしくは59~61もしくは65~67もしくは71~73もしくは77~79もしくは83~85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む、請求項1記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

【請求項3】

SEQ ID NO: 26~28もしくは32~34もしくは38~40もしくは44~46もしくは50~52もしくは56~58もしくは62~64もしくは68~70もしくは74~76もしくは80~82もしくは86~88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む、請求項1または2記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

【請求項4】

SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26~28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29~31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異

10

20

30

40

50

体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32~34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35~37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38~40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 41~43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44~46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47~49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50~52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53~55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56~58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 59~61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62~64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65~67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68~70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71~73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74~76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77~79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80~82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83~85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86~88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む、請求項1~3のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

【請求項5】

PD1ポリペプチドに特異的に結合し、かつPD1の結合に関して、

SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26~28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29~31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32~34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35~37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38~40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 41~43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44~46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47~49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50~52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53~55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56~58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸

10

20

30

40

50

配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 59～61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62～64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65～67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68～70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71～73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74～76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77～79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80～82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83～85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86～88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む第二の抗体と競合することができる、

第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

【請求項6】

- (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域（CDR）を含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

10

20

30

40

50

- (c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;  
 (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;  
 (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;  
 (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;  
 (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;  
 (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;  
 (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;  
 (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;  
 (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;  
 (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;  
 (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;  
 (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;  
 (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;  
 (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;  
 (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および  
 (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3  
 からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または
- (a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む、  
 請求項5記載の第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体 (CAR )。

10

20

30

40

50

## 【請求項 7】

SEQ ID NO: 23～25もしくは29～31もしくは35～37もしくは41～43もしくは47～49もしくは53～55もしくは59～61もしくは65～67もしくは71～73もしくは77～79もしくは83～85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む、請求項5または6記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

## 【請求項 8】

SEQ ID NO: 26～28もしくは32～34もしくは38～40もしくは44～46もしくは50～52もしくは56～58もしくは62～64もしくは68～70もしくは74～76もしくは80～82もしくは86～88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む、請求項5～7のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

10

## 【請求項 9】

SEQ ID NO: 23～25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26～28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29～31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32～34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35～37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38～40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

20

SEQ ID NO: 41～43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44～46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47～49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50～52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53～55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56～58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

30

SEQ ID NO: 59～61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62～64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65～67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68～70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71～73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74～76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77～79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80～82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

40

SEQ ID NO: 83～85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86～88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む、請求項5～8のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

## 【請求項 10】

SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19または21のいずれかの軽鎖配列を含む、請求項1～9のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

50

## 【請求項 1 1】

SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20または22のいずれかの重鎖配列を含む、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

## 【請求項 1 2】

SEQ ID NO: 1の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 2の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 3の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 4の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 5の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 6の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 7の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 8の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 9の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 10の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 11の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 12の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 13の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 14の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 15の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 16の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 17の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 18の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 19の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 20の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 21の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 22の重鎖配列

を含む、請求項1～11のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

10

## 【請求項 1 3】

CDRに含まれない配列中の保存的置換をさらに含む、請求項1～12のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

20

## 【請求項 1 4】

抗体試薬またはその抗原結合断片が、完全にヒトであるかまたは完全にヒト化されている、請求項1～13のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

## 【請求項 1 5】

抗体試薬またはその抗原結合断片が、CDR配列を除き、完全にヒト化されている、請求項1～14のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

## 【請求項 1 6】

試薬または断片が、

免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ヒト化抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、シングルドメイン抗体、ダイアポディ、多重特異性抗体、デュアル特異性抗体、抗イディオタイプ抗体、および二重特異性抗体からなる群より選択される、請求項1～15のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

30

## 【請求項 1 7】

請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARと、化学療法剤とを含む、組成物。

## 【請求項 1 8】

抗体、抗体試薬、またはその抗原結合部分が、化学療法剤にコンジュゲートされている、請求項17記載の組成物。

## 【請求項 1 9】

請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARをコードする、核酸配列。

40

## 【請求項 2 0】

請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR、または請求項19記載の核酸配列を含む、細胞。

## 【請求項 2 1】

請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR；または請求項17もしくは18記載の組成物；または請求項20記載の細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

## 【請求項 2 2】

50

請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む、固体支持体。

【請求項23】

抗体、抗体試薬、またはその抗原結合断片が、検出可能に標識されている、請求項22記載の固体支持体。

【請求項24】

固体支持体が、粒子、ビーズ、ポリマー、または基板を含む、請求項22～23のいずれか一項記載の固体支持体。

【請求項25】

固体支持体上に固定化されかつ検出可能な標識を含む請求項1～16のいずれか一項記載の第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを少なくとも含む、試料中のPD1ポリペプチドを検出するためのキット。

10

【請求項26】

PD1ポリペプチドに結合された請求項1～16のいずれか一項記載の少なくとも1つの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む、分子複合体。

【請求項27】

癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法であって、請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR；または請求項17もしくは18記載の組成物；または請求項20記載の細胞を、該対象に投与する工程を含む方法。

【請求項28】

癌が、非小細胞肺癌；黒色腫；転移性黒色腫；腎細胞癌；頭頸部扁平上皮癌；ホジキンリンパ腫；古典的ホジキンリンパ腫；および尿路上皮癌からなる群より選択される、請求項27記載の方法。

20

【請求項29】

癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法に使用するための、請求項1～16のいずれか一項記載の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR；または請求項17もしくは18記載の組成物；または請求項20記載の細胞。

【請求項30】

癌が、非小細胞肺癌；黒色腫；転移性黒色腫；腎細胞癌；頭頸部扁平上皮癌；ホジキンリンパ腫；古典的ホジキンリンパ腫；および尿路上皮癌からなる群より選択される、請求項29記載の組成物。

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、35 U.S.C. § 119(e)の下、全体として参照により本明細書に組み入れられる、2017年5月1日に出願された米国特許仮出願第62/492,533号の恩典を主張する。

【0002】

本明細書に記載される技術は、PD1に特異的である抗体および抗体ベースの試薬ならびにそれらの組成物を使用してたとえば癌を治療する方法に関する。

40

【背景技術】

【0003】

背景

PD1（プログラム死（Programmed Death）1）は癌治療のための治療標的であり、治療用抗PD1抗体が存在する。しかし、抗体が最初に開発されたところの制限的なシステムの結果として、PD1に対するこれらの抗体の特異性および親和性は最適ではない。

【発明の概要】

【0004】

概要

本明細書に記載されるものは、高い特異性および結合親和性を有することが実証された

50

抗PD1抗体の開発および特性評価である。これらの抗体は、有意に改善された親和性および特異性を有する新たな治療用抗体を提供するために自然な親和性成熟プロセスを活用するシステムを使用して開発される。

【 0 0 0 5 】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに特異的に結合する抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体（CAR）であって、該抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARが、

- (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域（CDR）を含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

10

20

30

40

50

- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む、

抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARである。

#### 【 0 0 0 6 】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 23~25もしくは29~31もしくは35~37もしくは41~43もしくは47~49もしくは53~55もしくは59~61もしくは65~67もしくは71~73もしくは77~79もしくは83~85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 26~28もしくは32~34もしくは38~40もしくは44~46もしくは50~52もしくは56~58もしくは62~64もしくは68~70もしくは74~76もしくは80~82もしくは86~88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、

SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26~28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸

10

20

30

40

50



SEQ ID NO: 53~55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56~58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 59~61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62~64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 65~67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68~70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 71~73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74~76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 77~79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80~82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 83~85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86~88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む第二の抗体と競合することができる、

第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARである。

【 0 0 0 8 】

局面のいずれかのいくつかの態様において、

- (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域 ( CDR ) を含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

10

20

30

40

50

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

10

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

20

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

30

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

40

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

50

(a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む、  
請求項5記載の抗体、抗体試薬、抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体 (CAR)。

【0009】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 23~25もしくは29~31もしくは35~37もしくは41~43もしくは47~49もしくは53~55もしくは59~61もしくは65~67もしくは71~73もしくは77~79もしくは83~85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 26~28もしくは32~34もしくは38~40もしくは44~46もしくは50~52もしくは56~58もしくは62~64もしくは68~70もしくは74~76もしくは80~82もしくは86~88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、

10

SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26~28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29~31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32~34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35~37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38~40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

20

SEQ ID NO: 41~43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44~46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47~49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50~52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53~55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56~58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

30

SEQ ID NO: 59~61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62~64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65~67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68~70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71~73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74~76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

40

SEQ ID NO: 77~79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80~82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83~85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86~88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む。

【0010】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19または21のいずれかの軽鎖配

50

列を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20または22のいずれかの重鎖配列を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、

SEQ ID NO: 1の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 2の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 3の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 4の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 5の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 6の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 7の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 8の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 9の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 10の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 11の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 12の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 13の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 14の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 15の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 16の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 17の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 18の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 19の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 20の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 21の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 22の重鎖配列

を含む。

【0011】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARはさらに、CDRに含まれない配列中の保存的置換を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは完全にヒトであるか、または完全にヒト化されている。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、CDR配列を除き、完全にヒト化されている。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ヒト化抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、シングルドメイン抗体、ダイアボディ、多重特異性抗体、デュアル特異性抗体、抗イディオタイプ抗体、および二重特異性抗体からなる群より選択される。

【0012】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARと、化学療法剤とを含む、組成物である。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、またはその抗原結合部分は、化学療法剤にコンジュゲートされている。

【0013】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARをコードする核酸配列である。態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片もしくはCARを含む、または抗体、抗体試薬、その抗原結合断片もしくはCARをコードする核酸配列を含む細胞である。

【0014】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCARを、任意選択で、化学療法剤、または本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCARを含む細胞、および薬学的に許容される担体とともに含む薬学的組成物である。

【0015】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む固体支持体である。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、またはその抗原結合断片は、検出可能に標識されている。局面のいずれかのいくつかの態様において、固体支持体は、粒子、ビーズ、ポリマー、または基板を含む。

【0016】

10

20

30

40

50

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを少なくとも含むキットである。

【0017】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、固体支持体上に固定化されかつ検出可能な標識を含む本明細書に記載される第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを少なくとも含む、試料中のPD1ポリペプチドを検出するためのキットである。

【0018】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに結合された本明細書に記載される少なくとも1つの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む分子複合体である。

【0019】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法であって、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片もしくはCAR；または本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片もしくはCARを含む組成物（任意選択で、化学療法剤とともに）；または本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片もしくはCARを含む細胞を、対象に投与する工程を含む方法である。局面のいずれかのいくつかの態様においては、治療有効量の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARが患者に投与される。局面のいずれかのいくつかの態様において、癌は、非小細胞肺癌；黒色腫；転移性黒色腫；腎細胞癌；頭頸部扁平上皮癌；ホジキンリンパ腫；古典的ホジキンリンパ腫；および尿路上皮癌からなる群より選択される。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】抗PD1抗体重鎖の配列アラインメントを示す。比較のために、元の抗PD1抗体17D8の配列が上に示され；新規な抗PD1抗体（319-8-x、319-9-x）の配列が17D8配列の下に示されている。「.」は配列同一性を表し；「-」は配列アラインメント中のギャップを表し；新たな抗体が17D8とは異なる位置では、新たな抗体中の残基が示されている。CDR H1、2および3の位置が配列上に示され；可変領域中の残基の総数が配列の右に示されている。

【図2】抗PD1抗体軽鎖の配列アラインメントを示す。比較のために、元の抗PD1抗体17D8の配列が上に示され；新規な抗PD1抗体（319-8-x、319-9-x）の配列が17D8配列の下に示されている。「.」は配列同一性を表し；「-」は配列アラインメント中のギャップを表し；新たな抗体が17D8とは異なる位置では、新たな抗体中の残基が示されている。CDR L1、2および3の位置が配列上に示され；可変領域中の残基の総数が配列の右に示されている。

【図3-1】抗PD1抗体重鎖の配列アラインメントを示す。比較のために、元の抗PD1抗体17D8の配列が上に示され；新規な抗PD1抗体（397-27-x）の配列が17D8配列の下に示されている。「.」は配列同一性を表し；「-」は配列アラインメント中のギャップを表し；新たな抗体が17D8とは異なる位置では、新たな抗体中の残基が示されている。CDR H1、2および3の位置が配列上に示され；可変領域中の残基の総数が配列の右に示されている。

【図3-2】図3-1の続きの図である。

【図4】抗PD1抗体軽鎖の配列アラインメントを示す。比較のために、元の抗PD1抗体17D8の配列が上に示され；新規な抗PD1抗体（397-27-x）の配列が17D8配列の下に示されている。「.」は配列同一性を表し；「-」は配列アラインメント中のギャップを表し；新たな抗体が17D8とは異なる位置では、新たな抗体中の残基が示されている。CDR L1、2および3の位置が配列上に示され；可変領域中の残基の総数が配列の右に示されている。

【図5】新たな抗PD1抗体（319-8-2、319-9-x、397-27-x）の結合活性を元の抗PD1抗体（17D8）と比較するプロットを示す。PD1結合活性をELISAアッセイで計測し、OD405値によって表した。各抗体のOD405値を抗体濃度に正規化した。y軸は抗体1mg/mlの場合のOD405値を示す。図1~4に示す新たな抗体のサブセットをこのアッセイにおいて分析すると、新

たな抗体の大部分が、元の抗PD1抗体よりも高いPD-1結合活性を示した。

【図6-1】新たな抗PD1抗体(319-8-2、319-9-x、397-27-x)の結合特異性を元の抗PD1抗体(17D8)と比較する実験の結果を示す。この実験においては、PD1、CTLA4およびCD28に対する各抗体の結合活性をELISAアッセイで計測した。PD1、CTLA4およびCD28は互いに相同であり、T細胞調節受容体のCD28ファミリーに属する。プロットは、ELISAアッセイにおける各抗体の滴定曲線を示す。x軸は、希釈係数に基づく相対抗体濃度を表し；y軸は、抗体結合活性と相関するOD405値を示す。この実験に基づく、新たな抗体はすべて、CTLA4およびCD28に対する交差反応性の低下を示した。

【図6-2】図6-1の続きの図である。

【図6-3】図6-2の続きの図である。

【発明を実施するための形態】

【0021】

詳細な説明

本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに特異的に結合する抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体(CAR)である。そのような抗体、その抗原結合部分などは、たとえば、癌の診断、予後および/または治療を可能にすることができる。いくつかの態様において、本明細書に記載される技術は、癌のためのキメラ抗原受容体(CAR)およびCAR-T療法に関する。いくつかの態様において、本明細書に記載される技術は、癌のためのモノクローナル抗体療法に関する。いくつかの態様において、本明細書に記載される技術は、癌の治療または癌のための抗体薬物複合体に関する。

【0022】

本明細書において使用される「PD1」または「プログラム死1」とは、T細胞炎症反応を抑制する細胞表面受容体をいう。PD1は、免疫系チェックポイントとして働き、自己免疫疾患の発症を防ぐ。癌においては、免疫系を刺激するために抗PD1療法が使用される。いくつかの種に関してPD1発現産物の配列が知られている。たとえば、ヒトPD1(NCBI Gene ID No: 5133)mRNA(NCBI Ref Seq: NM\_005018.2)およびポリペプチド(NCBI Ref Seq: NP\_005009.2)。

【0023】

本明細書において使用される用語「抗体」とは、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫的に活性な部分、すなわち、抗原に免疫特異的に結合する抗原結合部位を含む分子をいう。この用語はまた、2つの免疫グロブリン重鎖および2つの免疫グロブリン軽鎖で構成された抗体ならびに完全長抗体およびその抗原結合部分を含む多様な形態、たとえば免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ヒト化抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、シングルドメイン抗体(dAb)、ダイアボディ、多重特異性抗体、デュアル特異性抗体、抗イディオタイプ抗体、二重特異性抗体、それらの機能的に活性なエピトープ結合部分および/または二官能性ハイブリッド抗体を指す。

【0024】

各重鎖は、前記重鎖の可変領域(ここではHCVRまたはVHと略す)および前記重鎖の定常領域で構成されている。重鎖定常領域は3つのドメインCH1、CH2およびCH3からなる。各軽鎖は、前記軽鎖の可変領域(ここではLCVRまたはVLと略す)および前記軽鎖の定常領域で構成されている。軽鎖定常領域はCLドメインからなる。VHおよびVL領域はさらに、相補性決定領域(CDR)と呼ばれ、フレームワーク領域(FR)と呼ばれる保存領域が散在する超可変性の領域へと分割され得る。したがって、各VHおよびVLは、N末端からC末端まで順序: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置された3つのCDRおよび4つのFRからなる。この構造は当業者に周知である。

【0025】

本明細書において使用される用語「CDR」とは、抗体可変配列内の相補性決定領域をいう。これらのCDRの正確な境界は、異なるシステムにしたがって異なるように定義されている。CDRは、Kabatシステム(Kabat, E. A. et al., 1991, "Sequences of Proteins of

10

20

30

40

50

Immunological Interest", 5th edit., NIH Publication no. 91-3242, U.S. Department of Health and Human Servicesを参照)にしたがって定義され得る。他のシステム、たとえばChothiaらによって考案されたシステム(Chothia, C. & Lesk, A. M., 1987, "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins", J. Mol. Biol., 196, 901-917を参照)およびIMGTシステム(Lefranc, M. P., 1997, "Unique database numbering system for immunogenetic analysis", Immunol. Today, 18, 50を参照)を使用してCDRを定義してもよい。抗体は通常、3つの重鎖CDRおよび3つの軽鎖CDRを含む。用語、1つのCDRまたは複数のCDRは、ここでは、これらの領域の1つまたは複数指すために使用される。当業者は、容易に、異なる命名システムどうしを比較し、ある特定の配列がCDRと定義され得るかどうかを決定することができる。本明細書において使用される方法および組成物は、これらのシステムのいずれかにしたがって定義されるCDRを利用し得る。本明細書において、たとえば表1に特定されたCDRは、IMGTシステムによって同定されたものである(たとえば図1~4を参照)。

10

20

30

40

50

#### 【0026】

抗体の「抗原結合部分」とは、本明細書に記載される抗体の、本明細書において先に定義された結合親和性をなおも有する1つまたは複数の部分をいう。完全な抗体の部分は、抗体の抗原結合機能を実行することができることが示されている。抗体の「抗原結合部分」にしたがって、結合部分の例は、(i) Fab部分、すなわち、VL、VH、CLおよびCH1ドメインで構成された一価部分；(ii) F(ab')<sub>2</sub>部分、すなわち、ヒンジ領域中でジスルフィド架橋を介して互いに結合した2つのFab部分を含む二価部分；(iii) VHおよびCH1ドメインで構成されたFd部分；(iv) 抗体の単一のアームのFLおよびVHドメインで構成されたFv部分；および(v) VHドメインまたはVH、CH1、CH2、DH3またはVH、CH2、CH3からなるdAb部分(dAb、またはV<sub>L</sub>ドメインのみを含むシングルドメイン抗体もまた、標的エピトープに特異的に結合することが示されている)を含む。Fv部分の2つのドメイン、すなわちVLおよびVHは別々の遺伝子によってコードされているが、それらをさらに、合成リンカ、たとえばポリG4Sアミノ酸配列(SEQ ID NO: 29に開示されている「G4S」)および組換え法を使用して互いに結合させて、それらを、VLおよびVH領域が合わさって一価分子を形成する単一のタンパク質鎖(一本鎖Fv(ScFv)として知られる)として調製することを可能にしてもよい。抗体の「抗原結合部分」はまた、そのような一本鎖抗体をも含むことを意図している。同様に、一本鎖抗体の他の形態、たとえば「ダイアボディ」がここに含まれる。ダイアボディとは、VHおよびVLドメインが単一のポリペプチド鎖上に発現しているが、同じ鎖上で2つのドメインが合わさるには短すぎるリンカを使用し、それにより、該ドメインが、異なる鎖の相補的ドメインと対合し、2つの抗原結合部位を形成することを強いる、二価の二重特異性抗体である。免疫グロブリン定常ドメインとは、重鎖定常ドメインまたは軽鎖定常ドメインをいう。ヒトIgG重鎖および軽鎖定常ドメインアミノ酸配列は当技術分野において公知である。

#### 【0027】

本明細書において使用される用語「抗体試薬」とは、所与の抗原に特異的に結合する、少なくとも1つの免疫グロブリン可変ドメインまたは免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むポリペプチドをいう。抗体試薬は、抗体または抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドを含むことができる。いくつかの態様において、抗体試薬は、モノクローナル抗体またはモノクローナル抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドを含むことができる。たとえば、抗体は、重(H)鎖可変領域(本明細書においてはVHと略す)および軽(L)鎖可変領域(本明細書においてはVLと略す)を含むことができる。もう1つの例において、抗体は、2つの重(H)鎖可変領域および2つの軽(L)鎖可変領域を含む。用語「抗体試薬」は、抗体の抗原結合断片(たとえば一本鎖抗体、FabおよびsFab断片、F(ab')<sub>2</sub>、Fd断片、Fv断片、scFvおよびドメイン抗体(dAb)断片ならびに完全抗体を包含する。

#### 【0028】

抗体は、IgA、IgG、IgE、IgD、IgM(ならびにそれらのサブタイプおよび組み合わせ)の構造的特徴を有することができる。抗体は、マウス、ウサギ、ブタ、ラットおよび霊長

類（ヒトおよび非ヒト霊長類）含む任意の源に由来することができ、霊長類化抗体であることもできる。抗体はまた、ミディボディ、ヒト化抗体、キメラ抗体などを含む。

【0029】

さらに、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、該抗体または抗体部分と1つまたは複数のさらなるタンパク質またはペプチドとの共有結合的または非共有結合的会合によって形成される、より大きな免疫粘着分子の一部であり得る。そのような免疫粘着分子に関連することは、四量体scFv分子を調製するためのストレプトアビジンコア領域の使用ならびに二価およびビオチン化scFv分子を製造するためのシステイン残基、マーカペプチドおよびC末端ポリヒスチジニル、たとえばヘキサヒスチジニルタグ（SEQ ID NO: 89に開示されている「ヘキサヒスチジニルタグ」）の使用である。

10

【0030】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ヒト化抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、シングルドメイン抗体、ダイアボディ、多重特異性抗体、デュアル特異性抗体、抗イディオタイプ抗体、二重特異性抗体およびそれらの機能的に活性なエピトープ結合部分であることができる。

【0031】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分は完全ヒト抗体である。いくつかの態様において、抗体、その抗原結合部分はヒト化抗体または抗体試薬である。いくつかの態様において、抗体、その抗原結合部分は完全ヒト化抗体または抗体試薬である。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分は、キメラ抗体または抗体試薬である。いくつかの態様において、抗体、その抗原結合部分は、組換えポリペプチドである。いくつかの態様において、CARは、PD1に結合する細胞外ドメインを含み、その細胞外ドメインが、ヒト化もしくはキメラ抗体またはその抗原結合部分を含む。

20

【0032】

用語「ヒト抗体」とは、たとえばKabatら（Kabat, et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照）によって記載されている、その可変および定常領域がヒト生殖細胞系の免疫グロブリン配列に対応する、またはそれに由来する抗体をいう。しかし、ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（たとえば、インビトロでランダムまたは部位特異的変異誘発によって、またはインビボで体細胞変異によって導入された変異）を、たとえばCDR中、特にCDR3中に含むことができる。本明細書に記載される組換えヒト抗体は、可変領域を有し、また、ヒト生殖細胞系の免疫グロブリン配列に由来する定常領域を含み得る（Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照）。しかし、特定の態様にしたがって、そのような組換えヒト抗体は、インビトロ変異誘発（または、ヒトIg配列のせいでトランスジェニックである動物が使用されるならば、体細胞インビボ変異誘発）を受けて、組換え抗体のVHおよびVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系のVHおよびVL配列に関連または由来するが、ヒト抗体生殖細胞系レパートリー内でインビボで天然には存在しない配列になる。特定の態様にしたがって、この種の組換え抗体は、選択的変異誘発または復帰変異または両方の結果である。好ましくは、変異誘発は、親抗体のそれよりも大きい、標的に対する親和性および/または親抗体のそれよりも小さい、非標的構造に対する親和性を生じさせる。本明細書に提供される配列および情報からのヒト化抗体の生成は、当業者により、過度な実験なしで実施することができる。1つの手法においては、モノクローナル抗体をヒト化するために用いられる4つの一般的工程がある。たとえば、米国特許第5,585,089号；第6,835,823号；第6,824,989号を参照すること。それらは、（1）出発抗体軽および重可変領域のヌクレオチドおよび予測されるアミノ酸配列を決定する工程；（2）ヒト化抗体を設計する、すなわち、ヒト化プロセス中にどの抗体フレームワーク領域を使用するのかを決定する工程；（3）実際のヒト化

30

40

50

法 / 技術 ; および (4) ヒト化抗体のトランスフェクションおよび発現である。

【0033】

普通、ヒト化抗体およびヒト抗体変異体中のCDR領域は、それらが由来したマウスまたはヒト抗体中の対応するCDR領域と実質的に同一であり、より普通には、それと同一である。いくつかの態様においては、得られるヒト化免疫グロブリンまたはヒト抗体変異体の結合親和性に認めうるほど影響することなく、CDR残基の1つまたは複数の保存的アミノ酸置換を実施することが可能である。いくつかの態様において、CDR領域の置換は結合親和性を増強することができる。

【0034】

用語「キメラ抗体」とは、1つの種からの重および軽鎖の可変領域の配列と、別の種からの定常領域配列とを含む抗体、たとえば、ヒト定常領域に結合したマウス重および軽鎖可変領域を有する抗体をいう。ヒト化抗体は、実質的にヒト抗体からの可変領域フレームワーク残基（アクセプタ抗体と呼ばれる）と、実質的に非ヒト抗体、たとえばマウス抗体からの相補性決定領域（ドナー免疫グロブリンと呼ばれる）とを有する。定常領域もまた、存在するならば、実質的または完全にヒト免疫グロブリンに由来する。ヒト可変ドメインは普通、そのフレームワーク配列が、CDRが由来した（マウス）可変領域ドメインとで高度の配列同一性を示すヒト抗体から選択される。重および軽鎖可変領域フレームワーク残基は、同じまたは異なるヒト抗体配列の領域に実質的に類似していることができる。ヒト抗体配列は、天然のヒト抗体の配列であることもできるし、いくつかのヒト抗体のコンセンサス配列であることもできる。

10

20

【0035】

加えて、マウスまたは他の種から、適切な抗原特異性の抗体分子を、適切な生物学的活性のヒト抗体分子からの遺伝子とでスプライシングすることによる「キメラ抗体」の産生のために開発された技術を使用することができる。キメラ抗体の可変セグメントは通常、免疫グロブリン定常領域（Fc）、通常はヒト免疫グロブリンのそのの少なくとも一部分に結合している。多様なヒト細胞、たとえば不死化B細胞から周知の手順にしたがってヒト定常領域DNA配列を単離することができる。抗体は軽鎖および重鎖両方の定常領域を含むことができる。重鎖定常領域は、CH1、ヒンジ、CH2、CH3およびときにはCH4領域を含むことができる。治療目的のために、CH2ドメインを欠失または脱落させることができる。

【0036】

加えて、本明細書に記載されるように、ヒトにおける治療のために、組換えヒト化抗体をさらに最適化して、機能的活性を維持しながらも潜在的な免疫原性を低下させることができる。これに関して、機能的活性とは、ポリペプチドが、本明細書に記載される組換え抗体、その抗原結合部分、またはCARと関連する1つまたは複数の既知の機能的活性を示すことができることをいう。そのような機能的活性は、癌細胞への結合および / または抗癌活性を含む。加えて、機能的活性を有するポリペプチドとは、特定のアッセイ、たとえば生物学的アッセイで計測したとき、用量依存性の有無にかかわらず、本明細書に記載される参照抗体、その抗原結合部分、またはCAR（成熟形態を含む）の活性と、必ずしも同一ではないが類似する活性を示すポリペプチドをいう。用量依存性が存在する場合、参照抗体、その抗原結合部分、またはCARの活性と同一である必要はなく、むしろ、本明細書に記載される参照抗体、その抗原結合部分、またはCARと比較して、所与の活性における用量依存性に実質的に類似している（すなわち、候補ポリペプチドは、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分および / またはCARに対し、より高い活性、または約25倍未満、約10倍未満、または約3倍未満を超えない活性を示す）。

30

40

【0037】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体試薬（たとえば抗体またはCAR）は天然の生体分子ではない。たとえば、ヒト由来の抗原に対して産生されたマウス抗体は、人の介入および操作、たとえば人によって実施される製造工程なしに、自然界では発生しない。キメラ抗体はまた、たとえば、複数の種から得られ、組換え分子へとアセンブルされた配列を含むという点で、天然の生体分子ではない。特定の態様において、本明細書

50

に記載されるヒト抗体試薬は天然の生体分子ではない。たとえば、ヒト抗原に対する完全ヒト抗体は、自然界でネガティブ選択を受け、ヒトの体の中で自然には見られない。

【 0 0 3 8 】

いくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分および/またはCARは単離されたポリペプチドである。いくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分および/またはCARは精製されたポリペプチドである。いくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分および/またはCARは操作されたポリペプチドである。

【 0 0 3 9 】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに特異的に結合する抗体、その抗原結合断片、抗原試薬またはキメラ抗原受容体 (CAR) である。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、その抗原結合断片、抗原試薬またはCARは、図1~4に示す抗体の少なくとも1つのCDR、6つすべてのCDR、軽鎖、重鎖または軽および重鎖を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、その抗原結合断片、抗原試薬、またはCARは、

- (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域 (CDR) を含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または

- (a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1 ;
- (b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2 ;
- (c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3 ;
- (d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1 ;
- (e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2 ; および
- (f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか ; または

10

20

30

40

50

- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む。

#### 【0040】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 23~25もしくは29~31もしくは35~37もしくは41~43もしくは47~49もしくは53~55もしくは59~61もしくは65~67もしくは71~73もしくは77~79もしくは83~85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 26~28もしくは32~34もしくは38~40もしくは44~46も

10

20

30

40

50

しくは50～52もしくは56～58もしくは62～64もしくは68～70もしくは74～76もしくは80～82もしくは86～88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、

SEQ ID NO: 23～25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26～28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29～31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32～34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35～37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38～40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 41～43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44～46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47～49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50～52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53～55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56～58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 59～61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62～64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65～67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68～70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71～73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74～76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77～79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80～82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83～85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86～88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む。

#### 【0041】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに特異的に結合し、かつPD1の結合に関して、

SEQ ID NO: 23～25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26～28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29～31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32～34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35～37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38～40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

10

20

30

40

50

SEQ ID NO: 41~43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44~46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 47~49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50~52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 53~55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56~58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 59~61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62~64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 65~67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68~70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 71~73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74~76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 77~79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80~82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR ; または

SEQ ID NO: 83~85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86~88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む第二の抗体と競合することができる、  
抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARである。

#### 【 0 0 4 2 】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19または21のいずれかの軽鎖配列を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20または22のいずれかの重鎖配列を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、

SEQ ID NO: 1の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 2の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 3の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 4の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 5の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 6の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 7の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 8の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 9の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 10の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 11の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 12の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 13の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 14の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 15の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 16の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 17の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 18の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 19の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 20の重鎖配列 ; または

SEQ ID NO: 21の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 22の重鎖配列

を含む。

#### 【 0 0 4 3 】

局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、図1~4の抗体のCDRの1つまたは複数を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、図1~4の抗体の6つのCDRを含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分

、またはCARは、図1～4の抗体の軽鎖、重鎖または重および軽鎖を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、図1～4の抗体である。

(a) いくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、SEQ ID NO: 23～88から選択されるCDRの配列を有する1つまたは複数のCDR（たとえば、1つのCDR、2つのCDR、3つのCDR、4つのCDR、5つのCDRまたは6つのCDR）を含むことができる。いくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、表1の抗体のCDRの配列を有するCDRを含むことができる。

【0044】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに特異的に結合し、かつPD1の結合に関して、図1～4から選択される抗体または図1～4から選択される抗体のCDRを有する抗体と競合することができる、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARである。

10

【0045】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分および/またはCARは、本明細書に記載される配列の変異体、たとえば抗体ポリペプチドの保存的置換変異体であることができる。いくつかの態様において、変異体は、保存的に改変された変異体である。保存的置換変異体は、たとえば天然のヌクレオチド配列の変異によって得ることができる。本明細書において呼ばれる「変異体」とは、天然または参照ポリペプチドに実質的に相同であるが、1つまたは複数の欠失、挿入または置換のせいで天然または参照ポリペプチドのそれとは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。変異体ポリペプチドをコードするDNA配列は、天然または参照DNA配列と比べてヌクレオチドの1つまたは複数の付加、欠失または置換を含むが、関連する標的ポリペプチド、たとえばPD1に対する活性、たとえば抗原特異的結合活性を保持する変異体タンパク質またはその部分をコードする配列を包含する。また、多種多様なPCRベースの部位特異的変異誘発手法が当技術分野において公知であり、当業者によって適用されることができる。

20

【0046】

当業者は、コードされる配列中の単一のアミノ酸またはアミノ酸の小さな割合を変化させる、核酸、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質配列への個々の置換、欠失または付加が、その変更が化学的に類似するアミノ酸によるアミノ酸の置換を生じさせ、標的抗原（たとえばPD1）に特異的に結合する能力を保持する「保存的に改変された変異体」であることを認識するであろう。そのような保存的に改変された変異体は、本開示と合致する多型変異体、種間ホモログおよびアレルに加わり、それらを除外しない。

30

【0047】

置換変異体の例は、CDRの配列を変化させない、たとえば $V_H$ または $V_L$ ドメイン中のアミノ酸の保存的置換を含む。CDRに含まれない配列中の保存的置換は、野生型または天然配列、たとえば、抗体配列のヒトまたはマウスフレームワークおよび/または定常領域に対する置換であることができる。いくつかの態様において、抗体試薬の保存的に改変された変異体は、CDR中以外に変更を含むことができ、たとえば、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARの保存的に改変された変異体は、SEQ ID NO: 23～88の1つまたは複数の配列を有するCDRを含むことができる。いくつかの態様において、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARの保存的に改変された変異体は、表1の抗体の配列を有するCDRを含むことができる。

40

【0048】

所与のアミノ酸は、類似の物理化学的特性を有する残基によって、たとえば、1つの脂肪族残基を別の残基で（たとえばIle、Val、LeuまたはAlaを別の残基で）置換する、または1つの極性残基を別の残基で（たとえばLysとArgとの間；GluとAspとの間；またはGlnとAsnとの間で）置換することによって、置換されることができる。他のそのような保存的置換、たとえば類似の疎水特性を有する領域全体の置換が周知である。保存的アミノ酸置換を含むポリペプチドは、所望の活性、たとえば天然または参照ポリペプチドの抗原結合

50

活性および特異性が保持されていることを確認するために、本明細書に記載されるアッセイのいずれか1つで試験されることができる。

#### 【0049】

アミノ酸は、それらの側鎖の性質の類似性にしたがって分類することができる (A. L. Lehninger, in *Biochemistry*, second ed., pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)) : (1) 非極性 : Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M) ; (2) 非荷電極性 : Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q) ; (3) 酸性 : Asp (D)、Glu (E) ; (4) 塩基性 : Lys (K)、Arg (R)、His (H)。または、共通の側鎖性質に基づいて天然の残基を分類することもできる : (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) 鎖配向に影響する残基 : Gly、Pro ; (6) 芳香族 : Trp、Tyr、Phe。非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを別のクラスに交換することを必要とする。特定の保存的置換は、たとえば、AlaからGlyまたはSerへの ; ArgからLysへの ; AsnからGlnまたはHisへの ; AspからGluへの ; CysからSerへの ; GlnからAsnへの ; GluからAspへの ; GlyからAlaまたはProへの ; HisからAsnまたはGlnへの ; IleからLeuまたはValへの ; LeuからIleまたはValへの ; LysからArg、GlnまたはGluへの ; MetからLeu、TyrまたはIleへの ; PheからMet、LeuまたはTyrへの ; SerからThrへの ; ThrからSerへの ; TrpからTyrへの ; TyrからTrpへの ; および / または PheからVal、IleまたはLeuへの置換を含む。

#### 【0050】

変異体アミノ酸またはDNA配列は、好ましくは、天然または参照配列とで少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%またはより多く同一である。天然配列と変異体配列との間の相同度 (% 同一性) は、たとえば、ワールドワイドウェブ上で一般にその目的に用いられる無料で利用可能なコンピュータプログラム (たとえばBLASTpまたはBLASTn、デフォルト設定) を使用して2つの配列を比較することによって決定することができる。

#### 【0051】

天然のアミノ酸配列の変更は、当業者に公知の多数の技術のいずれかによって達成することができる。変異は、たとえば、天然配列の断片へのライゲーションを可能にする制限部位を脇に有する変異体配列を含むオリゴヌクレオチドを合成することにより、特定の遺伝子座に導入することができる。ライゲーションののち、得られる再構成された配列は、所望のアミノ酸挿入、置換または欠失を有する類似体をコードする。または、オリゴヌクレオチド指向の部位特異的変異誘発手法を用いて、求められる置換、欠失または挿入にしたがって改変された特定のコードンを有する改変されたヌクレオチド配列を提供することもできる。

#### 【0052】

また、ポリペプチドの正しいコンホメーションの維持に関与しない任意のシステイン残基を概してセリンによって置換して、分子の酸化安定性を改善し、異常な架橋を防ぐことができる。逆に、システイン結合をポリペプチドに付加して、その安定性を改善し、オリゴマー化を容易にすることもできる。

#### 【0053】

本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARが、SEQ ID NO: 23~88の配列と同一ではない少なくとも1つのCDRを含む特定の態様において、その少なくとも1つのCDRのアミノ酸配列は、当業者に周知の方法によって選択されることができる。たとえば、Fujii, 2004, "Antibody affinity maturation by random mutagenesis" in *Methods in Molecular Biology: Antibody Engineering* 248: 345-349 (全体として参照により本明細書に組み入れられる) が、特に図2およびセクション3.3で、関心対象の任意のCDRのためのライブラリーを生成する方法を記載している。これは、当業者が、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分中に存在するとき、癌細胞表面抗原に結合する抗原または

その抗原結合部分を生じさせる、本明細書に記載される特定のCDR配列の保存的置換変異体を含む、代替CDRを同定することを可能にする。Fujiiらに記載された方法はまた、当業者が、既知の重鎖断片と合わされたとき所望の結合動作を生じさせる軽鎖配列および既知の軽鎖断片と合わされたとき所望の結合動作を生じさせ重鎖配列を選別することを可能にする。

#### 【0054】

いくつかの態様において、CARは、PD1ポリペプチドの1つまたは複数のエピトープに結合する抗PD1抗体またはその抗原結合部分を含む細胞外ドメイン；膜貫通ドメイン、1つまたは複数の細胞内共刺激シグナル伝達ドメインおよび一次シグナル伝達ドメインを含む。例示的な抗PD1抗体およびその抗原結合部分ならびに例示的なエピトープが本明細書中、他の箇所に記載されている。

10

#### 【0055】

本明細書に使用される「キメラ抗原受容体」または「CAR」とは、抗原結合ドメイン（たとえば、抗体の抗原結合部分（たとえばscFv））、膜貫通ドメインおよびT細胞シグナル伝達および/またはT細胞活性化ドメインを含む人工的に構築されたハイブリッドポリペプチドをいう。CARは、モノクローナル抗体の抗原結合性を利用して、T細胞特異性および反応性を、非MHC拘束的に、選択された標的に向け直す能力を有する。非MHC拘束性抗原認識は、CARを発現するT細胞に対し、抗原プロセッシングから独立して抗原を認識し、それによって腫瘍免疫回避の主な機序をバイパスする能力を与える。そのうえ、T細胞中で発現したとき、CARは、好都合にも、内在性T細胞受容体（TCR）アルファおよびベータ鎖と二量体化しない。もっとも一般的に、CARの細胞外結合ドメインは、マウスまたはヒト化モノクローナル抗体の可変重および軽鎖領域を融合することに由来する一本鎖可変フラグメント（scFv）で構成されている。または、Fabに由来するscFvを使用してもよく（抗体の代わりに、たとえばFabライブラリーから得られるもの）、様々な態様において、このscFvは、膜貫通ドメイン、次いで細胞内シグナル伝達ドメインに融合される。「第一世代」CARは、抗原結合時に唯一CD3ゼータ（CD3 $\zeta$ ）シグナルを提供するものを含み、「第二世代」CARは、共刺激（たとえばCD28またはCD137）および活性化（CD3 $\zeta$ ）の両方を提供するものを含む。「第三世代」CARは、複数の共刺激（たとえばCD28およびCD137）ドメインおよび活性化ドメイン（たとえばCD3 $\zeta$ ）を提供するものを含む。様々な態様において、CARは、抗原に対して高い親和性またはアビディティを有するものが選択される。CARのさらなる説明は、たとえば、いずれも全体として参照により本明細書に組み入れられる、Maus et al. Blood 2014 123:2624-35; Reardon et al. Neuro-Oncology 2014 16:1441-1458; Hoyos et al. Haematologica 2012 97:1622; Byrd et al. J Clin Oncol 2014 32:3039-47; Maher et al. Cancer Res 2009 69:4559-4562; および Tamada et al. Clin Cancer Res 2012 18:6436-6445に見ることができる。

20

30

#### 【0056】

局面のいずれかのいくつかの態様において、CARは、ヒト化PD1特異的結合ドメインを含む細胞外結合ドメイン；膜貫通ドメイン；1つまたは複数の細胞内共刺激シグナル伝達ドメイン；および一次シグナル伝達ドメインを含む。本明細書において使用される用語「結合ドメイン」、「細胞外ドメイン」、「細胞外結合ドメイン」、「抗原特異的結合ドメイン」および「細胞外抗原特異的結合ドメイン」は互換可能に使用され、関心対象の標的抗原、たとえばPD1に特異的に結合する能力をCARに提供する。結合ドメインは、天然、合成、半合成または組換え源に由来し得る。

40

#### 【0057】

いくつかの態様において、本明細書において考慮されるCARは、たとえば分子の適切なスペーシングおよびコンホメーションのために付加されたリンカ残基を様々なドメインの間に含み得る。特定の態様において、リンカは可変領域結合配列である。「可変領域結合配列」とは、VHおよびVLドメインを接続し、2つのサブ結合ドメインの相互作用と適合するスペーサ機能を提供して、得られるポリペプチドが、同じ軽および重鎖可変領域を含む抗体と同じ標的分子への特異的結合親和性を保持するようにするアミノ酸配列である。本

50

明細書において考慮されるCARは、1つ、2つ、3つ、4つまたは5つまたはより多くのリンカを含むことができる。特定の態様において、リンカの長さは約1～約25アミノ酸、約5～約20アミノ酸または約10～約20アミノ酸または間にある任意のアミノ酸の長さである。いくつかの態様において、リンカは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25またはより多くのアミノ酸の長さである。

**【0058】**

特定の態様において、CARの結合ドメインには、1つまたは複数の「スぺーサドメイン」が続く。「スぺーサドメイン」とは、正しい細胞/細胞接触、抗原結合および活性化を可能にするために、抗原結合ドメインをエフェクタ細胞表面から離れさせる領域をいう。ヒンジドメインは、天然、合成、半合成または組換え源に由来し得る。特定の態様において、スぺーサドメインは、1つまたは複数の重鎖定常領域、たとえばCH2およびCH3をはじめとする、免疫グロブリンの一部である。スぺーサドメインは、天然の免疫グロブリンヒンジ領域または改変された免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含むことができる。

10

**【0059】**

CARの結合ドメインには概して1つまたは複数の「ヒンジドメイン」が続く、この「ヒンジドメイン」は、正しい細胞/細胞接触、抗原結合および活性化を可能にするために、抗原結合ドメインをエフェクタ細胞表面から離れさせる役割を演じる。CARは概して、結合ドメインと膜貫通ドメイン(TM)との間に1つまたは複数のヒンジドメインを含む。ヒンジドメインは、天然、合成、半合成または組換え源に由来し得る。ヒンジドメインは、天然の免疫グロブリンヒンジ領域または改変された免疫グロブリンヒンジ領域のアミノ酸配列を含むことができる。本明細書に記載されるCARにおける使用に適した例示的なヒンジドメインは、1型膜タンパク質、たとえばCD8、CD4、CD28およびCD7の細胞外領域に由来する、これらの分子からの野生型ヒンジ領域であってもよいし、改変されたものでもよい、ヒンジ領域を含む。もう1つの態様において、ヒンジドメインはCD8 ヒンジ領域を含む。

20

**【0060】**

「膜貫通ドメイン」とは、細胞外結合部分と細胞内シグナル伝達ドメインとを融合させ、CARを免疫エフェクタ細胞の原形質膜に固着させるCARの部分である。TMドメインは、天然、合成、半合成または組換え源に由来し得る。TMドメインは、T細胞受容体、CD3、CD3、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD28、CD33、CD37、CD45、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152、CD154およびPD1のアルファ、ベータまたはゼータ鎖に由来し得る(すなわち、少なくともその膜貫通領域を含み得る)。

30

**【0061】**

いくつかの態様において、本明細書において考慮されるCARは細胞内シグナル伝達ドメインを含む。「細胞内シグナル伝達ドメイン」とは、エフェクタ細胞機能、たとえば活性化、サイトカイン産生、増殖および細胞傷害活性(CAR結合標的細胞への細胞傷害性因子の放出を含む)または細胞外CARドメインへの抗原結合によって誘発される他の細胞応答を誘発するために、標的抗原への有効なCAR結合のメッセージを免疫エフェクタ細胞の内部に導入することに関与するCARの部分を含む。いくつかの態様において、本明細書において考慮されるCARは、1つまたは複数の「共刺激シグナル伝達ドメイン」および「一次シグナル伝達ドメイン」を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

40

**【0062】**

一次シグナル伝達ドメインは、TCR複合体の一次活性化を刺激的なやり方または阻害的なやり方のいずれかで調節する。刺激的なやり方で作用する一次シグナル伝達ドメインは、免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフまたはITAMとして知られるシグナル伝達モチーフを含み得る。本発明において特に有用であるITAM含有一次シグナル伝達ドメインの実例は、TCR、FcR、FcR、CD3、CD3、CD3、CD3、CD22、CD79a、CD79bおよびCD66dに由来するものを含む。

**【0063】**

50

本明細書において使用される用語「共刺激シグナル」または「共刺激ドメイン」とは、共刺激分子の細胞内シグナル伝達ドメインをいう。共刺激分子とは、抗原に結合したときTリンパ球の効率的な活性化および機能に必要な第二のシグナルを提供する、抗原受容体またはFc受容体以外の細胞表面分子である。そのような共刺激分子の実例は、CARD11、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CD54 (ICAM)、CD83、CD134 (OX40)、CD137 (4-1BB)、CD150 (SLAMF1)、CD152 (CTLA4)、CD223 (LAG3)、CD270 (HVEM)、CD273 (PD-L2)、CD274 (PD-L1)、CD278 (ICOS)、DAP10、LAT、NKD2C SLP76、TRIM、およびZAP70を含む。1つの態様において、CARは、CD28、CD137、およびCD134からなる群より選択される1つまたは複数の共刺激シグナル伝達ドメインと、CD3 一次シグナル伝達ドメインとを含む。

10

## 【0064】

いくつかの態様においては、抗体薬物複合体が提供される。特定の態様において、薬物複合体は、本明細書に記載される抗体、抗体試薬またはその抗原結合部分を含む。薬物は、たとえば、本明細書中、他の箇所に記載されている化学療法分子であることができる。いくつかの態様において、抗体薬物複合体は、抗体またはその抗原結合部分に直接コンジュゲートおよび/または結合された化学療法剤を含む。いくつかの態様において、結合は、非共有結合的、たとえば水素結合、静電またはファンデルワールス相互作用であることができるが；結合はまた、共有結合であってもよい。「コンジュゲートされた」とは、少なくとも2つの分子の共有結合をいう。いくつかの態様において、組成物は抗体薬物複合体であることができる。

20

## 【0065】

いくつかの態様においては、抗体、抗体試薬またはその抗原結合部分が、複数の化学療法分子に結合および/またはコンジュゲートされ得る。いくつかの態様においては、抗体薬物複合体が、複数の化学療法分子に結合および/またはコンジュゲートされ得る。いくつかの態様において、所与の化学療法分子と抗体またはその抗原結合部分との比は、約1：1～約1,000：1であり得、たとえば、1個の抗体試薬分子が約1～約1,000個の化学療法分子に結合、コンジュゲートなどをされ得る。

## 【0066】

いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分および化学療法剤は足場材料中に存在することができる。治療組成物における使用に適した足場材料は当技術分野において公知であり、ナノ粒子；マトリックス；ハイドロゲル；および生体材料、生体適合性および/または生分解性足場材料を含むことができるが、これらに限定されない。本明細書において使用される用語「ナノ粒子」とは、1メートルの約 $10^{-9}$ または数10億分の1のオーダーである粒子をいう。用語「ナノ粒子」は、ナノスフェア；ナノロッド；ナノシェル；およびナノプリズムを含み；これらのナノ粒子はナノネットワークの一部であってもよい。

30

## 【0067】

用語「ナノ粒子」はまた、ナノ粒子のサイズを有するリポソームおよび脂質粒子を包含する。本明細書において使用される用語「マトリックス」とは、本明細書に記載される組成物（たとえば抗体またはその抗原結合部分）の成分を含む三次元構造をいう。マトリックス構造の非限定的な例は、発泡体；ハイドロゲル；エレクトロスピン繊維；ゲル；繊維マット；スポンジ；三次元足場；不織マット；織物；編物；繊維束；ならびに繊維および他の材料フォーマットを含む（たとえば、いずれも全体として参照により本明細書に組み入れられる、Rockwood et al. Nature Protocols 2011 6:1612-1631ならびに米国特許出願公開第2011/0167602号；第2011/0009960号；第2012/0296352号；および米国特許第8,172,901号を参照）。マトリックスの構造は、組成物の所期の用途に依存して当業者が選択することができる、たとえば、エレクトロスピンマトリックスは、発泡体よりも大きい表面積を有することができる。

40

## 【0068】

いくつかの態様において、足場はハイドロゲルである。本明細書において使用される用語「ハイドロゲル」とは、水に不溶性であるが、多量の水を吸収し、保持して、安定かつ

50

多くの場合、軟らかく曲げやすい構造を形成することができる三次元ポリマー構造をいう。いくつかの態様においては、水がポリマーネットワークのポリマー鎖の間に浸透し、その後、膨潤およびハイドロゲルの形成を生じさせることができる。概して、ハイドロゲルは超吸収性である。ハイドロゲルは、生物医学的用途に望ましい多くの性質を有する。たとえば、ハイドロゲルは、非毒性かつ組織適合性に作ることができ、水、イオンおよび小分子に対して非常に透過性である。ハイドロゲルは超吸収性であり（99%超の水を含むことができる）、天然ポリマー（たとえばシルク）または合成ポリマー、たとえばPEGで構成されることができる。

【0069】

本発明において使用される「生体材料」とは、生体適合性かつ生分解性である材料をいう。本明細書において使用される用語「生体適合性」とは、物質が細胞に対して毒性ではないことをいう。いくつかの態様において、物質は、インビトロでの細胞への添加が約20%以下の細胞死しか生じさせない場合、「生体適合性」とみなされる。いくつかの態様において、物質は、インビボでの細胞への添加がインビボで炎症および/または他の有害作用を誘導しない場合、「生体適合性」とみなされる。本明細書において使用される用語「生分解性」とは、物質が生理学的条件下で分解することをいう。いくつかの態様において、生分解性物質は、細胞機構によって分解される物質である。いくつかの態様において、生分解性物質は、化学的プロセスによって分解される物質である。

【0070】

いくつかの態様において、本明細書に記載される技術は、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸配列に関する。いくつかの態様において、核酸はcDNAである。

【0071】

本明細書において使用される用語「核酸」または「核酸配列」とは、リボ核酸、デオキシリボ核酸またはそれらの類似体の単位を組み込むポリマー分子をいう。核酸は一本鎖または二本鎖であることができる。一本鎖核酸は、変性二本鎖DNAの一本鎖核酸であることができる。いくつかの態様において、核酸は、cDNA、たとえばイントロンを欠く核酸であることができる。

【0072】

抗体のアミノ酸配列変異体をコードする核酸分子は、当技術分野において公知の多様な方法によって調製される。これらの方法は、オリゴヌクレオチド媒介（または部位特異的）変異誘発、PCR変異誘発および事前に調製された抗体の変異体または非変異体バージョンのカセット変異導入による調製を含むが、これらに限定されない。本明細書に記載される少なくとも1つの抗体、部分またはポリペプチドをコードする核酸配列は、ライゲーションのための末端の平滑末端化または付着末端化、適切な末端を提供するための制限酵素消化、必要に応じた相補末端のフィルイン、望ましくない接合を避けるためのアルカリホスファターゼ処理および適切なりガーゼを用いるライゲーションを含む従来の技術にしたがって、ベクターDNAとで組み換えられることができる。そのような操作のための技術を使用して、モノクローナル抗体分子、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸配列を構築することができる。

【0073】

核酸分子、たとえばDNAは、転写および翻訳調節情報を含むヌクレオチド配列を含有し、かつそのような配列が、ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に「機能的に連結している」ならば、そのポリペプチドを「発現することができる」といわれる。機能的連結とは、調節DNA配列と、発現させることが望まれるDNA配列とが、回復可能な量でペプチドまたは抗体部分としての遺伝子発現を許すようなやり方で接続されている連結である。遺伝子発現に必要な調節領域の正確な性質は、類似の技術分野において周知であるように、生物ごとに異なり得る。

【0074】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、

10

20

30

40

50

またはCARをコードする核酸配列はベクターによって構成されている。本明細書に記載される局面のいくつかにおいて、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸配列はベクターに機能的に連結している。本明細書において使用される用語「ベクター」とは、宿主細胞への送達または異なる宿主細胞の間での移送のために設計された核酸構築物をいう。本明細書において使用されるベクターはウイルスまたは非ウイルスであることができる。用語「ベクター」は、正しい調節要素と会合すると複製されることができ、遺伝子配列を細胞に移すことができる任意の遺伝要素を包含する。ベクターは、クローニングベクター、発現ベクター、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、ウイルス、ピリオンなどを含むことができるが、これらに限定されない。

10

**【0075】**

本明細書において使用される用語「発現ベクター」とは、ベクター上の転写調節配列に結合した配列からのRNAまたはポリペプチドの発現を指示するベクターをいう。発現する配列は、必ずしもではないが多くの場合、細胞とは非相同である。発現ベクターはさらなる要素を含み得、たとえば、発現ベクターは2つの複製システムを有し得、それにより、それが2つの生物中で維持される、たとえば発現のためにヒト細胞中で維持され、かつクローニングおよび増幅のために原核生物宿主中で維持されることを可能にする。用語「発現」とは、適用可能ならば、たとえば転写、転写物プロセッシング、翻訳およびタンパク質フォールディング、改変およびプロセッシングをはじめとする、RNAおよびタンパク質の産生および適切ならばタンパク質の分泌に關与する細胞プロセスをいう。「発現産物」とは、遺伝子から転写されたRNAおよび遺伝子から転写されたmRNAの翻訳によって得られるポリペプチドをいう。用語「遺伝子」とは、適切な調節配列に機能的に連結しているとき、インピトロまたはインピボでRNAに転写される(DNA)核酸配列をいう。遺伝子は、コード領域の前および後の領域、たとえば5'非翻訳(5'UTR)または「リーダー」配列および3'UTRまたは「トレーラー」配列ならびに個々のコードセグメント(エキソン)の間に介在する配列(イントロン)を含んでもよいし、含まなくてもよい。

20

**【0076】**

本明細書において使用される用語「ウイルスベクター」とは、ウイルス由来の少なくとも1つの要素を含み、ウイルスベクター粒子中にパッケージングされる能力を有する核酸ベクター構築物をいう。ウイルスベクターは、非必須ウイルス遺伝子の代わりに、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸を含むことができる。ベクターおよび/または粒子は、インピトロまたはインピボで任意の核酸を細胞の中に移す目的に利用され得る。数多くの形態のウイルスベクターが当技術分野において公知である。

30

**【0077】**

「組換えベクター」とは、非相同核酸配列を含むベクターまたはインピボで発現することができる「導入遺伝子」をいう。本明細書に記載されるベクターは、いくつかの態様において、他の適当な組成物および治療と組み合わせることができることが理解されよう。いくつかの態様において、ベクターはエピソードベクターである。適当なエピソードベクターの使用は、対象中の関心対象のヌクレオチドを高コピー数染色体外DNA中に維持し、それによって潜在的な染色体組込み効果を排除する手段を提供する。

40

**【0078】**

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARを含む細胞、またはそのような抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸である。

**【0079】**

本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARの発現は、原核生物または真核生物細胞中で起こることができる。適当な宿主は、細菌または真核生物宿主、たとえば酵母、昆虫、真菌、鳥および哺乳動物細胞(インピボまたはインサイチャー)または哺乳動物、昆虫、鳥または酵母由来の宿主細胞を含む。哺乳動物細胞または組織

50

は、ヒト、霊長類、ハムスター、ウサギ、げっ歯類、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、ヤギ、イヌまたはネコ由来であることができるが、任意の他の哺乳動物細胞が使用されてもよい。さらに、たとえば、酵母ユビキチンヒドロラーゼシステムの使用により、ユビキチン膜貫通ポリペプチド融合タンパク質のインビボ合成を達成することができる。そのように産生された融合タンパク質がインビボで処理されて、またはインビトロで精製および処理されて、指定されたアミノ末端配列を有する本明細書に記載される抗体またはその部分の合成を許すことができる。そのうえ、直接酵母（または細菌）発現における開始コドン由来のメチオニン残基の保持に関する問題を回避し得る。グルコースに富む培地で酵母を成長させるとき大量に産生される解糖系酵素をコードする活発に発現した遺伝子からのプロモーターおよび転写終結要素を組み込む一連の酵母遺伝子発現システムのいずれかを利用して、本明細書に記載される組換え抗体またはその抗原結合部分を得ることができる。また、公知の解糖系遺伝子が非常に効率的な転写調節シグナルを提供することができる。たとえば、ホスホグリセレートキナーゼ遺伝子のプロモーターおよび転写終結シグナルを利用することができる。

10

**【0080】**

本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分の産生を昆虫中で達成することができる。たとえば、当業者に公知の方法により、膜貫通ポリペプチドを発現するように操作されたバキュロウイルスを昆虫宿主に感染させることによって。

**【0081】**

いくつかの態様において、導入されたヌクレオチド配列は、レシピエント宿主中で自律複製することができるプラスミドまたはウイルスベクターに組み込まれる。多種多様なベクターのいずれもがこの目的に用いられることができ、当業者に公知であり、利用可能である。特定のプラスミドまたはウイルスベクターを選択するとき重要な要因は、ベクターを含むレシピエント細胞がベクターを含まないレシピエント細胞から認識され、選択され得る容易さ；特定の宿主において望まれるベクターのコピーの数；および異なる種の宿主細胞の間でベクターを「行き来させる」ことができることが望ましいかどうかを含む。

20

**【0082】**

当技術分野において公知の例示的な原核生物ベクターは、たとえば大腸菌中で複製することができるものなどのプラスミドを含む。抗体、その抗原結合部分、またはCARをコードするcDNAの発現に有用な他の遺伝子発現要素は、(a) ウイルス転写プロモーターおよびそれらのエンハンサー要素、たとえばSV40初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスLTRおよびモロニー Maus 白血病ウイルス；(b) スプライス領域およびポリアデニル化部位、たとえばSV40後期領域に由来するもの、および(c) たとえばSV40中のポリアデニル化部位を含むが、これらに限定されない。免疫グロブリンcDNA遺伝子は、たとえば、発現要素として、SV40初期プロモーターおよびそのエンハンサー、マウス免疫グロブリンH鎖プロモーターエンハンサー、SV40後期領域mRNAスプライシング、ウサギSグロビン介在配列、免疫グロブリンおよびウサギSグロビンポリアデニル化部位およびSV40ポリアデニル化要素を使用して発現させることができる。

30

**【0083】**

部分cDNA、部分ゲノムDNAで構成された免疫グロブリン遺伝子の場合、転写プロモーターはヒトサイトメガロウイルスであることができ、プロモーターエンハンサーはサイトメガロウイルスおよびマウス/ヒト免疫グロブリンであることができ、mRNAスプライスおよびポリアデニル化領域は天然の染色体免疫グロブリン配列であることができる。

40

**【0084】**

いくつかの態様において、げっ歯類細胞中のcDNA遺伝子の発現の場合、転写プロモーターはウイルスLTR配列であり、転写プロモーターエンハンサーは、マウス免疫グロブリン重鎖エンハンサーおよびウイルスLTRエンハンサーのいずれかまたは両方であり、スプライス領域は、31bpよりも大きいイントロンを含み、ポリアデニル化および転写終結領域は、合成される免疫グロブリンに対応する天然の染色体配列に由来する。他の態様においては、他のタンパク質をコードするcDNA配列を上記発現要素と組み合わせて、哺乳動物細胞

50

中でのタンパク質の発現を達成する。

【0085】

遺伝子が、発現ベクターへとアセンブルされる、またはその中へ挿入される。そして、キメラ免疫グロブリン鎖遺伝子産物を発現することができるレシピエント細胞が、抗体、その抗原結合部分もしくはCARまたはキメラHもしくはキメラL鎖をコードする遺伝子を単独にトランスフェクトされる、またはキメラHおよびキメラL鎖遺伝子を同時トランスフェクトされる。トランスフェクトされたレシピエント細胞は、組み込まれた遺伝子の発現を許す条件下、培養され、発現した免疫グロブリン鎖または無傷の抗体もしくは断片が培養物から回収される。

【0086】

いくつかの態様において、抗体、その抗原結合部分、CAR、またはキメラH、およびキメラL鎖、またはそれらの部分をコードする遺伝子が、別々の発現ベクターへとアセンブルされたのち、その発現ベクターが、レシピエント細胞を同時トランスフェクトするために使用される。各ベクターは、2つの選択可能な遺伝子、すなわち、細菌システム中での選択のために設計された第一の選択可能な遺伝子および真核生物システム中での選択のために設計された第二の選択可能な遺伝子を含むことができ、各ベクターは異なる対の遺伝子を有する。この戦略は、まず細菌システム中での遺伝子の産生を指示し、増幅を可能にするベクターを生じさせる。細菌宿主中でそのように産生され、増幅された遺伝子は、その後、真核生物細胞を同時トランスフェクトし、所望のトランスフェクトされた遺伝子を有する同時トランスフェクトされた細胞の選択を許すために使用される。細菌システム中で使用するのための選択可能な遺伝子の非限定的な例は、アンピシリン耐性を付与する遺伝子およびクロラムフェニコール耐性を付与する遺伝子である。真核生物トランスフェクタントにおける使用に選択可能な遺伝子は、キサントゲンアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ遺伝子 (gptと指定) およびTn5由来のホスホトランスフェラーゼ遺伝子 (neoと指定) を含む。または、遺伝子は、同じ発現ベクター上でアセンブルされることもできる。

【0087】

発現ベクターのトランスフェクションおよび本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARの産生の場合、レシピエント細胞株は骨髄腫細胞であることができる。骨髄腫細胞は、トランスフェクトされた免疫グロブリン遺伝子によってコードされる免疫グロブリンを合成し、アセンブルし、分泌し、免疫グロブリンのグリコシル化のための機序を有することができる。たとえば、いくつかの態様において、レシピエント細胞は組換えIg産生性骨髄腫細胞SP2/0 (ATCC #CRL 8287) である。SP2/0細胞は、トランスフェクトされた遺伝子によってコードされる免疫グロブリンのみを産生する。骨髄腫細胞は、培養物中で成長させることもできるし、分泌された免疫グロブリンを腹水から得ることができるマウスの腹腔中で成長させることもできる。他の適当なレシピエント細胞は、リンパ系細胞、たとえばヒトもしくは非ヒト由来のBリンパ球、ヒトもしくは非ヒト由来のハイブリドーマ細胞、または種間ヘテロハイブリドーマ細胞を含む。

【0088】

キメラ、ヒト化または複合ヒト抗体構築物、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分および/またはCARを有する発現ベクターは、当業者には公知であるような、形質転換、トランスフェクション、コンジュゲーション、プロトプラスト融合、リン酸カルシウム沈殿およびジエチルアミノエチル (DEAE) デキストランなどのポリカチオンの適用などの生化学的手段ならびにエレクトロポレーション、ダイレクトマイクロインジェクションおよびマイクロピペットボンバードメントなどの機械的手段を含む多様な適当な手段により、適切な宿主細胞に導入することができる。

【0089】

従来から、モノクローナル抗体は、マウスハイブリドーマ系統中の天然分子として産生されてきた。その技術に加えて、本明細書に記載される方法および組成物は、モノクローナル抗体の組換えDNA発現を提供する。これは、選ばれた宿主種中でのヒト化抗体ならびに一連の抗体由来物および融合タンパク質の産生を可能にする。また、細菌、酵母、トラ

10

20

30

40

50

ンスジェニック動物および鶏卵中の抗体の産生が、ハイブリドーマベースの産生システムに代わるものである。トランスジェニック動物の主な利点は、再生可能な源からの潜在的に高い収率である。

【0090】

1つの局面においては、本明細書に記載される単離された抗体、その抗原結合部分、またはCARを含む細胞が提供される。いくつかの態様において、本明細書に記載される単離された抗体、その抗原結合部分、またはCARは、細胞表面に発現する。いくつかの態様において、細胞は、本明細書に記載される単離された抗体、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸を含む。

【0091】

いくつかの態様において、細胞は免疫細胞である。本発明において使用される「免疫細胞」とは、免疫応答において役割を演じる細胞をいう。免疫細胞は造血系由来であり、リンパ球、たとえばB細胞およびT細胞；ナチュラルキラー細胞；骨髄性細胞、たとえば単球、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、好塩基球および顆粒球を含む。いくつかの態様において、細胞は、T細胞；NK細胞；NKT細胞；リンパ球、たとえばB細胞およびT細胞；ならびに骨髄性細胞、たとえば単球、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、好塩基球および顆粒球である。

【0092】

特定の態様においては、細胞（たとえば免疫細胞）が、CARをコードするレトロウイルスベクター、たとえばレンチウイルスベクターを形質導入される。たとえば、免疫エフェクタ細胞が、CD3、CD28、4-1BB、Ox40またはそれらの任意の組み合わせの細胞内シグナル伝達ドメインを有する、PD1ポリペプチドに結合する抗PD1抗体またはその抗原結合部分を含む、CARをコードするベクターを形質導入される。したがって、これらの形質導入された細胞は、CAR媒介細胞傷害性反応を誘発することができる

【0093】

レトロウイルスは遺伝子送達のための一般的なツールである。特定の態様において、レトロウイルスは、キメラ抗体受容体（CAR）を細胞に送達するために使用される。本明細書において使用される用語「レトロウイルス」とは、そのゲノムRNAを線形二本鎖DNAコピーに転写したのち、そのゲノムDNAを宿主ゲノム中に共有結合的に組み込むRNAウイルスをいう。ひとたびウイルスが宿主ゲノム中に組み込まれたならば、それは「プロウイルス」と呼ばれる。プロウイルスは、RNAポリメラーゼIIのための鋳型として働き、新たなウイルス粒子を製造するために必要な構造的タンパク質および酵素をコードするRNA分子の発現を指示する。

【0094】

特定の態様における使用に適した例示的なレトロウイルスは、モロニー Maus 白血病ウイルス（M-MuLV）、モロニー Maus 肉腫ウイルス（MoMSV）、ハーベイ Maus 肉腫ウイルス（HaMuSV）、Maus 乳癌ウイルス（MuMTV）、テナガザル白血病ウイルス（GaLV）、猫白血病ウイルス（FLV）、スプマウイルス、Friend Maus 白血病ウイルス、Maus 幹細胞ウイルス（MSCV）およびラウス肉腫ウイルス（RSV）およびレンチウイルスを含むが、これらに限定されない。

【0095】

本明細書において使用される用語「レンチウイルス」とは、複合レトロウイルスの群（または属）をいう。例示的なレンチウイルスは、HIV（ヒト免疫不全ウイルス；HIVタイプ1およびHIVタイプ2を含む）；ピスナ・マエディウイルス（VMV）；山羊関節炎脳炎ウイルス（CAEV）；馬伝染性貧血ウイルス（EIAV）；猫免疫不全ウイルス（FIV）；ウシ免疫不全ウイルス（BIV）；およびサル免疫不全ウイルス（SIV）を含むが、これらに限定されない。1つの態様において、HIVベースのベクターバックボーン（すなわち、HIV cis作用性配列要素）が好ましい。特定の態様においては、レンチウイルスが、CARを含むポリヌクレオチドを細胞に送達するために使用される。

【0096】

10

20

30

40

50

レトロウイルスベクター、より具体的にはレンチウイルスベクターは、本発明の特定の態様を実施する際に使用され得る。したがって、本明細書において使用される用語「レトロウイルス」または「レトロウイルスベクター」は、それぞれ「レンチウイルス」および「レンチウイルスベクター」を含むことを意味する。

【0097】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR、または本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸、または本明細書に記載される細胞を含む組成物である。いくつかの態様において、組成物は薬学的組成物である。本明細書において使用される用語「薬学的組成物」とは、製薬産業における使用に許容される薬学的に許容される担体と組み合わされた有効物質をいう。用語「薬学的に許容される」は、本明細書において、健全な医学的判断の範囲内でヒトおよび動物の組織との接触における使用に適し、妥当なベネフィット/リスク比と釣り合って過度な細胞傷害性、刺激、アレルギー反応または他の障害もしくは合併症をもたらさない化合物、物質、組成物および/または剤形を指すために用いられる。

10

【0098】

中に溶解または分散した有効成分を含む薬理的組成物の調製は当技術分野において十分に理解されており、製剤化に基づいて限定される必要はない。通常、そのような組成物は、液体溶液または懸濁液として注射可能に調製されるが、使用前に液体中に溶解または懸濁させるのに適した固体形態を調製することもできる。調製物はまた、乳剤化されることもできるし、リポソーム組成物として提示されることもできる。有効成分は、薬学的に許容され、有効成分と適合性である賦形剤と、本明細書に記載される治療法における使用に適した量で混合することができる。適当な賦形剤は、たとえば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどおよびそれらの組み合わせである。加えて、望むならば、組成物は、有効成分の有効性を増強または維持する少量の補助物質、たとえば湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤などを含むこともできる。本明細書に記載される治療組成物は、成分の薬学的に許容される塩をその中に含むことができる。薬学的に許容される塩は、無機酸、たとえば塩酸もしくはリン酸または有機酸、たとえば酢酸、酒石酸、マンデル酸などと形成される酸付加塩（ポリペプチドの遊離アミノ基とで形成される）を含む。また、遊離カルボキシル基とで形成される塩が、無機塩基、たとえばナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウムまたは水酸化第二鉄および有機塩基、たとえばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来することができる。生理学的に許容される担体は当技術分野において周知である。例示的な液体担体は、有効成分および水の他には物質を含まない、または緩衝液、たとえば生理学的pH値のリン酸ナトリウム、生理食塩水または両方を含む無菌水溶液、たとえばリン酸緩衝生理食塩水である。なおさらに、水性担体は、1つよりも多い緩衝塩および塩、たとえば塩化ナトリウムおよびカリウム、デキストロース、ポリエチレングリコールおよび他の溶質を含むことができる。液体組成物はまた、水に加えて、および水を除いて、液相を含むことができる。そのようなさらなる液相の例は、グリセリン、植物油、たとえば綿実油および水油形エマルジョンである。特定の障害または状態の治療に有効である、本発明に使用される有効物質の量は、その障害または状態の性質に依存し、標準的な臨床技術によって決定することができる。

20

30

40

【0099】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARを含む組成物または本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARをコードする核酸は凍結乾燥物であることができる。

【0100】

いくつかの態様において、本明細書に記載される技術は、本明細書に記載される組成物の治療有効量を含むシリンジまたはカテーテル、たとえば臓器特異的カテーテル（たとえば腎臓カテーテル、胆管カテーテル、心臓カテーテルなど）に関する。

50

## 【0101】

本明細書において使用される用語「治療有効量」、「有効量」または「有効用量」とは、腫瘍または悪性腫瘍の治療、予防または管理において治療的または美的ベネフィットを提供する量、たとえば、腫瘍または悪性腫瘍の少なくとも1つの症状、兆候またはマーカの統計的に有意な減少を提供する量をいう。治療有効量の決定は当業者の能力の十分に範囲内である。概して、治療有効量は、対象の病歴、年齢、状態、性別ならびに対象における医学的状态の重度およびタイプならびに他の薬学的有効物質の投与とともに変わることができる。

## 【0102】

1つの局面において、本明細書に記載される技術は、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分もしくはCAR、または本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分もしくはCARをコードする核酸を対象に投与する工程を含む方法に関する。いくつかの態様において、対象は、癌および/または悪性腫瘍の治療を必要としている。いくつかの態様において、方法は、対象を治療する方法である。いくつかの態様において、方法は、対象における癌を治療する方法である。

10

## 【0103】

1つの局面において、本明細書に記載されるものは、癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法であって、本明細書に記載される細胞、たとえば、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARを含む細胞を投与する工程を含む方法である。いくつかの態様において、細胞は免疫細胞である。

20

## 【0104】

1つの局面において、本明細書に記載されるものは、癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法であって、本明細書に記載される核酸またはその核酸を含む免疫細胞を対象に投与する工程を含み、対象の免疫細胞が、核酸によってコードされるポリペプチドを発現させられる方法である。いくつかの態様において、免疫細胞はT細胞である。核酸は、たとえば、所望の細胞型に選択的に結合する細胞型特異的プロモーターおよび/または組成物の使用により、特定の細胞型を標的化することができる。たとえば、アプタマーへの核酸のコンジュゲーションが標的化送達を許すことができる (McNamara, J.O., et al. (2006) Nat. Biotechnol. 24:1005-1015)。代替態様において、核酸は、薬物送達システム、たとえばナノ粒子、 dendリマー、ポリマー、リポソームまたはカチオン送達システムを使用して送達することができる。正荷電カチオン送達システムが核酸分子 (負荷電) の結合を容易にし、また、負荷電細胞膜における相互作用を増強して、細胞による核酸の効率的な取り込みを許す。カチオン性脂質、 dendリマーまたはポリマーは、核酸に結合させることもできるし、核酸を収容する小胞またはミセルを形成するように誘導することもできる (たとえば、Kim S.H., et al. (2008) Journal of Controlled Release 129 (2):107-116を参照)。小胞またはミセルの形成はさらに、全身投与されたときの核酸の分解を防ぐ。カチオン阻害核酸複合体を作製し、投与する方法は当業者の能力の十分に範囲内である。核酸の全身送達に有用な薬物送達システムのいくつかの非限定的な例は、DO TAPオリゴフェクタミン、「固体核酸脂質粒子」、カルジオリピン、ポリエチレンジアミン、Arg-Gly-Asp (RGD) ペプチドおよびポリアミドアミンを含む。いくつかの態様において、核酸は、全身投与の場合、シクロデキストリンとで複合体を形成する。核酸およびシクロデキストリンの投与および薬学的組成物の方法は、全体として参照により本明細書に組み入れられる米国特許第7,427,605号に見ることができる。核酸の標的化送達は、たとえば、いずれも全体として参照により本明細書に組み入れられる、Ikeda and Taira Pharmaceutical Res 2006 23:1631-1640 ; Soutschek et al, Nature 2004 432:173-8およびLorenze et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 14, 4975-4977 (2004)に記載されている。実例として、核酸は、免疫細胞上に発現した受容体、たとえばTCRのリガンドを含むリポソームに阻害物質を封入することにより、免疫細胞を標的化することができる。いくつかの態様において、リポソームは、免疫細胞に特異的なアプタマーを含むことができる。

30

40

## 【0105】

50

いくつかの態様において、本明細書に記載される方法はCAR-T細胞療法に関する。CAR-T細胞および関連の治療法は、対象を治療するために、標的化された細胞型（たとえば癌細胞）に特異的に結合するCARを発現する免疫細胞（たとえばT細胞）の養子移入に関する。いくつかの態様において、治療法の一部として投与される細胞は対象にとって自己由来であることができる。いくつかの態様において、治療法の一部として投与される細胞は対象にとって自己由来ではない。いくつかの態様において、細胞は、CARを発現するように操作および/または遺伝子改変されている。CAR-T療法のさらなる説明は、たとえば、いずれも全体として参照により本明細書に組み入れられる、Maus et al. Blood 2014 123:262 4-35 ; Reardon et al. Neuro-Oncology 2014 16:1441-1458 ; Hoyos et al. Haematologica 2012 97:1622 ; Byrd et al. J Clin Oncol 2014 32:3039-47 ; Maher et al. Cancer Res 2009 69:4559-4562 ; および Tamada et al. Clin Cancer Res 2012 18:6436-6445に見ることができる。

10

#### 【0106】

本明細書において使用される用語「癌」は、概して、異常な細胞が無制御的に分裂し、近くの組織を浸潤することができる疾患または状態のクラスに関する。癌細胞はまた、血液およびリンパ系を通して体の他の部分に拡散することができる。主要な癌のタイプがいくつかある。癌腫とは、皮膚中または内臓の内側または外側を覆う組織中で発生する癌である。肉腫とは、骨、軟骨、脂肪、筋肉、血管または他の結合もしくは支持組織中で発生する癌である。白血病とは、骨髄などの血液形成組織中で発生し、多数の異常な血液細胞を産生させ、血液に入らせる癌である。リンパ腫および多発性骨髄腫とは、免疫系の細胞中で発生する癌である。中枢神経系癌とは、脳および脊髄の組織中で発生する癌である。

20

#### 【0107】

局面のいずれかのいくつかの態様において、癌は原発性癌である。局面のいずれかのいくつかの態様において、癌は悪性癌である。本明細書において使用される用語「悪性」とは、腫瘍細胞の群が、無制御な成長（すなわち、正常な限界を超える分裂）、浸潤（すなわち、隣接組織への侵入および隣接組織の破壊）および転移（すなわち、リンパまたは血液を介する体の他の部位への拡散）の1つまたは複数を示す癌をいう。本明細書において使用される用語「転移」とは、体のある部分から別の部分への癌の拡散をいう。拡散した細胞によって形成された腫瘍は「転移性腫瘍」または「転移」と呼ばれる。転移性腫瘍は、元の（原発性）腫瘍中の細胞に類似する細胞を含む。

30

#### 【0108】

本明細書において使用される用語「良性」または「非悪性」とは、腫瘍が、より大きく成長し得るが、体の他の部分には拡散しないことをいう。良性腫瘍は自己限定性であり、通常、浸潤または転移しない。

#### 【0109】

「癌細胞」または「腫瘍細胞」とは、癌性の成長または組織の個々の細胞をいう。腫瘍とは、概して、異常な細胞成長によって形成される、良性、前悪性または悪性であり得る腫脹または病変をいう。大部分の癌細胞は腫瘍を形成するが、いくつか、たとえば白血病は必ずしも腫瘍を形成しない。腫瘍を形成する癌細胞の場合、「癌（細胞）」および「腫瘍（細胞）」は互換可能に使用される。

40

#### 【0110】

癌または腫瘍を有する対象は、客観的に計測可能な癌細胞が体の中に存在する対象である。この定義に含まれるものは、悪性であり、活発に増殖する癌および潜在的に休眠中の腫瘍または微小転移である。元の場所から移動し、他の重要な臓器に接種する癌は、最終的に、影響を受けた臓器の機能低下を通して対象を死に至らしめることができる。白血病などの造血器癌は、対象中の正常な造血区画を打ち破り、それによって最終的に死を招く造血不全（貧血、血小板減少症および好中球減少症の形態）をもたらす。

#### 【0111】

癌の例は、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、白血病、基底細胞癌、胆道癌；膀胱癌；骨癌；脳およびCNS癌；乳癌；腹膜癌；子宮頸癌；絨毛癌；結腸直腸癌；結合組織癌；消

50

化器系の癌；子宮内膜癌；食道癌；眼の癌；頭頸部癌；胃癌（胃腸癌を含む）；膠芽腫（GBM）；肝癌；肝細胞癌；上皮内腫瘍；腎臓癌；喉頭癌；白血病；肝臓癌；肺癌（たとえば小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌および肺扁平上皮癌）；ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫を含むリンパ腫；黒色腫；骨髄腫；神経芽細胞腫；口腔癌（たとえば唇、舌、口および咽頭）；卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；網膜芽細胞腫；横紋筋肉腫；直腸癌；呼吸器系の癌；唾液腺癌；肉腫；皮膚癌；扁平上皮癌；胃癌；精巣癌；甲状腺癌；子宮癌または子宮内膜癌；泌尿器系の癌；外陰癌；ならびに他の癌腫および肉腫；ならびにB細胞リンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（NHL）；小リンパ球（SL）NHL；中悪性度／濾胞性NHL；中悪性度びまん性NHL；高悪性度免疫芽細胞性NHL；高悪性度リンパ芽球性NHL；高悪性度小型非きれこみ核細胞性NHL；巨大腫瘤性病変NHL；マントル細胞リンパ腫；エイズ関連リンパ腫；およびウォルデンストロムのマクログロブリン血症を含む）；慢性リンパ性白血病（CLL）；急性リンパ芽球性白血病（ALL）；毛様細胞白血病；慢性骨髄芽球性白血病；および移植後リンパ増殖性障害（PTLD）ならびに母斑症と関連する異常な血管増殖、浮腫（たとえば脳腫瘍に関連するもの）およびメイグス症候群を含むが、これらに限定されない。

10

## 【0112】

局面のいずれかのいくつかの態様において、癌は、非小細胞肺癌；黒色腫；転移性黒色腫；腎細胞癌；頭頸部扁平上皮癌；ホジキンリンパ腫；古典的ホジキンリンパ腫；および／または尿路上皮癌であることができる。

## 【0113】

「癌細胞」とは、必ずしも新たな遺伝物質の取り込みを伴わない自然発生性または誘導性の表現型変化を有する、インピボ、エクスピボまたは組織培養中の癌性、前癌性または形質転換細胞である。形質転換は、形質転換性ウイルスの感染および新たなゲノム核酸の組み込みまたは外来性核酸の取り込みから生じることができ、自然発生的に、または内在性遺伝子を変異させる発癌物質への曝露ののち、生じることがもできる。形質転換／癌は、形態学的変化、細胞の不死化、異常な成長調節、病巣形成、足場非依存性、悪性腫瘍、接触阻害および成長密度制限の喪失、成長因子または血清非依存性、腫瘍特異的マーカ、浸潤性または転移ならびにヌードマウスなどの適当な動物宿主における腫瘍成長と関連している。

20

## 【0114】

本明細書において使用される「対象」はヒトまたは動物を意味する。普通、動物は脊椎動物、たとえば霊長類、げっ歯類、家畜または狩猟動物である。霊長類は、チンパンジー、カニクイザル、クモザルおよびマカクザル、たとえばアカゲザルを含む。げっ歯類は、マウス、ラット、ウッドチャック、フェレット、ウサギおよびハムスターを含む。家畜および狩猟動物は、ウシ、ウマ、ブタ、シカ、パイソン、スイギュウ、猫種、たとえば飼い猫、犬種、たとえばイヌ、キツネ、オオカミ、鳥類、たとえばニワトリ、エミュー、ダチョウおよび魚、たとえばマス、ナマズおよびサケを含む。患者または対象は、前記の任意のサブセット、たとえば上記のすべてを含むが、1つまたは複数の群または種、たとえばヒト、霊長類またはげっ歯類を除外する。特定の態様において、対象は哺乳動物、たとえば霊長類、たとえばヒトである。本明細書において、用語「患者」、「個体」および「対象」は互換可能に使用される。

30

40

## 【0115】

好ましくは、対象は哺乳動物である。哺乳動物は、ヒト、非ヒト霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマまたはウシであることができるが、これらの例に限定されない。ヒト以外の哺乳動物を、たとえば、たとえば様々な癌の動物モデルを表す対象として、好都合に使用することもできる。加えて、本明細書に記載される方法は、家畜および／またはペットを治療するために使用することもできる。対象は雄または雌であることができる。

## 【0116】

対象は、治療を必要とする状態（たとえば癌）またはそのような状態に関連する1つまたは複数の合併症を病む、または有するとして以前に診断または同定されているが、任意

50

選択で、状態またはその状態に関連する1つ以上の合併症の治療をまだ受けていなくてもよい対象であることができる。または、対象は、治療を必要とする状態またはそのような状態に関連する1つまたは複数の合併症を有するとして以前に診断されていない対象であることもできる。たとえば、対象は、状態または状態に関連する1つ以上の合併症の1つまたは複数の危険因子を示す対象であることもできるし、危険因子を示さない対象であることもできる。特定の状態の治療を「必要とする対象」は、その状態を有する、その状態を有すると診断された、またはその状態を発症する危険のある対象であることができる。

【0117】

疾患、障害または医学的状态を参照して本明細書において使用される用語「治療する」、「治療」、「治療する段階」または「改善」とは、その目的が症状または状態の進行または重度を反転させる、緩和する、改善する、抑制する、減速させる、または停止させることである、状態に対する治療的処置をいう。用語「治療」は、状態の少なくとも1つの有害作用または症状を軽減または緩和することを含む。1つまたは複数の症状または臨床マーカーが減少するならば、概して治療は「有効」である。または、状態の進行が低減または停止するならば、治療は「有効」である。すなわち、「治療」は、症状またはマーカーの改善だけでなく、治療の非存在下で予想されるであろう症状の進行または悪化の停止または少なくとも減速をも含む。有益な、または望ましい臨床結果は、1つまたは複数の症状の緩和、障害の程度の縮小、腫瘍または悪性腫瘍の安定化（すなわち悪化しない）状態、腫瘍成長および/または転移の遅延または減速ならびに治療の非存在において予想される寿命と比べての寿命の延長を含むが、これらに限定されない。本明細書において使用される用語「投与」とは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分もしくはCAR、または抗体、抗体試薬、その抗原結合部分もしくはCARをコードする核酸をはじめとする薬剤または本明細書に記載されるそのような薬剤を含む細胞を、所望の部位における薬剤の少なくとも部分的な局在を生じさせる方法または経路により、対象の中に配置することをいう。本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分もしくはCAR、または抗体、抗体試薬、その抗原結合部分もしくはCARをコードする核酸、または本明細書に開示される本明細書に記載されるそのような薬剤を含む細胞を含む薬学的組成物は、対象において有効な治療を生じさせる任意の適切な経路によって投与することができる。

10

20

【0118】

本明細書において考慮される組成物の投与は、エアロゾル吸入、注射、経口摂取、輸注、内植または移植を含む、任意の好都合なやり方で実施され得る。好ましい態様において、組成物は非経口投与される。本明細書において使用される用語「非経口投与」および「非経口的に投与」とは、経腸および局所投与以外の、普通は注射による投与の形態を指し、非限定的に、血管内、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、腫瘍内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、脊髄内および胸骨内注射および注入を含む。1つの態様において、本明細書において考慮される組成物は、腫瘍、リンパ節または感染部位への直接注入によって対象に投与される。

30

【0119】

概して、本明細書に記載される細胞、たとえばT細胞または免疫細胞を含む薬学的組成物は、細胞 $10^2 \sim 10^{10}$ 個/体重1kg、好ましくは細胞 $10^5 \sim 10^6$ 個/体重1kgの投与量（これらの範囲内のすべて整数値を含む）で投与され得るということができる。細胞の数は、その中に含まれる細胞のタイプと同じく、組成物が意図される最終用途に依存する。本明細書において提供される用途の場合、細胞は、概して1リットル以下の量であり、500mL以下、さらには250mLまたは100mL以下であることができる。したがって、所望の細胞密度は通常、 $10^6$ 個/mlよりも高く、概して $10^7$ 個/mlよりも高く、概して $10^8$ 個/ml以上である。臨床的に関連する数の免疫細胞を、累積的に $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、 $10^{10}$ 、 $10^{11}$ または $10^{12}$ 個に等しい、またはそれを超える複数の注入分に割り当てることができる。本発明のいくつかの局面においては、特に注入される細胞のすべてが特定の標的抗原に向け直されるため、 $10^6$ 個/キログラム（患者1人あたり $10^6 \sim 10^{11}$ 個）のより少ない数の細胞を投与し得る。CAR発現細胞組成物は、これらの範囲の投与量で複数回、投与され得る。細胞

40

50

は、治療を受ける患者に対して同種異系、同系、異種または自家であり得る。望むならば、治療はまた、免疫応答の誘導を増強するために、本明細書に記載されるマイトジェン（たとえばPHA）またはリンホカイン、サイトカインおよび/またはケモカイン（たとえばFN-、IL-2、IL-12、TNF-アルファ、IL-18およびTNF-ベータ、GM-CSF、IL-4、IL-13、Flt3-L、RANTES、MIP1 など）の投与を含んでもよい。いくつかの態様において、投与量は、体重1kgあたり細胞約 $1 \times 10^5$ 個～約 $1 \times 10^8$ 個であることができる。いくつかの態様において、投与量は、体重1kgあたり細胞約 $1 \times 10^6$ 個～約 $1 \times 10^7$ 個であることができる。いくつかの態様において、投与量は、体重1kgあたり細胞約 $1 \times 10^6$ 個であることができる。いくつかの態様においては、1回の細胞服用量を投与することができる。いくつかの態様において、細胞の服用は、たとえば1回、2回またはより多く繰り返すことができる。いくつかの態様において、細胞の服用量は、たとえば1日1回、週1回または月1回のペースで投与することができる。

10

**【0120】**

薬剤の投与量範囲は効力に依存し、所望の効果、たとえば腫瘍成長の減速または腫瘍サイズの減少を生じさせるのに十分な量を包含する。投与量は、許容されない有害な副作用を生じさせるほどの大きさであるべきではない。概して、投与量は、患者の年齢、状態および性別とともに変わり、当業者が決定することができる。投与量はまた、任意の合併症の場合には、個々の医師が調節することができる。いくつかの態様において、投与量は0.001mg/体重1kg～0.5mg/体重1kgの範囲である。いくつかの態様において、用量範囲は5 $\mu$ g/体重1kg～100 $\mu$ g/体重kgである。または、用量範囲は、1 $\mu$ g/mL～1000 $\mu$ g/mLの血清レベルを維持するように滴定することもできる。全身投与の場合、対象は、治療量、たとえば0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、40mg/kg、50mg/kgまたはより多くを投与されることができ

20

**【0121】**

上記用量の投与が繰り返されることができ。いくつかの態様において、用量は、1日1回または1日複数回、たとえば非限定的に1日3回、投与される。いくつかの態様において、上記用量は、1日1回、数週間または数ヶ月間、投与される。治療の期間は、対象の臨床経過および治療への応答性に依存する。

**【0122】**

いくつかの態様において、用量は約2mg/kg～約15mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約2mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約4mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約5mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約6mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約8mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約10mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約15mg/kgであることができる。いくつかの態様において、用量は約100mg/m<sup>2</sup>～約700mg/m<sup>2</sup>であることができる。いくつかの態様において、用量は約250mg/m<sup>2</sup>であることができる。いくつかの態様において、用量は約375mg/m<sup>2</sup>であることができる。いくつかの態様において、用量は約400mg/m<sup>2</sup>であることができる。いくつかの態様において、用量は約500mg/m<sup>2</sup>であることができる。

30

40

**【0123】**

いくつかの態様において、用量は静脈投与することができる。いくつかの態様において、静脈投与は、約10分～約3時間の期間にわたり実施される注入であることができる。いくつかの態様において、静脈投与は、約30分～約90分の期間にわたり実施される注入であることができる。

**【0124】**

いくつかの態様において、用量は約週1回、投与することができる。いくつかの態様において、用量は週1回、約12週間～約18週間、投与することができる。いくつかの態様において、用量は約2週ごとに投与することができる。いくつかの態様において、用量は約3週ごとに投与すること

50

ができる。いくつかの態様において、用量は、約2mg/kg～約15mg/kgを約2週ごとに投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約2mg/kg～約15mg/kgを約3週ごとに投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約2mg/kg～約15mg/kgを約2週ごとに静脈投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約200mg/m<sup>2</sup>～約400mg/m<sup>2</sup>を約週1回、静脈投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約200mg/m<sup>2</sup>～約400mg/m<sup>2</sup>を約2週ごとに静脈投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約200mg/m<sup>2</sup>～約400mg/m<sup>2</sup>を約3週ごとに静脈投与することができる。いくつかの態様においては、合計で約2～約10の用量が投与される。いくつかの態様においては、合計4つの用量が投与される。いくつかの態様においては、合計5つの用量が投与される。いくつかの態様においては、合計6つの用量が投与される。いくつかの態様においては、合計7つの用量が投与される。いくつかの態様においては、合計8つの用量が投与される。いくつかの態様において、投与は合計約4週間～約12週間、実施される。いくつかの態様において、投与は合計約6週間、実施される。いくつかの態様において、投与は合計約8週間、実施される。いくつかの態様において、投与は合計約12週間、実施される。いくつかの態様において、初回量は後続の用量の約1.5倍～約2.5倍の大きさであることができる。

10

**【0125】**

いくつかの態様において、用量は約1mg～約2000mgであることができる。いくつかの態様において、用量は約3mgであることができる。いくつかの態様において、用量は約10mgであることができる。いくつかの態様において、用量は約30mgであることができる。いくつかの態様において、用量は約1000mgであることができる。いくつかの態様において、用量は約2000mgであることができる。いくつかの態様において、用量は、約3mgを1日1回、静脈注入によって投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約10mgを1日1回、静脈注入によって投与することができる。いくつかの態様において、用量は、約30mgを週3回、静脈注入によって投与することができる。

20

**【0126】**

治療有効量は、腫瘍サイズ、腫瘍成長などにおいて統計的に有意な計測可能な変化を生じさせるのに十分である薬剤の量である（効力計測は本明細書中、以下に説明される）。そのような有効量は、臨床試験および動物実験において測定することができる。

30

**【0127】**

薬剤は、注射により、または時間をかけて徐々に注入することにより、静脈投与することができる。たとえば所与のルートに適切に製剤化されるならば、本明細書に記載される方法および組成物に有用な薬剤は、静脈内、鼻腔内、吸入、腹腔内、筋肉内、皮下、腔内投与ことができ、望むならば蠕動的な手段または当業者に公知の他の手段によって送達することができる。本明細書において使用される化合物は、癌を有する患者に経口、静脈内または筋肉内投与されることが好ましい。また、腫瘍塊への直接的な局所投与が特に考慮される。

**【0128】**

少なくとも1つの薬剤を含む治療組成物は、好都合には、たとえば単位用量で投与することができる。治療組成物を参照して使用される用語「単位用量」とは、対象のための1回服用分として適した物理的に別々の単位を指し、各単位が、所望の治療効果を生じさせるように計算された所定の量の有効物質を、必要とされる生理学的に許容される希釈剤、すなわち担体または溶媒とともに含む。

40

**【0129】**

組成物は、剤形と適合するやり方で、かつ治療有効量で投与される。投与される量およびタイミングは、治療される対象、有効成分を利用する対象のシステムの能力および所望の治療効果の程度に依存する。

**【0130】**

投与される必要がある有効成分の正確な量は、医師の判断に依存し、個体ごとに特定さ

50

れる。しかし、全身投与に適した投与量範囲は本明細書に開示されており、投与経路に依存する。投与に適したレジメンもまた様々であるが、初回投与と、その後1時間以上の間隔で、後続の注射または他の投与による反復投与が典型的である。または、インビボ治療法のために指定された範囲の血中濃度を維持するのに十分な連続静脈内注入が考えられる。

#### 【0131】

いくつかの態様において、方法はさらに、本明細書に記載される薬学的組成物を、併用療法の一部としての1つまたは複数のさらなる化学療法剤、生物学的製剤、薬物または治療とともに投与する工程を含む。いくつかのそのような態様において、化学療法剤、生物学的製剤、薬物または治療は、放射線療法、手術、抗体試薬、および/または小分子からなる群より選択される。

10

#### 【0132】

本明細書に記載される方法のいくつかの態様において、方法はさらに、本明細書に記載される薬学的組成物を投与される対象に1つまたは複数の化学療法剤を投与する工程を含む。化学療法剤の非限定的な例は、アルキル化剤、たとえばチオテパおよびCYTOXAN（登録商標）シクロホスファミド；アルキルホスホネート類、たとえばブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファン；アジリジン類、たとえばベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパおよびウレドーパ；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミドおよびトリメチローロメラミンを含むエチレンイミン類およびメチルアメラミン類；アセトゲニン類（特にプラタシンおよびプラタシノン）；カンプトテシン類（合成類似体トポテカンを含む）；プリオスタチン；カリスタチン；CC-1065（そのアドゼレシン、カルゼレシンおよびビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン1およびクリプトフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似体KW-2189およびCB1-TM1を含む）；エリユテロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン類；スポンギスタチン；窒素マスタード類、たとえばクロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベムピチン、フェネスチリン、プレドニムスチン、トロフォスファミド、ウラシルマスタード；ニトロソ尿素類、たとえばカルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチンおよびラニムヌスチン；抗生物質、たとえばエンジイン抗生物質（たとえばカリケアミシン、特にカリケアマイシガンマ11およびカリケアマイシオメガ11；ダイネミシンAを含むダイネミシン）；ピスホスホネート類、たとえばクロドロネート；エスペラミシン類；ならびにネオカルジノスタチン発色団および関連する色素タンパク質エンジイン抗生発色団）、アクラシノマイシン類、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、プレオマイシン類、カクチノマイシン、カラピシン、カミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ADRIAMYCIN（登録商標）ドキシソルピニン（モルホリノ-ドキシソルピシン、シアノモルホリノ-ドキシソルピニン、2-ピロリノ-ドキシソルピニンおよびデオキシドキシソルピシンを含む）、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンCなどのマイトマイシン類、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシン；代謝拮抗物質、たとえばメトトレキサートおよび5-フルオロウラシル（5-FU）；葉酸類似体、たとえばデノブテリン、メトトレキサート、プテロブテリン、トリメトレキサート；プリン類似体、たとえばフルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、たとえばアンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン；アンドロゲン類、たとえばカルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗副腎薬、たとえばアミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充薬、

20

30

40

50

たとえばフロリン酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレプリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ピサントレン；エダトレキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジコン；エルホルミチン；酢酸エリブチニウム；エポチロン類；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイド類、たとえばメイタンシンおよびアンサミトシン類；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖類複合体（JHS Natural Products、Eugene, Oreg.）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン類（特にT-2毒素、ベラクリンA、ロリジンAおよびアングジン）；ウレタン；ピンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド類、たとえばTAXOL（登録商標）パクリタキセル（Bristol-Myers Squibb Oncology、Princeton, N.J.）、ABRAXANE（登録商標）クレモフォールフリーのアルブミン操作されたパクリタキセルのナノ粒子製剤（American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Ill.）およびTAXOTERE（登録商標）ドキセタキセル（Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France）；クロランブシル；GEMZAR（登録商標）ゲムシタピン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；白金類似体、たとえばシスプラチン、オキサリプラチンおよびカルボプラチン；ピンプラスチン；白金；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；NAVELBINE（登録商標）ピノレルピン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；イリノテカン（Camptosar、CPT-11）（5-FUおよびロイコボリンとのイリノテカンの治療レジメンを含む）；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイド類、たとえばレチノイン酸；カペシタピン；コンプレタスタチン；ロイコボリン（LV）；オキサリプラチン治療レジメン（FOLFOX）を含むオキサリプラチン；ラパチニブ（Tykerb（登録商標））；細胞増殖を減少させるPKC-アルファ、Raf、H-Ras、EGFR（たとえばエルロチニブ（Tarceva（登録商標）））およびVEGF-Aの阻害剤ならびに上記のいずれか1つの薬学的に許容される塩、酸または誘導体を含むことができる。

10

20

30

40

50

#### 【0133】

本明細書において使用される用語「細胞毒性剤」とは、細胞の機能を阻害または阻止する、および/または細胞の崩壊を生じさせる物質をいう。この用語は、放射性同位体（たとえば $At^{211}$ 、 $I^{131}$ 、 $I^{125}$ 、 $Y^{90}$ 、 $Re^{186}$ 、 $Re^{188}$ 、 $Sm^{153}$ 、 $Bi^{212}$ 、 $P^{32}$ およびLuの放射性同位体）、化学療法剤および毒素、たとえば小分子毒素または細菌、真菌、植物もしくは動物由来の酵素的に活性な毒素ならびにそれらの断片および/または変異体を含むことを意図している。

#### 【0134】

本明細書において使用される用語「化学療法」または「化学療法剤」とは、異常な細胞成長を特徴とする疾患の治療において治療有用性を有する任意の化学物質をいう。そのような疾患は、腫瘍、新生物および癌ならびに過形成性成長を特徴とする疾患を含む。本明細書において使用される化学療法剤は化学的薬剤および生物学的薬剤の両方を包含する。これらの薬剤は、癌細胞が生存の継続のために依存する細胞活動を阻害するように機能する。化学療法剤のカテゴリーは、アルキル化/アルカロイド剤、代謝拮抗剤、ホルモンまたはホルモン類似体および各種抗悪性腫瘍薬を含む。これらの薬剤は、すべてではないにしても大部分、癌細胞に直接毒性を示し、免疫刺激を必要としない。1つの態様において、化学療法剤は、固形腫瘍などの新生物の治療に使用される薬剤である。1つの態様において、化学療法剤は放射性分子である。当業者は、使用する化学療法剤を容易に特定することができる（たとえば、Slapak and Kufe, Principles of Cancer Therapy, Chapter 8 6 in Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th edition; Perry et al, Chemotherapy, Ch. 17 in Abeloff, Clinical Oncology 2<sup>nd</sup> Edition, 2000 Churchill Livingstone, Philadelphia, PA）。

gstone, Inc; Baltzer L, Berkery R (eds)を参照)。本明細書に記載される二重特異性および多重特異性ポリペプチド剤は、さらなる化学療法剤とともに使用することができる。

#### 【0135】

「放射線療法」とは、細胞が正常に機能する能力を制限する、または細胞を完全に破壊するのに十分な損傷を細胞に対して誘導するための指向性ガンマ線またはベータ線の使用をいう。治療の線量および期間を決定するための当技術分野において公知の方法が数多くあることが理解されよう。一般的な治療は1回の投与として与えられ、一般的な線量は1日あたり10~200単位(グレイ)である。

#### 【0136】

いくつかの態様において、本明細書に記載される方法はさらに、さらなる免疫療法を対象に施すことを含むことができる。本発明において使用される「免疫療法」とは、患者自身の免疫系が腫瘍と戦うように誘導するために設計された多様な治療戦略を指し、表在性膀胱癌のための膀胱内BCG免疫療法、たとえば悪性黒色腫および腎細胞癌の場合に特定の免疫応答を生成するためのワクチン、患者からの樹状細胞に前立腺酸性ホスファターゼペプチドを付加して、前立腺由来細胞に対して特異的な免疫応答を誘導する、前立腺癌のためのSipuleucel-Tの使用、1つまたは複数の免疫細胞型を刺激するサイトカイン、成長因子および/またはシグナル伝達分子(たとえばインターロイキン)の投与、患者への再導入前の腫瘍抗原に特異的なリンパ球および/または樹状細胞のエクスピボ拡大および/または刺激、イミキモド、養子細胞移入および/またはたとえば国際特許公開公報WO2003/063792および米国特許第8,329,660号に記載されている方法を含むが、これらに限定されない。いくつかの態様において、免疫療法はNK応答を刺激する。いくつかの態様において、免疫療法は、養子細胞移入法、すなわち養子免疫療法である。

#### 【0137】

いくつかの態様において、本明細書に記載される方法はさらに、さらなる抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARを含むT細胞を対象に投与する工程を含むことができる。いくつかの態様において、本明細書に記載される方法はさらに、サイトカインを対象に投与する工程を含むことができる。抗体およびサイトカインに基づく治療法は当技術分野において公知であり、非限定的な例として、アレムツズマブ; ペバシズマブ; プレンツキシマブベドチン; セツキシマブ; ゲムツズマブ; イブリツモマブチウキセタン; イピリムマブ; オファツムマブ; パンチブムマブ; リツキシマブ; トシツモマブ; トラスツズマブ; インターロイキン-2およびインターフェロン-アルファを含むことができる。

#### 【0138】

たとえば癌に対する所与の治療の効力は、熟練した臨床医が決定することができる。しかし、治療は、本明細書に記載される薬剤での治療後、たとえば腫瘍の兆候または症状のいずれか1つまたはすべてが有益なやり方で変化する、または他の臨床的に受け入れられる症状が好転する、またはたとえば少なくとも10%改善する場合、本明細書において使用される「有効な治療」とみなされる。効力はまた、入院または医学的介入の必要性によって評価されるように、個体が悪化していない(すなわち、疾患の進行が停止している)ことによって計測することもできる。これらの指標を計測する方法は、当業者に公知である、および/または本明細書に記載されている。

#### 【0139】

疾患の治療に有効な量とは、それを必要とする哺乳動物に投与されたとき、その疾患に対し、本明細書において定義される有効な治療を生じさせるのに十分である量をいう。薬剤の効力は、たとえば癌の物理的指標、たとえば腫瘍サイズ、腫瘍質量、腫瘍密度、血管新生、腫瘍成長速度などを評価することによって決定することができる。

#### 【0140】

1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1を検出する方法であって、生物学的試料を、本明細書に記載される抗体、抗体試薬またはその抗原結合部分と接触させる工程を含み、抗体またはその抗原結合部分とPD1との反応がPD1の存在を示す方法である。

10

20

30

40

50

## 【0141】

いくつかの態様において、PD1分子が存在するとき、抗体またはその抗原結合部分によって検出可能なシグナルが生成される。いくつかの態様において、抗体試薬またはその抗原結合部分は、検出可能に標識されている、または、検出可能なシグナルを生成することができる。いくつかの態様において、PD1のレベルは、ウエスタンブロット法；免疫沈降法；酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）；ラジオイムノアッセイ（RIA）；サンドイッチアッセイ；蛍光インサイチュールハイブリダイゼーション法（FISH）；免疫組織染色法；放射免疫測定アッセイ；免疫蛍光アッセイ；質量分析法；FACS；および免疫電気泳動アッセイからなる群より選択される方法を使用して測定される。いくつかの態様において、抗体またはその抗原結合部分は、検出可能に標識されている、または検出可能なシグナルを生成する。いくつかの態様において、PD1の発現レベルは、1つまたは複数の基準遺伝子または基準タンパク質の発現レベルに対して正規化される。いくつかの態様において、PD1の基準レベルは、対象から得られた以前の試料中のPD1の発現レベルである。

10

## 【0142】

いくつかの態様において、PD1のレベルはPD1ポリペプチドのレベルであることができる。PD1ポリペプチドの検出は、当技術分野において公知の任意の方法に従うことができる。本技術にしたがってPD1ポリペプチドを検出する免疫学的方法は、抗体技術、たとえば免疫組織化学法、免疫細胞化学法、フローサイトメトリー、蛍光活性化細胞選別法（FACS）、免疫ブロット法、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロット法、免疫沈降法、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）および本明細書に記載される抗体試薬を利用する派生的技術を含むが、これらに限定されない。

20

## 【0143】

免疫化学法は、標的分子（たとえば抗原または、本明細書に記載される態様においては、PD1ポリペプチド）に特異的な抗体試薬の使用を必要とする。いくつかの態様において、本明細書に記載されるアッセイ、方法および/またはシステムは抗PD1抗体試薬を含むことができる。いくつかの態様において、抗体試薬は検出可能に標識されることができる。いくつかの態様において、抗体試薬は、固体支持体に付着させる（たとえば固体支持体に結合させる）ことができる。いくつかの態様において、固体支持体は、粒子（アガロースもしくはラテックスビーズもしくは粒子または磁性粒子を含むが、これらに限定されない）、ビーズ、ナノ粒子、ポリマー、基板、スライド、カバーガラス、プレート、皿、ウェル、膜および/または格子を含むことができる。固体支持体は、ポリマー、プラスチック、樹脂、多糖類、ケイ素またはシリカベースの材料、炭素、金属、無機ガラスおよび膜をはじめとする多くの異なる材料を含むことができる。

30

## 【0144】

1つの態様において、本明細書に記載されるアッセイ、方法および/またはシステムはELISAを含むことができる。例示的な態様においては、第一の抗体試薬を固体支持体（通常はポリスチレンマイクロタイタープレート）上に固定化することができる。固体支持体を、対象から得られた試料と接触させることができ、抗体試薬は、それが特異性を示す抗原（たとえばPD1）に結合する（それを「捕捉する」）。次いで、固体支持体を、第二の標識された抗体試薬（たとえば検出抗体試薬）と接触させることができる。検出抗体試薬は、たとえば、検出可能なシグナルを含むこともできるし、酵素に共有結合していることもできるし、バイオコンジュゲーションを通して酵素に結合している二次抗体によってそれ自体が検出されることもできる。シグナルの存在が、支持体上に固定化された第一の抗体試薬および第二の「検出」抗体試薬の両方が抗原に結合したことを示す。すなわち、シグナルの存在はPD1分子の存在を示した。一般的に、各工程の合間にプレートを中性洗剤溶液で洗浄して、特異的に結合していない任意のタンパク質または抗体を除去する。最終洗浄工程ののち、酵素基質を加えることによってプレートを発色させて、試料中のPD1ポリペプチドの量を示す可視シグナルを生成する。旧来のELISAは発色基質を利用するが、より新しいアッセイは、ずっと高い感度を有する蛍光発生基質を用いる。当業者に周知である他の異なる形態のELISAがある。

40

50

## 【0145】

1つの態様において、本明細書に記載されるアッセイ、システムおよび方法は、免疫クロマトグラフィーアッセイとも知られるラテラルフローイムノアッセイ検査(LFIA)、すなわち、試料中のPD1ポリペプチドのレベルを計測または測定するためのストリップ検査を含むことができる。LFIAは、試料中のPD1の存在(または非存在)を検出するための簡単な装置である。現在、在宅検査、ポイント・オブ・ケア検査または検査室用のための医学的診断に使用されるLFIA検査が数多くある。LFIA検査は、検査試料が毛管作用を介して固体基板に沿って流れるイムノアッセイの一形態である。試料は、検査ストリップに塗布されたのち、試料と混合する着色抗体試薬と遭遇し、試料の一部に結合したならば、基板を通過して、二次抗体試薬で前処理されているラインまたはゾーンと遭遇する。試料中に存在するPD1のレベルに依存して、着色抗体試薬は検査ラインまたはゾーンで結合状態になることができる。LFIAは本質的に、検査ストリップフォーマットまたはディップスティックフォーマットに適合するために単一軸に沿って作動するように適合されたイムノアッセイである。ストリップ検査はきわめて用途が広く、尿、血液、水試料などの流体試料から膨大な範囲の抗原を検出するために当業者によって容易に改変されることができる。ストリップ検査はディップスティック検査とも知られ、その名は、検査ストリップを検査対象の流体試料の中に文字どおり「ディップ」する動作に由来する。LFIAストリップ検査は使いやすく、最小限のトレーニングしか要らず、現場で使用されるポイント・オブ・ケア検査(POCT)診断の構成要素として簡単に含めることができる。LFIA検査は、競合的またはサンドイッチアッセイとして運用することができる。サンドイッチLFIAはサンドイッチELISAに似ている。試料はまず、標的に特異的な抗体試薬(たとえばPD1特異的抗体試薬)で標識されている着色粒子と遭遇する。検査ラインもまた、抗体試薬(たとえばPD1特異的抗体試薬)を含む。検査ラインは陽性試料中で色付きのバンドとして現れる。いくつかの態様において、ラテラルフローイムノアッセイは、二重抗体サンドイッチアッセイ、競合的アッセイ、定量的アッセイまたはそれらの変形であることができる。ラテラルフロー技術には数多くの変形がある。また、複数の捕捉ゾーンを適用して多重検査を作製することも可能である。

10

20

## 【0146】

一般的な検査ストリップは以下の構成要素からなる:(1)検査試料が塗布される吸収性パッド(すなわちマトリックスまたは材料)を含む試料塗布区域;(2)コンジュゲートまたは試薬パッド、これは、着色粒子(普通はコロイド金粒子またはラテックスマイクロスフェア)にコンジュゲートさせることができる、標的に特異的な抗体試薬を含む;(3)反応膜、一般的には、捕捉ゾーンまたは検査ラインとしての、膜を横切るラインに抗体試薬が固定化される疎水性ニトロセルロースまたは酢酸セルロース膜を含む検査結果区域(粒子またはマイクロスフェアにコンジュゲートされた抗体試薬に特異的な抗体を含むコントロールゾーンが存在してもよい);および(4)任意選択のウィックまたは廃液リザーバ 反応膜を通過した試料を毛管作用によって吸い上げ、それを捕集するように設計されたさらなる吸収性パッド。ストリップの構成要素は普通、不活性裏当て材に固定され、簡単なディップスティックフォーマットで、または試料ポートと捕捉およびコントロールゾーンを示す反応ウィンドウとを備えたプラスチックケース内で提示され得る。必ずしも必要ではないが、大部分の検査は、検査が正しく作動したことを確認するために、遊離状態のラテックス/金をピックアップする抗体を含む第二のラインを組み込んでいる。

30

40

## 【0147】

「ディップスティック」またはLFIA検査ストリップおよび他の固体支持体の使用は、当技術分野において、数多くの抗原バイオマーカのためのイムノアッセイに関連して記載されている。全体として参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第4,943,522号;第6,485,982号;第6,187,598号;第5,770,460号;第5,622,871号;第6,565,808号、米国特許出願第10/278,676号;第09/579,673号および第10/717,082号が、そのようなラテラルフロー検査装置の非限定的な例である。3つの米国特許(H. Tomに発行された米国特許第4,444,880号;R. N. Piasioに発行された米国特許第4,305,924号;およびJ. T. Shenに発

50

行された米国特許第4,135,884号)が、免疫化学的アッセイによって可溶性抗原を検出するための「ディップスティック」技術の使用を記載している。これらの3つの特許の装置および方法は、スティック上での成分抗原複合体の検出の前に「ディップスティック」上に固定された成分に結合する可溶性抗原を含む溶液に曝露される「ディップスティック」上の固体表面に固定された第一の成分を広く記載している。PD1ポリペプチドの検出のために必要に応じてこれらの「ディップスティック」技術の教示を改変することは、当業者の技術の範囲内である。いくつかの態様において、ディップスティック(またはLFIA)は、尿試料との使用に適していることができる。いくつかの態様において、ディップスティックは、血液試料との使用に適していることができる。

【0148】

免疫化学法は、細胞内または細胞表面上の分子を特異的に標的化するために抗体を使用する、特異的抗体の使用に基づく一群の技術である。いくつかの態様においては、免疫組織化学(「IHC」)および免疫細胞化学(「ICC」)技術を使用して、PD1ポリペプチドのレベルを検出または計測することができる。IHCは組織切片への免疫化学の適用であり、ICCは、特定の細胞学的調製、たとえば液体ベースの調製を受けた後の細胞または組織インプリントへの免疫化学の適用である。いくつかの例においては、標識を含む二次抗体が血小板または白血球に特異的な抗体試薬の適用に続くシグナル増幅を特定のプロトコールに組み込み得る。通常、免疫組織化学法の場合、対象から得られ、適当な固定剤、たとえばアルコール、アセトンおよびパラホルムアルデヒドで固定された組織を切片化し、抗体と反応させる。従来免疫組織化学法が、全体として参照により本明細書に組み入れられる Buchwalow and Bocker (Eds) "Immunohistochemistry: Basics and Methods" Springer (2010); Lin and Prichard "Handbook of Practical Immunohistochemistry" Springer (2011)に記載されている。いくつかの態様においては、概して、対象から得られた組織または細胞が、抗体が反応を示す適当な固定剤、たとえばアルコール、アセトンおよびパラホルムアルデヒドによって固定される場合、免疫細胞化学法を利用し得る。ヒト試料の免疫細胞学的染色の方法は当業者に公知であり、たとえば、全体として参照により本明細書に組み入れられる Burry "Immunocytochemistry: A Practical Guide for Biomedical Research" Springer (2009)に記載されている。

【0149】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体試薬の1つまたは複数は、検出可能な標識を含むことができる、および/または検出可能な信号を生成する(たとえば、化合物を検出可能な生成物に転換する反応を触媒することにより)能力を含むことができる。検出可能な標識は、たとえば、光吸収色素、蛍光色素または放射性標識を含むことができる。検出可能な標識、それらを検出する方法およびそれらを抗体試薬に組み込む方法は当技術分野において周知である。

【0150】

いくつかの態様において、検出可能な標識は、分光的、光化学的、生化学的、免疫化学的、電磁氣的、放射化学的または化学的手段、たとえば蛍光、化学蛍光もしくは化学発光または任意の他の適切な手段によって検出することができる標識を含むことができる。本明細書に記載される方法に使用される検出可能な標識は、一次標識(標識は、直接検出可能である部分または直接検出可能である部分を生成する部分を含む)または二次標識(たとえば二次および三次抗体を使用する免疫学的標識に一般的であるように、検出可能な標識は別の部分に結合して検出可能なシグナルを生成する)であることができる。検出可能な標識は、共有結合的または非共有結合的手段によって抗体試薬に結合させることができる。または、検出可能な標識は、たとえば、リガンド-受容体結合対配置を介して抗体試薬への結合を達成する分子または他のそのような特異的認識分子を直接標識することにより、結合させることもできる。検出可能な標識は、放射性同位体、生物発光化合物、発色団、抗体、化学発光化合物、蛍光化合物、金属キレートおよび酵素を含むことができるが、これらに限定されない。

【0151】

10

20

30

40

50

他の態様において、検出抗体は蛍光化合物で標識される。蛍光標識された抗体が正しい波長の光に曝露されると、蛍光のせいでその存在を検出することができる。いくつかの態様において、検出可能な標識は、フルオレセイン、フィコエリスリン、フィコシアニン、*o*-フタルアルデヒド、フルオレスカミン、Cy3（商標）、Cy5（商標）、アロフィコシアニン、テキサスレッド（Texas Red）、ペリデニクロロフィル、シアニン、タンデムコンジュゲート、たとえばフィコエリスリン - Cy5（商標）、緑色蛍光タンパク質、ローダミン、フルオレセインイソチオシアネート（FITC）およびOregon Green（商標）、ローダミンおよび誘導体（たとえば、テキサスレッドおよびイソチオシアン酸テトラメチルローダミン（TRITC）、ビオチン、フィコエリスリン、AMCA、CyDyes（商標）、6-カルボキシフルオレセイン（一般にはFAMおよびFの略称で知られる）、6-カルボキシ-2',4',7',4,7-ヘキサクロロフルオレセイン（HEX）、6-カルボキシ-4',5'-ジクロロ-2',7'-ジメトキシフルオレセイン（JOEまたはJ）、N,N,N',N'-テトラメチル-6-カルボキシローダミン（TAMRAまたはT）、6-カルボキシ-X-ローダミン（ROXまたはR）、5-カルボキシローダミン-6G（R6G5またはG5）、6-カルボキシローダミン-6G（R6G6またはG6）およびローダミン110；シアニン色素、たとえばCy3、Cy5およびCy7色素；クマリン類、たとえばウンベリフェロン；ベンズイミド色素、たとえばヘキスト（Hoechst）33258；フェナントリジン色素、たとえばテキサスレッド；エチジウム色素；アクリジン色素；カルバゾール色素；フェノキサジン色素；ポルフィリン色素；ポリメチン色素、たとえばCy3、Cy5などのシアニン色素；BODIPY色素およびキノリン色素をはじめとする蛍光色素分子またはフルオロフォアであることができる。

10

20

## 【0152】

いくつかの態様において、検出可能な標識は、 $^3\text{H}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ および $^{33}\text{P}$ をはじめとする放射能標識であることができる。

## 【0153】

いくつかの態様において、検出可能な標識は、西洋ワサビペルオキシダーゼおよびアルカリホスファターゼをはじめとする酵素であることができる。酵素標識は、たとえば、化学発光シグナル、色シグナルまたは蛍光シグナルを生成することができる。抗体試薬を検出可能に標識するための使用に考慮される酵素は、リンゴ酸デヒドロゲナーゼ、ブドウ球菌ヌクレアーゼ、デルタ-V-ステロイドイソメラーゼ、酵母アルコールデヒドロゲナーゼ、アルファ-グリセロリン酸デヒドロゲナーゼ、トリオースリン酸イソメラーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アスパラギナーゼ、グルコースオキシダーゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ、リボヌクレアーゼ、ウレアーゼ、カタラーゼ、グルコース-VI-リン酸デヒドロゲナーゼ、グルコアミラーゼおよびアセチルコリンエステラーゼを含むが、これらに限定されない。

30

## 【0154】

いくつかの態様において、検出可能な標識は、ルシゲニン、ルミノール、ルシフェリン、イソルミノール、セロマトリック（theromatic）アクリジニウムエステル、イミダゾール、アクリジニウム塩およびシュウ酸エステルをはじめとする化学発光標識である。

## 【0155】

いくつかの態様において、検出可能な標識は、コロイド金または着色ガラスもしくはプラスチック（たとえばポリスチレン、ポリプロピレンおよびラテックス）ビーズをはじめとする分光比色標識であることができる。

40

## 【0156】

いくつかの態様において、抗体はまた、*c*-Myc、HA、VSV-G、HSV、FLAG、V5、HISまたはビオチンなどの検出可能なタグで標識されることもできる。また、他の検出システム、たとえばビオチン-ストレプトアビジンシステムを使用することもできる。このシステムにおいては、関心対象のバイオマーカと免疫反応性（すなわち、それに特異的）である抗体がビオチン化されている。バイオマーカに結合したビオチン化抗体の量は、ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼコンジュゲートおよび発色基質を使用して決定される。そのようなストレプトアビジンペルオキシダーゼ検出キットは、たとえばDAKO；Carpinteria,

50

CA. から市販されている。

【0157】

抗体試薬はまた、蛍光発光金属、たとえば<sup>152</sup>Euまたはランタニドシステムの他の金属を使用して検出可能に標識することもできる。これらの金属は、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）またはエチレンジアミン四酢酸（EDTA）などの金属キレート基を使用して抗体試薬に付着させることができる。

【0158】

本明細書において使用される用語「試料」または「検査試料」とは、生物から採取または単離された試料、たとえば対象由来の尿試料をいう。例示的な生物学的試料は、生物流体試料；血清；血漿；尿；唾液および/または腫瘍試料などを含むが、これらに限定されない。この用語はまた、上述の試料の混合物をも含む。用語「検査試料」はまた、未処理の（または前処理された）生物学的試料をも含む。いくつかの態様において、検査試料は対象由来の細胞を含むことができる。本明細書において使用される用語「生物流体」とは、生物学的源から得られる任意の流体を指し、血液、尿および体分泌物を含むが、これらに限定されない。

10

【0159】

検査試料は、対象から試料を取り出すことによって得ることができるが、以前に単離された試料（たとえば、以前の時点で単離されたもの、同じまたは別の人から単離されたもの）を使用して達成することもできる。加えて、検査試料は、捕集したばかりの試料であることもできるし、以前に捕集された試料であることもできる。

20

【0160】

いくつかの態様において、検査試料は未処理の検査試料であることができる。本明細書において使用される用語「未処理の検査試料」とは、溶液中への希釈および/または懸濁を除き、任意の前処理を受けていない検査試料をいう。検査試料を処理する例示的な方法は、遠心処理、濾過、音波処理、均質化、加熱、凍結解凍およびそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない。いくつかの態様において、検査試料は、凍結された検査試料、たとえば凍結組織であることができる。凍結試料は、本明細書に記載される方法、アッセイおよびシステムを使用する前に、解凍することができる。解凍後、凍結試料を遠心処理したのち、本明細書に記載される方法、アッセイ、およびシステムに処すことができる。いくつかの態様において、検査試料は、たとえば、清澄化された検査試料を含む上清の遠心処理および捕集によって調製された清澄化された検査試料である。いくつかの態様において、検査試料は、前処理された検査試料、たとえば、遠心処理、濾過、解凍、精製、およびそれらの任意の組み合わせからなる群より選択される処理から得られる上清または濾液であることができる。いくつかの態様において、検査試料は、薬品および/または生物学的試薬によって処理されることができる。薬品および/または生物学的試薬は、処理中、生体分子（たとえば核酸およびタンパク質）を中に含む試料の安定性を保護および/または維持するために用いることができる。1つの例示的な試薬が、概して処理中にタンパク質の安定性を保護または維持するために使用されるプロテアーゼ阻害剤である。当業者は、本明細書に記載されるPD1のレベルの測定のために必要な生物学的試料の前処理に適切な方法および処理を十分に承知している。

30

40

【0161】

いくつかの態様において、本明細書に記載される方法、アッセイおよびシステムはさらに、対象から検査試料を得る工程を含むことができる。いくつかの態様において、対象はヒト対象である。

【0162】

いくつかの態様において、アッセイまたは方法はさらに、抗PD1療法を施す工程を含むことができる。いくつかの態様において、抗PD1療法は、本明細書に記載される単離された抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARもしくはCAR T細胞；核酸；細胞；または組成物を含む。

【0163】

50

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、検出可能な標識にコンジュゲートまたは結合された、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、またはその抗原結合部分である。

【0164】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片を含む固体支持体である。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬またはその抗原結合断片は検出可能に標識されている。局面のいずれかのいくつかの態様において、固体支持体は粒子、ビーズ、ポリマー、または基板を含む。

【0165】

態様のいずれかの1つの局面において、本明細書に記載されるものは、PD1ポリペプチドに結合された本明細書に記載される少なくとも1つの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む分子複合体である。

【0166】

1つの局面において、本明細書に記載されるものは、本明細書に記載される組成物、たとえば、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARを含む組成物を含むキットである。キットは、少なくとも1つの試薬、たとえば抗体を含む任意の製造品（たとえばパッケージまたは容器）であり、製造品は、本明細書に記載される方法を実行するためのユニットとして促進、頒布または販売される。局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合断片は固体支持体上に固定化されている。局面のいずれかのいくつかの態様において、固体支持体は粒子、ビーズ、ポリマー、または基板を含む。局面のいずれかのいくつかの態様において、抗体、抗体試薬またはその抗原結合断片は検出可能に標識されている。

【0167】

本明細書に記載されるキットは、任意選択で、本明細書に記載される方法を実行するのに有用なさらなる構成要素を含むことができる。実例として、キットは、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARを含む組成物に適した流体（たとえば緩衝液）、本明細書に記載される方法の実行を説明する取り扱い説明資料などを含むことができる。キットはさらに、本明細書に記載される組成物の送達のための装置および/または試薬を含むことができる。加えて、キットは、取り扱い説明リーフレットを含んでもよいし、得られた結果の妥当性に関する情報を提供してもよい。

【0168】

便宜上、本明細書、実施例および特許請求の範囲において使用されるいくつかの語句の意味を以下に提供する。別段述べられない限り、または文脈から暗示されない限り、以下の語句は、以下に提供される意味を含む。本発明の範囲は特許請求の範囲によってのみ限定されるため、定義は、特定の態様の説明を支援するために提供されるものであり、請求項に係る発明を限定することを意図していない。別段定義されない限り、本明細書において使用されるすべての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。当技術分野における語法と本明細書において提供されるその定義との間に明らかな食い違いがあるならば、本明細書内で提供される定義が優先するものとする。

【0169】

用語「減少する」、「低下した」、「低下」または「抑制する」はすべて、本明細書中、統計的に有意な量の減少を意味するために使用される。いくつかの態様において、「低下する」、「低下」または「減少する」または「抑制する」は通常、基準レベル（たとえば所与の治療または薬剤の非存在）と比べて少なくとも10%の減少を意味し、たとえば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98

10

20

30

40

50

%、少なくとも約99%またはより多くの減少を含むことができる。本発明において使用される「低下」または「抑制」は、基準レベルと比べて完全な抑制または低下を包含しない。「完全な抑制」は、基準レベルと比べて100%の抑制である。減少は、好ましくは、所与の障害を有しない個体にとって正常範囲内として許容されるレベルまでであることができる。

#### 【0170】

用語「増大した」、「増大」、「増強する」または「活性化する」はすべて、本明細書中、統計的に有意な量の増大を意味するために使用される。いくつかの態様において、用語「増大した」、「増大する」、「増強する」または「活性化する」は、基準レベルと比べて少なくとも10%の増大、たとえば、基準レベルと比べて少なくとも約20%、または少なくとも約30%、または少なくとも約40%、または少なくとも約50%、または少なくとも約60%、または少なくとも約70%、または少なくとも約80%、または少なくとも約90%の増大または100%までの増大または10~100%の間の任意の増大または、基準レベルと比べて少なくとも約2倍、または少なくとも約3倍、または少なくとも約4倍、または少なくとも約5倍、または少なくとも約10倍の増大、または2倍~10倍の間の任意の増大またはより大きな増大を意味することができる。マーカまたは症状に関連して、「増大」は、そのようなレベルにおける統計的に有意な増大である。

10

#### 【0171】

本明細書において使用される用語「タンパク質」および「ポリペプチド」は、本明細書においては、隣接する残基のアルファアミノ基とカルボキシ基との間のペプチド結合によって互いに接続された一連のアミノ酸残基を指すために互換可能に使用される。用語「タンパク質」および「ポリペプチド」は、そのサイズまたは機能にかかわらず、修飾されたアミノ酸（たとえばリン酸化、糖化、グリコシル化など）およびアミノ酸類似体を含め、アミノ酸のポリマーをいう。「タンパク質」および「ポリペプチド」は、多くの場合、相対的に大きなポリペプチドに関して使用され、用語「ペプチド」は、多くの場合、小さなポリペプチドに関して使用されるが、当技術分野におけるこれらの用語の使用は重複する。用語「タンパク質」および「ポリペプチド」は、遺伝子産物およびその断片をいう場合、本明細書において互換可能に使用される。たとえば、例示的なポリペプチドまたはタンパク質は、遺伝子産物、天然のタンパク質、ホモログ、オルソログ、パラログ、断片ならびに前記の他の等価物、変異体、断片および類似体を含む。

20

30

#### 【0172】

さらに、本明細書に記載される様々な態様において、記載される特定のポリペプチドのいずれかの変異体（天然または他のもの）、アレル、ホモログ、保存的に改変された変異体および/または保存的置換変異体が包含されることが考慮される。アミノ酸配列に関して、当業者は、コードされた配列中の1つのアミノ酸または小さな割合のアミノ酸を変更する、核酸、ペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質配列への個々の置換、欠失または付加が、その変更が化学的に類似するアミノ酸によるアミノ酸の置換を生じさせ、ポリペプチドの所望の活性を保持する「保存的に改変された変異体」であることを認識する。そのような保存的に改変された変異体は、本開示と一致する多型変異体、種間ホモログおよびアレルに加わり、それらを除外しない。

40

#### 【0173】

いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリペプチド（または、そのようなポリペプチドをコードする核酸）は、本明細書に記載されるアミノ酸配列の1つの機能的断片であることができる。本明細書において使用される「機能的断片」は、本明細書において以下に記載されるアッセイにしたがって、野生型参照ポリペプチドの活性の少なくとも50%を保持するペプチドの断片またはセグメントである。機能的断片は、本明細書に開示される配列の保存的置換を含むことができる。

#### 【0174】

いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリペプチドは、本明細書に記載される配列の変異体であることができる。いくつかの態様において、変異体は、保存的に改変

50

された変異体である。保存的置換変異体は、たとえば、天然ヌクレオチド配列の変異によって得ることができる。本明細書において呼ばれる「変異体」とは、天然または参照ポリペプチドと実質的に相同であるが、1つまたは複数の欠失、挿入または置換のせいで天然または参照ポリペプチドとは異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。変異体ポリペプチドをコードするDNA配列は、天然または参照DNA配列と比べたときヌクレオチドの1つまたは複数の付加、欠失または置換を含むが、活性を保持する変異体タンパク質またはその断片をコードする配列を包含する。多種多様なPCRに基づく部位特異的変異誘発手法が当技術分野において公知であり、当業者によって適用されることができる。

【0175】

本明細書において使用される用語「核酸」または「核酸配列」とは、リボ核酸、デオキシリボ核酸またはその類似体の単位を組み込んだ任意の分子、好ましくはポリマー分子をいう。核酸は一本鎖または二本鎖であることができる。一本鎖核酸は、変性二本鎖DNAの1つの核酸鎖であることができる。または、任意の二本鎖DNAに由来しない一本鎖核酸であることもできる。1つの局面において、核酸はDNAであることができる。もう1つの局面において、核酸はRNAであることができる。適当なDNAは、たとえばゲノムDNAまたはcDNAを含むことができる。適当なRNAは、たとえばmRNAを含むことができる。

10

【0176】

局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書に記載されるポリペプチド、核酸または細胞は操作されたものであることができる。本発明において使用される「操作された」とは、人の手によって操作されている局面をいう。たとえば、ポリペプチドの少なくとも1つの局面、たとえばその配列が、自然界に存在するときの局面とは異なるように人の手によって操作された場合、ポリペプチドは「操作された」ものとみなされる。一般的な慣行であり、かつ当業者に理解されているように、操作された細胞の後代は通常、実際の操作が先代に対して実施されたとしても、「操作された」と呼ばれる。

20

【0177】

いくつかの態様において、本明細書に記載されるポリペプチド（たとえば抗体または抗体試薬）をコードする核酸はベクターに含まれる。本明細書に記載される局面のいくつかにおいて、本明細書に記載される所与のポリペプチドをコードする核酸配列またはその任意のモジュールはベクターに機能的に連結している。ベクターは、クローニングベクター、発現ベクター、プラスミド、ファージ、トランスポゾン、コスミド、染色体、ウイルス、ピリオンなどを含むことができるが、これらに限定されない。

30

【0178】

本明細書において使用される用語「発現ベクター」とは、ベクター上の転写調節配列に連結した配列からのRNAまたはポリペプチドの発現を指示するベクターをいう。発現される配列は、必ずしもではないが多くの場合、細胞に対して非相同である。発現ベクターはさらなる要素を含み得、たとえば、発現ベクターは2つの複製システムを有し得、それにより、それが2つの生物中で維持される、たとえば発現のためにヒト細胞中で維持され、かつクローニングおよび増幅のために原核生物宿主中で維持されることを可能にする。用語「発現」とは、適用可能ならば、たとえば転写、転写物プロセッシング、翻訳およびタンパク質フォールディング、改変およびプロセッシングをはじめとする、RNAおよびタンパク質の産生ならびに適切ならばタンパク質の分泌に関与する細胞プロセスをいう。「発現産物」とは、遺伝子から転写されたRNAおよび遺伝子から転写されたmRNAの翻訳によって得られるポリペプチドをいう。用語「遺伝子」とは、適切な調節配列に機能的に連結しているとき、インピトロまたはインピボでRNAに転写される（DNA）核酸配列をいう。遺伝子は、コード領域の前および後の領域、たとえば5'非翻訳（5'UTR）または「リーダー」配列および3'UTRまたは「トレーラー」配列ならびに個々のコードセグメント（エキソン）の間に介在する配列（イントロン）を含んでもよいし、含まなくてもよい。

40

【0179】

本明細書において使用される用語「単離された」または「部分的に精製された」とは、核酸またはポリペプチドが、核酸またはポリペプチドの場合、その天然源に見られる核酸

50

またはポリペプチドとともに存在する、および/または分泌されるポリペプチドの場合、細胞によって発現される、または分泌されるとき核酸またはポリペプチドとともに存在するであろう、少なくとも1つの他の成分（たとえば核酸またはポリペプチド）から分離されていることをいう。化学的に合成された核酸もしくはポリペプチドまたはインビトロ転写/翻訳を使用して合成された核酸もしくはポリペプチドは「単離された」ものとみなされる。用語「精製された」または「実質的に精製された」とは、少なくとも95重量%が対象の核酸またはポリペプチドである、たとえば少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%またはより多くが対象の核酸またはポリペプチドである、単離された核酸またはポリペプチドをいう。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは単離されている。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは精製されている。

10

**【0180】**

本発明において使用される「操作された」とは、人の手によって操作されている局面をいう。たとえば、抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARは、その抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARの配列が、自然界に存在するときの抗体の配列とは異なるように人の手によって操作されている場合、「操作された」ものとみなされる。一般的な慣行であり、かつ当業者に理解されているように、操作されたポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドの後代およびコピーは通常、実際の操作が先代に対して実施されたとしても、「操作された」と呼ばれる。

**【0181】**

本明細書において使用される「エピトープ」は、隣接アミノ酸からポリペプチド上に形成されることもできるし、並置された非隣接アミノ酸からタンパク質の三次フォールディングによってポリペプチド上に形成されることもできる。隣接アミノ酸から形成されたエピトープは通常、変性溶媒に曝露されても保持されるが、三次フォールディングによって形成されたエピトープは通常、変性溶媒を用いる処理によって消失する。エピトープは通常、少なくとも3つ、より普通には少なくとも5つ、約9つ、または約8~10のアミノ酸を固有の空間コンホメーション中に含む。「エピトープ」は、慣例的に免疫グロブリンVH/VLペアによって結合された構造の単位を含む。エピトープは、抗体のための最小結合部位を画定し、したがって、抗体の特異性の標的を表す。シングルドメイン抗体の場合、エピトープは、単離状態の可変ドメインによって結合される構造の単位を表す。また、用語「抗原決定基」および「エピトープ」は、本明細書において互換可能に使用されることができる。特定の態様において、エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホニルなどの分子の化学的に活性な表面基を含み、特定の態様において、特定の三次元構造特性および/または特定の電荷特性を有し得る。

20

30

**【0182】**

「アビディティー」とは、抗原結合分子（たとえば、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合部分）と関連の抗原との間の結合の強さの尺度である。アビディティーは、抗原決定基と抗原結合分子上のその抗原結合部位との間の親和性および抗原結合分子上に存在する関連の結合部位の数の両方に関連する。通常、抗原結合タンパク質（たとえば、本明細書に記載される抗体または抗体の一部）は、解離定数（ $10^{-5} \sim 10^{-12}$ モル/リットル以下、たとえば $10^{-7} \sim 10^{-12}$ モル/リットル以下または $10^{-8} \sim 10^{-12}$ モル/リットル以下のKD（すなわち、 $10^5 \sim 10^{12}$ リットル/モル以上、たとえば $10^7 \sim 10^{12}$ リットル/モルまたは $10^8 \sim 10^{12}$ リットル/モルの会合定数（KA））で、それらの同族または特定の抗原に結合する。 $10^{-4}$ モル/リットルよりも大きいKD値（または $10^4 M^{-1}$ よりも低い任意のKA値）は概して、非特異的結合を示すものとみなされる。意味ある（たとえば特異的）とみなされる生物学的相互作用のKDは通常、 $10^{-10} M$ （0.1nM） $\sim 10^{-5} M$ （10000nM）の範囲にある。相互作用が強ければ強いほど、そのKDは低くなる。たとえば、本明細書に記載される抗体またはその部分上の結合部位は、500nM未満、たとえば200nM未満または10nM未満、たとえば500pM未満の親和性で所望の抗原に結合する。抗原または抗原決定基への抗原結合タンパク質の特異的結合は、そのものは公知の任意の適当な方法、たとえばスキャッチャード

40

50

分析および/または競合的結合アッセイ、たとえばラジオイムノアッセイ (RIA)、酵素イムノアッセイ (EIA) およびサンドイッチ競合アッセイならびに当技術分野においてそのものは公知のそれらの様々な変形; ならびに本明細書の中で述べられる他の技術によって測定することができる。

#### 【0183】

したがって、本明細書において使用される「選択的に結合する」または「特異的に結合する」とは、本明細書に記載されるペプチド (たとえば抗体、CARまたはその部分) が、 $10^{-5}\text{M}$  (10000nM) 以下、たとえば $10^{-6}\text{M}$ 、 $10^{-7}\text{M}$ 、 $10^{-8}\text{M}$ 、 $10^{-9}\text{M}$ 、 $10^{-10}\text{M}$ 、 $10^{-11}\text{M}$ 、 $10^{-12}\text{M}$  以下のKDで、標的、たとえば癌細胞の表面に存在する抗原に結合する能力をいう。特異的結合は、たとえば、ポリペプチド剤の親和性およびアビディティならびにポリペプチド剤の濃度によって影響されることができる。当業者は、適当な細胞結合アッセイにおけるポリペプチド剤の滴定などの任意の適当な方法を使用して、本明細書に記載されるポリペプチド剤が標的に選択的に結合する適切な条件を決定することができる。標的に特異的に結合したポリペプチドは、非類似の競合物質によって置換されることはない。特定の態様において、抗体、その抗原結合部分、またはCARは、それがタンパク質および/または高分子の複雑な混合物中のその標的抗原を優先的に認識するとき、抗原に特異的に結合するといわれる。

#### 【0184】

いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分および/またはCARは、 $10^{-5}\text{M}$  (10000nM) 以下、たとえば $10^{-6}\text{M}$ 、 $10^{-7}\text{M}$ 、 $10^{-8}\text{M}$ 、 $10^{-9}\text{M}$ 、 $10^{-10}\text{M}$ 、 $10^{-11}\text{M}$ 、 $10^{-12}\text{M}$ 以下の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-5}\text{M}$ ~ $10^{-6}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-6}\text{M}$ ~ $10^{-7}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-7}\text{M}$ ~ $10^{-8}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-8}\text{M}$ ~ $10^{-9}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-9}\text{M}$ ~ $10^{-10}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-10}\text{M}$ ~ $10^{-11}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、約 $10^{-11}\text{M}$ ~ $10^{-12}\text{M}$ の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。いくつかの態様において、本明細書に記載される抗体、その抗原結合部分、またはCARは、 $10^{-12}\text{M}$ 未満の解離定数 ( $K_D$ ) でPD1に結合する。

#### 【0185】

本明細書において使用される用語「投与する」とは、本明細書に開示される化合物を、所望の部位における薬剤の少なくとも部分的な送達を生じさせる方法または経路により、対象の中に配置することをいう。本明細書に開示される化合物を含む薬学的組成物は、対象において有効な治療を生じさせる任意の適切な経路によって投与することができる。

#### 【0186】

用語「統計的に有意」または「有意に」とは、統計的有意性を指し、概して、2標準偏差 (2SD) 以上の差を意味する。

#### 【0187】

実施例または別段指示されるところ以外では、本明細書において成分の量または反応条件を表すすべての数字は、すべての場合に用語「約」によって修飾されていると理解されるべきである。パーセンテージと関連して使用される用語「約」は $\pm 1\%$ を意味することができる。

#### 【0188】

本明細書において使用される用語「含む」は、提示された所定の要素に加えて他の要素が存在することができることを意味する。「含む」の使用は、限定ではなく包含を示す。

## 【0189】

用語「からなる」とは、本明細書に記載される組成物、方法およびそれらの各構成要素が、態様の説明において記載されていない任意の要素を除外することをいう。

## 【0190】

本明細書において使用される用語「から本質的になる」とは、それらの要素が所与の態様に必要とされることをいう。この用語は、発明のその態様の基本的小よび新規または機能的特徴に実質的に影響しないさらなる要素の存在を許す。

## 【0191】

単数形 of 用語「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」は、分脈がそうでないことを明らかに指示しない限り、複数の指示対象を含む。同様に、用語「または」は、分脈がそうでないことを明らかに指示しない限り、「および」を含むことを意図している。本明細書に記載されるものに類似または等価の方法および材料を本開示の実施または試験において使用することができるが、適当な方法および材料が以下に記載される。略語「e.g.」はラテン語 *exempli gratia* に由来し、本明細書においては、非限定的な例を示すために使用される。したがって、略語「e.g.」は用語「たとえば」と同義である。

10

## 【0192】

本明細書に開示される発明の代替要素または態様のグループ分けは限定として解釈されてはならない。各グループメンバーは、個々に参照され、特許請求されることもできるし、グループの他のメンバーまたは本明細書において見られる他の要素との任意の組み合わせで参照され、特許請求されることもできる。都合および/または特許性の理由で、グループの1つまたは複数のメンバーがグループに含まれる、またはグループから削除されることもできる。任意のそのような包含または削除が起こるとき、本明細書は、改変されたグループを含むものと考えられ、したがって、特許請求の範囲に使用されるすべてのマーカッシュグループの記述を満たす。

20

## 【0193】

本明細書において別段定義されない限り、本出願と関連して使用される科学技術用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有するものとする。本明細書に記載される特定の method、protocol および assay などは変わることができるため、本発明は、それらの method、protocol および assay などに限定されないということが理解されるべきである。本明細書において使用される用語は、特定の態様を説明するためだけのものであり、特許請求の範囲によってのみ画定される本発明の範囲を限定することを意図していない。免疫学および分子生物学における一般的用語の定義は、内容が全体として参照により本明細書に組み入れられる、*The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, 19th Edition, published by Merck Sharp & Dohme Corp., 2011 (ISBN 978-0-911910-19-3); Robert S. Porter et al. (eds.), *The Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*, published by Blackwell Science Ltd., 1999-2012 (ISBN 9783527600908); および Robert A. Meyers (ed.), *Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference*, published by VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8); *Immunology* by Werner Luttmann, published by Elsevier, 2006; *Janeway's Immunobiology*, Kenneth Murphy, Allan Mowat, Casey Weaver (eds.), Taylor & Francis Limited, 2014 (ISBN 0815345305, 9780815345305); *Lewin's Genes XI*, published by Jones & Bartlett Publishers, 2014 (ISBN-1449659055); Michael Richard Green and Joseph Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 4<sup>th</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., USA (2012) (ISBN 1936113414); Davis et al., *Basic Methods in Molecular Biology*, Elsevier Science Publishing, Inc., New York, USA (2012) (ISBN 044460149X); *Laboratory Methods in Enzymology: DNA*, Jon Lorsch (ed.) Elsevier, 2013 (ISBN 0124199542); *Current Protocols in Molecular Biology (CPMB)*, Frederick M. Ausubel (ed.), John Wiley and Sons, 2014 (ISBN 047150338X, 9780471503385); *Current Protocols in Protein Science (CPPS)*, John E. Coligan (ed.), John Wiley and Sons, Inc., 2005; およ

30

40

50

びCurrent Protocols in Immunology (CPI) (John E. Coligan, ADA M Kruisbeek, David H Margulies, Ethan M Shevach, Warren Strobe, (eds.) John Wiley and Sons, Inc., 2003 ( ISBN 0471142735、9780471142737 ) に見ることができる。

【0194】

当業者は、使用すべき化学療法剤を容易に特定することができる（たとえば、Physicians' Cancer Chemotherapy Drug Manual 2014, Edward Chu, Vincent T. DeVita Jr., Jones & Bartlett Learning; Principles of Cancer Therapy, Chapter 85 in Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th edition; Therapeutic Targeting of Cancer Cells: Era of Molecularly Targeted Agents and Cancer Pharmacology, Chs. 28-29 in Abeloff's Clinical Oncology, 2013 Elsevier; およびFischer D S (ed): The Cancer Chemotherapy Handbook, 4th ed. St. Louis, Mosby-Year Book, 2003を参照）。

10

【0195】

局面のいずれかのいくつかの態様において、本明細書に記載される開示は、ヒトをクローン化するプロセス、ヒトの生殖細胞系列遺伝子の同一性を変更するプロセス、工業もしくは商業目的のヒト胚の使用または動物を苦しめる可能性があり、ヒトもしくは動物に実質的な医学的恩恵をもたらすことのない、動物の遺伝子の同一性を変更するプロセスおよびそのようなプロセスから得られる動物には関しない。

【0196】

他の用語は、本明細書中、本発明の様々な局面の説明の範囲内で定義される。

【0197】

本出願を通して引用される、参照文献、発行済み特許、公開済み特許出願および同時係属中の特許出願を含むすべての特許およびその他の刊行物は、たとえば、本明細書に記載される技術とともに使用され得る、そのような刊行物に記載された方法を説明し、開示する目的で、明示的に参照により本明細書に組み入れられる。これらの刊行物は、本出願の出願日前の開示に関してのみ提供される。この点におけるいかなる記載も、先行発明のせいで、または任意の他の理由で、本発明者らがそのような開示に先行する資格を有しないことを認めるものと解釈されるべきではない。日付に関するすべての記述またはこれらの文献の内容に関する表現は、出願人に利用可能な情報に基づき、これらの文献の日付または内容の正確性に関する任意の承認を構成するものではない。

20

【0198】

本開示の態様の説明は、網羅的であること、または開示を開示されたとおりの形態に限定することを意図していない。本明細書には本開示の具体的な態様および例が例示の目的で記載されているが、当業者が認識するように、本開示の範囲内で様々な等価の修飾が可能である。たとえば、方法ステップまたは機能が所与の順序で提示されているが、代替態様が異なる順序で機能を実行してもよいし、機能が実質的に同時並行的に実行されてもよい。本明細書に提供される開示の教示は、適宜、他の手順または方法に適用されることができる。本明細書に記載される様々な態様を組み合わせるさらなる態様を提供することもできる。本開示の局面は、必要ならば、上記の参考文献および出願の構成、機能および概念を用いて、本開示のなおさらなる態様を提供するように修飾されることができる。そのうえ、生物学的機能の等価性の考慮により、種類または量の点で生物学的または化学的作用に影響することなく、タンパク質構造にいくつかの変更を加えることができる。これらおよび他の変更は、詳細な説明を考慮して開示に対して加えることができる。そのような修飾はすべて、特許請求の範囲内に含まれることを意図している。

30

40

【0199】

前述の態様のいずれかの特定の要素は、他の態様における要素と組み合わせる、またはそれに代えて用いることができる。さらに、本開示の特定の態様に関連する利点がこれらの態様に関連して説明されたが、他の態様もまた、そのような利点を示してもよく、また、必ずしもすべての態様が、本発明の範囲に入る、そのような利点を示す必要はない。

【0200】

本明細書に記載される技術は、さらに限定的であるとは決して解釈されるべきではない

50

以下の実施例によってさらに説明される。

【0201】

本明細書に記載される技術のいくつかの態様は、以下の番号付きパラグラフのいずれかにしたがって定義され得る：

1. PD1ポリペプチドに特異的に結合する抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体（CAR）であって、

該抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARが、

- (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

10

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域（CDR）を含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

20

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

30

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

40

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

50

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

50

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む、

前記抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCAR。

2. SEQ ID NO: 23~25もしくは29~31もしくは35~37もしくは41~43もしくは47~49もしくは53~55もしくは59~61もしくは65~67もしくは71~73もしくは77~79もしくは83~85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む、パラグラフ1の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

3. SEQ ID NO: 26~28もしくは32~34もしくは38~40もしくは44~46もしくは50~52もしくは56~58もしくは62~64もしくは68~70もしくは74~76もしくは80~82もしくは86~88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む、パラグラフ1または2の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

4. SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26~28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29~31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32~34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸

10

20

30

40

50

配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35～37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38～40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 41～43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44～46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47～49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50～52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53～55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56～58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 59～61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62～64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65～67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68～70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71～73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74～76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77～79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80～82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83～85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86～88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む、パラグラフ1～3のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

5. PD1ポリペプチドに特異的に結合し、かつPD1の結合に関して、

SEQ ID NO: 23～25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26～28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29～31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32～34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35～37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38～40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 41～43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44～46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47～49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50～52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53～55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56～58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 59～61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62～64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸

10

20

30

40

50

配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65～67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68～70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71～73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74～76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77～79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80～82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83～85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86～88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む第二の抗体と競合することができる、

第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

6. (a) SEQ ID NO: 23のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；

(b) SEQ ID NO: 24のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

(c) SEQ ID NO: 25のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；

(d) SEQ ID NO: 26のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；

(e) SEQ ID NO: 27のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および

(f) SEQ ID NO: 28のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖の相補性決定領域（CDR）を含むか；または

(a) SEQ ID NO: 29のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；

(b) SEQ ID NO: 30のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

(c) SEQ ID NO: 31のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；

(d) SEQ ID NO: 32のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；

(e) SEQ ID NO: 33のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および

(f) SEQ ID NO: 34のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

(a) SEQ ID NO: 35のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；

(b) SEQ ID NO: 36のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

(c) SEQ ID NO: 37のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；

(d) SEQ ID NO: 38のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；

(e) SEQ ID NO: 39のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および

(f) SEQ ID NO: 40のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

(a) SEQ ID NO: 41のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；

(b) SEQ ID NO: 42のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

(c) SEQ ID NO: 43のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；

(d) SEQ ID NO: 44のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；

(e) SEQ ID NO: 45のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および

(f) SEQ ID NO: 46のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

(a) SEQ ID NO: 47のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；

(b) SEQ ID NO: 48のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；

(c) SEQ ID NO: 49のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；

(d) SEQ ID NO: 50のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；

(e) SEQ ID NO: 51のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および

(f) SEQ ID NO: 52のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

10

20

30

40

50

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 53のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 54のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 55のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 56のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 57のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 58のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 59のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 60のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 61のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 62のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 63のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 64のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

10

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 65のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 66のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 67のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 68のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 69のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 70のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

20

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 71のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 72のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 73のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 74のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 75のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 76のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 77のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 78のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 79のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 80のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 81のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 82のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

30

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) SEQ ID NO: 83のアミノ酸配列を有する重鎖CDR1；
- (b) SEQ ID NO: 84のアミノ酸配列を有する重鎖CDR2；
- (c) SEQ ID NO: 85のアミノ酸配列を有する重鎖CDR3；
- (d) SEQ ID NO: 86のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1；
- (e) SEQ ID NO: 87のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2；および
- (f) SEQ ID NO: 88のアミノ酸配列を有する軽鎖CDR3

40

からなる群より選択される少なくとも1つの重鎖または軽鎖のCDRを含むか；または

- (a) ~ (f) の1つまたは複数の保存的置換変異体を含む、

パラグラフ5の第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはキメラ抗原受容体 (CAR)。

7. SEQ ID NO: 23~25もしくは29~31もしくは35~37もしくは41~43もしくは47~49もしくは53~55もしくは59~61もしくは65~67もしくは71~73もしくは77~79もしくは83~85のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDRを含む、パラグラフ5または6の抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

50

8. SEQ ID NO: 26~28もしくは32~34もしくは38~40もしくは44~46もしくは50~52もしくは56~58もしくは62~64もしくは68~70もしくは74~76もしくは80~82もしくは86~88のアミノ酸配列、またはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRを含む、パラグラフ5~7のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

9. SEQ ID NO: 23~25のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 26~28のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 29~31のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 32~34のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 35~37のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 38~40のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 41~43のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 44~46のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 47~49のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 50~52のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 53~55のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 56~58のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 59~61のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 62~64のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 65~67のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 68~70のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 71~73のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 74~76のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 77~79のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 80~82のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR；または

SEQ ID NO: 83~85のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する軽鎖CDRおよびSEQ ID NO: 86~88のアミノ酸配列もしくはそのようなアミノ酸配列の保存的置換変異体を有する重鎖CDR

を含む、パラグラフ5~8のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

10. SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19または21のいずれかの軽鎖配列を含む、パラグラフ1~9のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

11. SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20または22のいずれかの重鎖配列を含む、パラグラフ1~10のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

12. SEQ ID NO: 1の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 2の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 3の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 4の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 5の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 6の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 7の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 8の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 9の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 10の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 11の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 12の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 13の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 14の重鎖配列；または

SEQ ID NO: 15の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 16の重鎖配列；または

10

20

30

40

50

SEQ ID NO: 17の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 18の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 19の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 20の重鎖配列；または  
 SEQ ID NO: 21の軽鎖配列およびSEQ ID NO: 22の重鎖配列

を含む、パラグラフ1~11のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

13. CDRに含まれない配列中の保存的置換をさらに含む、パラグラフ1~12のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

14. 抗体試薬またはその抗原結合断片が、完全にヒトであるかまたは完全にヒト化されている、パラグラフ1~13のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

15. 抗体試薬またはその抗原結合断片が、CDR配列を除き、完全にヒト化されている、パラグラフ1~14のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

16. 試薬または断片が、

免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、ヒト化抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、ジスルフィド結合Fv、scFv、シングルドメイン抗体、ダイアボディ、多重特異性抗体、デュアル特異性抗体、抗イディオタイプ抗体、および二重特異性抗体からなる群より選択される、パラグラフ1~15のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCAR。

17. パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合部分、またはCARと、化学療法剤とを含む、組成物。

18. 抗体、抗体試薬、またはその抗原結合部分が、化学療法剤にコンジュゲートされている、パラグラフ17の組成物。

19. パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARをコードする、核酸配列。

20. パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR、またはパラグラフ19の核酸配列を含む、細胞。

21. パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR；またはパラグラフ17もしくは18の組成物；またはパラグラフ20の細胞と、薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物。

22. パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む、固体支持体。

23. 抗体、抗体試薬、またはその抗原結合断片が、検出可能に標識されている、パラグラフ22の固体支持体。

24. 固体支持体が、粒子、ビーズ、ポリマー、または基板を含む、パラグラフ22~23のいずれかの固体支持体。

25. 固体支持体上に固定化されかつ検出可能な標識を含むパラグラフ1~16のいずれかの第一の抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを少なくとも含む、試料中のPD1ポリペプチドを検出するためのキット。

26. PD1ポリペプチドに結合されたパラグラフ1~16のいずれかの少なくとも1つの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、またはCARを含む、分子複合体。

27. 癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法であって、パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR；またはパラグラフ17もしくは18の組成物；またはパラグラフ20の細胞を、該対象に投与する工程を含む方法。

28. 癌が、非小細胞肺癌；黒色腫；転移性黒色腫；腎細胞癌；頭頸部扁平上皮癌；ホジキンリンパ腫；古典的ホジキンリンパ腫；および尿路上皮癌からなる群より選択される、パラグラフ27の方法。

29. 癌の治療を必要とする対象における癌を治療する方法に使用するための、パラグラフ1~16のいずれかの抗体、抗体試薬、その抗原結合断片、もしくはCAR；またはパラグラフ17もしくは18の組成物；またはパラグラフ20の細胞。

30. 癌が、非小細胞肺癌；黒色腫；転移性黒色腫；腎細胞癌；頭頸部扁平上皮癌；ホジキンリンパ腫；古典的ホジキンリンパ腫；および尿路上皮癌からなる群より選択される、パラグラフ29の組成物。

10

20

30

40

50

## 【実施例】

## 【0202】

## 実施例1

治療用抗体の有効性は、標的抗原に対する結合親和性および特異性に依存する。現在利用可能な技術を用いて開発された一部の治療用抗体は、これらの決定的なパラメータに関して最適化されていない。本明細書に記載される抗体は、この問題に対処するために設計された技術を用いて開発されたものである。簡潔にいうと、特定の治療用抗体をコードする免疫グロブリン遺伝子をマウス免疫グロブリン遺伝子座に導入する。B細胞成熟中、元のヒト抗体はV(D)J組換えによって広く多様化されて、初代マウスB細胞の大きなレパートリー（その中で、多くは元の抗体の異なる変異体を発現する）を形成する。マウスを標的抗原で免疫化して、抗原にとって最良のバインダを発現するB細胞を選択し、増殖させる。免疫応答中、ヒト抗体は、親和性成熟、すなわち自然な抗体最適化プロセスを受ける。

10

## 【0203】

免疫化を繰り返したのち、標的抗原に対する高親和性抗体をコードする免疫グロブリン遺伝子を単離する。この手法は、本明細書において、既存の抗PD1抗体を初期出発点として使用して、より効果的な新たな抗体を開発することが実証される。以前に、この抗体は、腫瘍細胞に対するT細胞活性を増強するのに有効であることが証明されている。本明細書において実証されるように、初期抗PD1抗体は、より多くの親和性成熟を受けると、重鎖CDR3使用に最適化されて、より高い親和性および増大した特異性を得ることができる。この目標を達成するために、元の抗PD1抗体を、記載されたマウス系中で多様化させて、任意のヒト化マウスモデル中で達成可能な複雑さを超える、多くの場合に抗原結合に決定的である、はるかに大きな範囲のCDR3配列を作製した。抗PD1関連抗体のこの大きなセットのメンバーは、PD1抗原による免疫化に応答して、さらなる親和性成熟を受けた。

20

## 【0204】

このシステムを用いて、元の抗PD1抗体の変異体の大きなセットを生成し、これらの変異体のいくつかは元の抗体とは実質的に異なる（新規なCDR3配列を含め、最大20%の配列分散）。予備的な分析に基づくと、これらの抗体の少なくともいくつかは、元の抗体よりも高い親和性および特異性でPD1に結合する（図5および6）。

30

## 【0205】

抗体配列。11個の抗体の重鎖（HC）および軽鎖（LC）のタンパク質配列を以下に挙げる：

## 319-8-2重鎖 (SEQ ID NO: 1)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAASGVAFSDSGMHVWRQAPGKGLEWLAIVWYDGSK  
KHVYAEAVKGRFTISRDNLSKNMMLYLQMNSLRVDDTAIYYCAKAHSQDDYWGQGTLVTVSS

## 319-8-2軽鎖 (SEQ ID NO: 2)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATPSIDSYLAWYQKSGQSPRLIIHDASIRATGIPDRFS  
GSGSGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQQRDSWPLAFGGGKVEFK

40

## 319-9-17重鎖 (SEQ ID NO: 3)

QEWLVESGGDVVQPGGSLRLSCATSKVTFNDFGIHWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGSR  
NHVYADSVRGRFTLSRDNSKNMVLHLMSSLRTEDTAMYYCARGIHSNDDYWGQGMVTVSS

319-9-17 軽鎖 (SEQ ID NO: 4)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRTSQSVSSDLAWFQQKPGQAPRLFIFDASKRVNGIPARF  
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRDHWPLTFGGGSRVEIK

319-9-53 重鎖 (SEQ ID NO: 5)

QVQLVESGGDVVQSGGSLRLSCAVSGVVFSDYGFVWRQAPGKGLEWVAVIWYDGS  
RKHYADSVQGRFTISRDNFRNMLYLQMTGLRVEDTAKYYCTRSHSHEDYWGQGLVT  
VSS

10

319-9-53 軽鎖 (SEQ ID NO: 6)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCGASQNIDNSLAWFQQKPGQAPRLIYDASKRATGIPAR  
FSGSGSGTDFTLTISTLEPEDFAVYYCQQRDHWPLNFGGGTKVEVK

319-9-27 重鎖 (SEQ ID NO: 7)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAVSGVTFGDFGFVWRQAPGKGLEWVAVIWYDGS  
RKHYAESVRGRFTISRDNNSRNMMYLEMTGLRVEDTAKYYCTRSHSHEDYWGQGLVT  
VSS

20

319-9-27 軽鎖 (SEQ ID NO: 8)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQISNYLAWFQQKSGQAPRLIHDFAFKRAAGIPTR  
FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRDNWPLNFGGGTKVEIK

397-27-93 重鎖 (SEQ ID NO: 9)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAASGVVFSDYGLYWVRQAPGKGLEWVALIWYDGS  
KKFYADSVKGRFSISRDNNSKNMLYLQMNNLRADDSAIYYCSRGIRQGPWFAYWGQG  
TRVTVSP

30

397-27-93 軽鎖 (SEQ ID NO: 10)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISDLTWFAQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFS  
GSGSGTDFTLTISSLEPEDFVVYYCLQRSDWPLTFGGGKVEIK

319-9-34 重鎖 (SEQ ID NO: 11)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCTVSGAVFRDLGMEWVRQAPGKGLEWLAVIWDGGR  
KHYADSVKGRFTISRDNMFLQMNGLRVDDTAMYYCTRSHTDDYWGQGLVTV  
SS

10

319-9-34 軽鎖 (SEQ ID NO: 12)

EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSISDLAWFAQKPGQAPRLIYGASKRATGIPARF  
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSDWPLNFGGGKVEIK

397-27-23 重鎖 (SEQ ID NO: 13)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCSASGLVISDYGMNWVRQAPGKGLEWVGLIWDGSK  
KYYSDVFKGRFTISRDNMFLQMNLRVDDTAMYYCARFLIGATRRGNAMDYWGQ  
GTSVTVSS

20

397-27-23 軽鎖 (SEQ ID NO: 14)

EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISDLAWSQKPGQPPRLIYDASNRATGIPARF  
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSDWPLTFGGGKVEIR

397-27-3 重鎖 (SEQ ID NO: 15)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCSASGLVFRDYGMNWVRQAPGKGLEWVGLIWDGSK  
KYYSDVFKGRFTISRDNMFLQMNLRVDDTAMYYCARFLIGATRRGNAMDYWGQ  
GTSVIVSS

30

397-27-3 軽鎖 (SEQ ID NO: 16)

EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISDLAWSQKGTGPPRLIYDASNRATGIPARF  
SGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSDWPLTFGGGKVEIR

397-9-75 重鎖 (SEQ ID NO: 17)

QLQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAASGVVFSDFGLEWVRQAPGKGLEWLAVIWDGSRK  
HYADSVKGRFTISRDNMFLQMNLRVEDTAMYYCARCHSKEDYWGQGLVTVS  
S

40

## 397-9-75 軽鎖 (SEQ ID NO: 18)

EIEVTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIDTDLAWFQQRPGQTPRLIYDASKRATGIPAR  
FSGGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRTTWPLTFGGGKVEIK

## 397-27-35 重鎖 (SEQ ID NO: 19)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCSASGLVISDYGMNWVRQAPGKGLEWVGLIWDGSK  
KYYSDFFVKGRFTISRDN SKNLYLQMNLR AEDTAMYYCARFLIGATRRGNAMDYWGQ  
GTSVTVSS

10

## 397-27-35 軽鎖 (SEQ ID NO: 20)

EVVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSIDS DLAWSQQKPGQPPRLIYDASN RATGIPA  
RFSGSGSGTDFTLTISSLEDEDFAVYYCQQRSDWPLTFGGGKVEIR

## 397-27-37 重鎖 (SEQ ID NO: 21)

QVQLVESGGDVVQPGGSLRLSCAASGVAFRNYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIWYDG  
SNKYYADSVKGRFTISRDN SKNMLYLQMN SLRAEDTAMYYCARLSIGTTHYFD TDDY  
WGQGTSVTVSS

20

## 397-27-37 軽鎖 (SEQ ID NO: 22)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKVGQAPRLIIFDASN RATGIPA  
RFSGSGSGTDFTLTITSLDPEDFAVYYCQQRSAWPLTFGGGKVEIR

【 0 2 0 6 】

30

【 表 1 】

	配列	SEQ ID NO
抗体: 319-8-2		
重鎖 CDR1	GVAFSDSG	23
重鎖 CDR2	IWYDGSKK	24
重鎖 CDR3	AKAHSQDDY	25
軽鎖 CDR1	PSIDSY	26
軽鎖 CDR2	DAS	27
軽鎖 CDR3	QQRDSWPLA	28
抗体: 319-8-17		
重鎖 CDR1	KVTFNDFG	29

40

重鎖 CDR2	IWYDGSRN	30
重鎖 CDR3	ARGIHSNDDY	31
軽鎖 CDR1	QSVSSD	32
軽鎖 CDR2	DAS	33
軽鎖 CDR3	QQRTDWPLT	34
抗体 : 319-9-53		
重鎖 CDR1	GVVFSYDG	35
重鎖 CDR2	IWYDGSRK	36
重鎖 CDR3	TRSHSHEDY	37
軽鎖 CDR1	QNIDNS	38
軽鎖 CDR2	DAS	39
軽鎖 CDR3	QQRDHWPLN	40
抗体 : 319-9-27		
重鎖 CDR1	GVTFGDFG	41
重鎖 CDR2	IWYDGSRK	42
重鎖 CDR3	TRSHSHEDY	43
軽鎖 CDR1	QSISSY	44
軽鎖 CDR2	DAF	45
軽鎖 CDR3	QQRDNWPLN	46
抗体 : 319-27-93		
重鎖 CDR1	GVVFSYDG	47
重鎖 CDR2	IWYDGSKK	48
重鎖 CDR3	SRGIRQGPWFAY	49
軽鎖 CDR1	QSISSD	50
軽鎖 CDR2	DAS	51
軽鎖 CDR3	LQRSDWPLT	52
抗体 : 319-9-34		
重鎖 CDR1	GAVFRDLG	53
重鎖 CDR2	IWYDGGRK	54
重鎖 CDR3	TRSHSTDDY	55
軽鎖 CDR1	QSISSD	56
軽鎖 CDR2	GAS	57
軽鎖 CDR3	QQRDSWPLN	58
抗体 : 319-27-23		
重鎖 CDR1	GLVISDYG	59
重鎖 CDR2	IWYDGSKK	60
重鎖 CDR3	ARFLIGATRRGNAMDY	61
軽鎖 CDR1	QSIDSD	62
軽鎖 CDR2	DAS	63
軽鎖 CDR3	QQRSDWPLT	64
抗体 : 319-27-3		
重鎖 CDR1	GLVFRDYG	65

10

20

30

40

重鎖 CDR2	IWYDGTCK	66
重鎖 CDR3	ARFLIGATRRGNAMDY	67
輕鎖 CDR1	QSIDSD	68
輕鎖 CDR2	DAS	69
輕鎖 CDR3	QQRSDWPLT	70
抗体: 319-9-75		
重鎖 CDR1	GVVFSDFG	71
重鎖 CDR2	IWYDGSRK	72
重鎖 CDR3	ARCHSKEDY	73
輕鎖 CDR1	QSIDTD	74
輕鎖 CDR2	DAS	75
輕鎖 CDR3	QQRTTWPLT	76
抗体: 319-27-35		
重鎖 CDR1	GLVISDYG	77
重鎖 CDR2	IWYDGSKK	78
重鎖 CDR3	ARFLIGATRRGNAMDY	79
輕鎖 CDR1	QSIDSD	80
輕鎖 CDR2	DAS	81
輕鎖 CDR3	QQRSDWPLT	82
抗体: 319-27-37		
重鎖 CDR1	GVAFRNYG	83
重鎖 CDR2	IWYDGSNK	84
重鎖 CDR3	ARLSIGTTHYFDTDDY	85
輕鎖 CDR1	QSVSSY	86
輕鎖 CDR2	DAS	87
輕鎖 CDR3	QQRSAWPLT	88

10

20

【 1 】

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	118
	CDR H1			CDR H2			CDR H3			CDR H4		
1T08	GHVLESGPWGGLKCAKSGAIFSPFHWKDAWVDTGSGNHYKVSDEKRF	TSKNSKSNKTLQMSLKADETFMTFCR-N	-	GWKGGTLYESS	113							
318-8-2	M	R.H.LA.	V.B.	I.	K.ASG.	A	117					
318-9-8	AD	G	V	E	G.K	CHSK	116					
318-9-15	AD	G	V	E	G.K	CHSK	116					
318-9-17	EW	F.K.T.MOR	I.	BMH	WH.H.S.	GFSNK	M	113				
318-9-25	F.A.	G	V	E	G.K	CHSK	116					
318-9-26	F.W	F.K.T.MOR	I.	BMH	WH.H.S.	GFSNK	M	113				
318-9-27	V.T.K.T.MOR	I.	BMH	WH.H.S.	GFSNK	M	113					
318-9-28	V.T.K.T.MOR	I.	BMH	WH.H.S.	GFSNK	M	113					
318-9-34	V.V.AV.HBL	E	R.H.	E.R.	R.M.E.TG	V.K.T.SHSHE	116					
318-9-40	V.V.AV.HBL	E	R.H.	E.R.	R.M.E.TG	V.K.T.SHSHE	116					
318-9-41	V.V.AV.HBL	E	R.H.	E.R.	R.M.E.TG	V.K.T.SHSHE	116					
318-9-50	AD	G	V	E	G.K	CHSK	116					
318-9-51	S	V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113					
318-9-53	R.D.	G	V	E	G.K	CHSK	116					
318-9-60	V	V	V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113				
318-9-64	K.I.GW	B.S	R.H.	K.H.	N	F.SHS	114					
318-9-65	I.GW	B.S	R.H.	K.H.	N	F.SHS	114					
318-9-69	K.V	G.L.D.S	K.H.	M	F	SHS	113					
318-9-71	K.V	G.L.D.S	K.H.	M	F	SHS	113					
318-9-73	V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113						
318-9-75	V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113						
318-9-78	R	V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113					
318-9-80	R.V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113						
318-9-82	R.V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113						
318-9-83	R.V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113						
318-9-85	R.V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113						
318-9-88	S	V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113					
318-9-92	S	V.V.D.FE	R.H.	Q	FR	TG.V.K.I.SHSHE	113					
318-9-96	R	G.V	R.R.	R.	R.	R.	R.	R.	R.	R.	R.	R.

【 2 】

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	118			
	CDR L1			CDR L2			CDR L3			CDR L4					
1T08	EVALTQAPATLSLSPERATLCEWASISKSEAWYKQIPUQARLITTHANMATEIPAREVSSGSDPTLTSSLEPEPAPVYCCQSNMFLTGGGKFK	187													
318-8-2	P	ED	S.S.	H	I	D	A	S	WM	T	H	D	R	383	
318-9-8	K	S	N	S	T	K	G	V	E	G	K	C	H	305	
318-9-15	F	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	302	
318-9-17	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-25	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-26	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-27	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-28	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-34	V	T	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-40	V	T	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-41	V	T	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-50	V	T	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-51	V	T	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-53	R	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-56	M	S	N	S	T	K	G	V	E	G	K	C	305		
318-9-60	B	S	R	H	N	F	S	H	S	114					
318-9-64	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-65	F	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-69	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-71	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-73	T	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-75	F	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-78	R	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-80	R	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-82	R	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-83	R	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-85	R	M	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307	
318-9-88	S	V	D	F	R	H	Q	F	R	T	G	V	K	I	387
318-9-92	S	V	D	F	R	H	Q	F	R	T	G	V	K	I	387
318-9-96	R	G	V	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	387

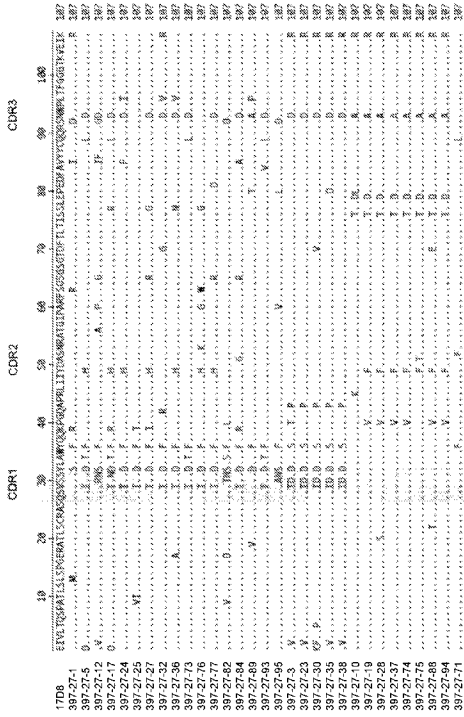
【 3 - 1 】

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	118		
	CDR H1			CDR H2			CDR H3			CDR H4				
1T08	GHVLESGPWGGLKCAKSGAIFSPFHWKDAWVDTGSGNHYKVSDEKRF	TSKNSKSNKTLQMSLKADETFMTFCR-N	-	GWKGGTLYESS	113									
387-27-1	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-5	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-6	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-10	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-12	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-16	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-18	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-20	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-21	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-24	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-25	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-27	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-30	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-36	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-40	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-44	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-45	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-50	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-53	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-55	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-59	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-64	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-65	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-68	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-70	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-73	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-74	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-84	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-93	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-95	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-10	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-13	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-15	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-19	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-22	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-25	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-35	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-38	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-70	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307

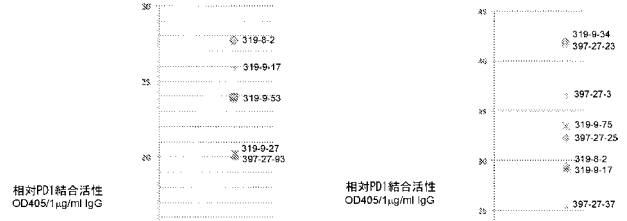
【 3 - 2 】

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	118		
	CDR L1			CDR L2			CDR L3			CDR L4				
387-27-10	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-13	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-15	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-19	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-22	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-25	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-35	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-38	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307
387-27-70	V	V	D	F	F	K	VM	G	V	E	G	K	C	307

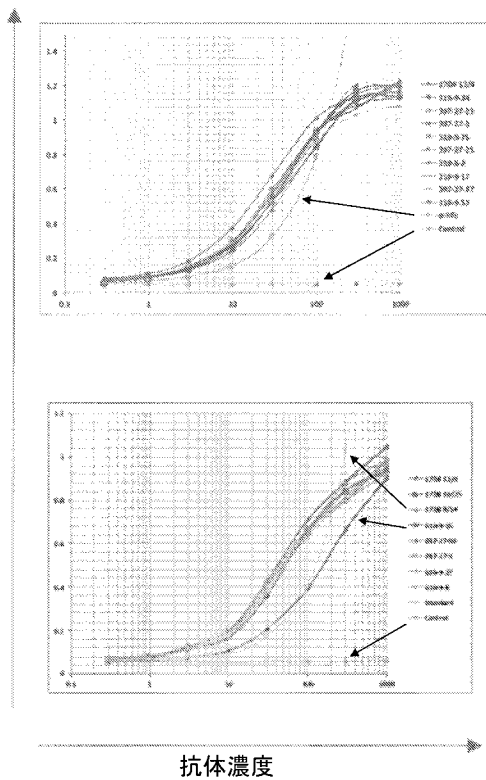
【 図 4 】



【 図 5 】

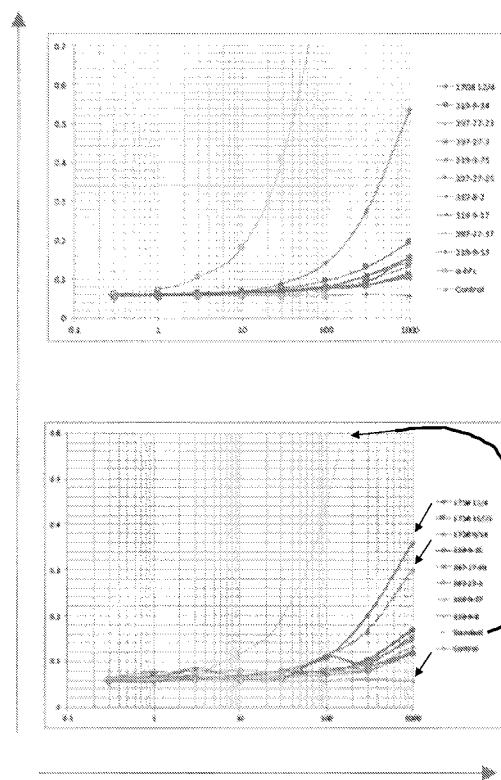


【 図 6 - 1 】  
PD1 結合活性



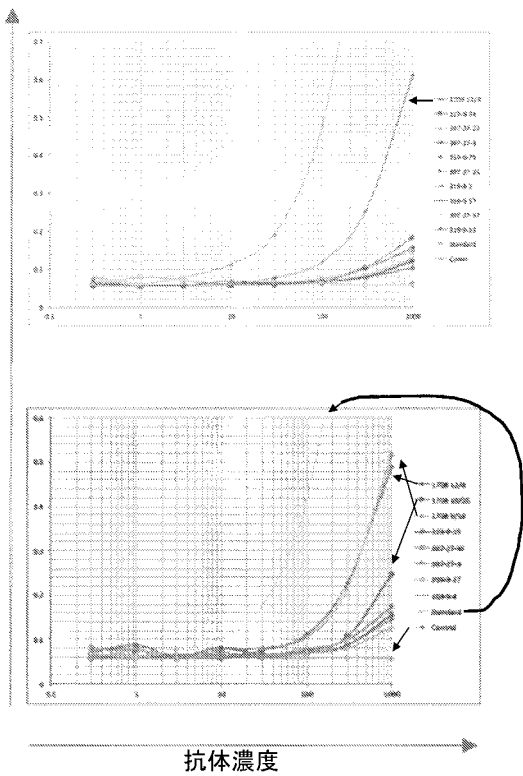
抗体濃度

【 図 6 - 2 】  
CD28 結合活性



抗体濃度

【図 6 - 3】  
CTLA4 結合活性



【手続補正書】

【提出日】令和2年1月29日(2020.1.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2020518243000001.app

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US18/30350

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC - C07K 14/725, 16/18, 16/28, 16/30; A61K 35/17, 39/395, 45/06; G01N 33/574 (2018.01)		
CPC - C07K 16/18, 16/28, 14/464, 16/2803, 16/2818, 16/2827, 16/30, 16/3023; A61K 9/0019, 35/17, 39/00, 39/395, 39/39558, 39/39591, 45/06; G01N 33/574, 33/57423		
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) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2016/197497 A1 (BEIJING DONGFANG BIOTECH CO., LTD., et al.) 15 December 2016; page 5, line 22; page 6, line 24; paragraphs [0009], [0033], [0049], [0074]; Table 1	1-2, 3/1-2, 5-6, 7/5-6
A	US 9,217,034 B2 (BEIGENE, LTD.) 22 December 2015; column 2, line 32-33, 36-39; column 9, line 17; column 10, line 50	1-2, 3/1-2
A	WO 2014/055648 A1 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 10 April 2014; page 15, 1st paragraph; page 15, 2nd paragraph	1-2, 3/1-2, 5-6, 7/5-6
A	WO 2016/210129 A1 (MEMORIAL SLOAN-KETTERING CANCER CENTER, et al.) 29 December 2016; paragraphs [0009], [0013], [0033], [0061]	1-2, 3/1-2
A	US 2017/0044259 A1 (CYTOMX THERAPEUTICS, INC.) 16 February 2017; paragraphs [0490], [0510], [0585]	5-6, 7/5-6
A	WO 2017/058859 A1 (CELGENE CORPORATION) 06 April 2017; paragraphs [0007]-[0009], [0122]	5-6, 7/5-6
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:		"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date		"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
"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)		"G" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
5 September 2018 (05.09.2018)	20 SEP 2018	
Name and mailing address of the ISA/ Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Shane Thomas	
	PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US18/30350

**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:
  
3.  Claims Nos.: 4, 8-30  
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:

\*\*\*-Please See Supplemental Page-\*\*\*

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 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.:
  
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.:  
Claims 1-3, 5-7; SEQ ID NO: 23 (HCDR1), SEQ ID NO: 24 (HCDR2), SEQ ID NO: 25 (HCDR3), SEQ ID NO: 26 (LCDR1),  
SEQ ID NO: 27 (LCDR2), and SEQ ID NO: 28 (LCDR3)

- 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 SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US18/30350

\*\*\*-Continued from Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-\*\*\*

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups I+, Claims 1-3, 5-7 and SEQ ID NOs: 23-28 are directed toward an antibody, antibody reagent, antigen-binding fragment thereof, or chimeric antigen receptor (CAR), that specifically binds a PD1 polypeptide.

The antibody, antibody reagent, binding fragment thereof or chimeric antigen receptor will be searched to the extent they encompass a heavy chain comprising a CDR1 encompassing SEQ ID NO: 23 (first exemplary HCDR1), a CDR2 encompassing SEQ ID NO: 24 (first exemplary HCDR2), a CDR3 encompassing SEQ ID NO: 25 (first exemplary HCDR3); and a light chain comprising a CDR1 encompassing SEQ ID NO: 26 (first exemplary LCDR1), a CDR2 encompassing SEQ ID NO: 27 (first exemplary LCDR2); and a CDR3 encompassing SEQ ID NO: 28 (first exemplary LCDR3). Applicant is invited to elect additional antibody(ies) with associated set(s) of CDRs, with specified SEQ ID NO: for each CDR, or with specified substitution(s) at specified site(s) of a SEQ ID NO., such that the sequence of each elected species is fully specified (i.e. no optional or variable residues or substituents), to be searched. Additional antibody(ies) and associated set(s) of CDR sequences will be searched upon the payment of additional fees. It is believed that claims 1-3 (each in-part), and 5-7 (each in-part) encompass this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 23 (HCDR1), SEQ ID NO: 24 (HCDR2), SEQ ID NO: 25 (HCDR3), SEQ ID NO: 26 (LCDR1), SEQ ID NO: 27 (LCDR2), and SEQ ID NO: 28 (LCDR3). Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined. An exemplary election would be an antibody encompassing SEQ ID NO: 29 (HCDR1), SEQ ID NO: 30 (HCDR2), SEQ ID NO: 31 (HCDR3), SEQ ID NO: 32 (LCDR1), SEQ ID NO: 33 (LCDR2), and SEQ ID NO: 34 (LCDR3).

No technical features are shared between the antibody CDR sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features including: an antibody, antibody reagent, antigen-binding fragment thereof, or chimeric antigen receptor (CAR), that specifically binds a PD1 polypeptide, said antibody reagent, antigen-binding portion thereof, or CAR comprising at least one heavy or light chain complementarity determining region (CDR); and a first antibody, antibody reagent, antigen-binding portion thereof, or CAR that specifically binds a PD1 polypeptide, and can compete for binding of PD1 with a second antibody comprising: light chain CDRs and heavy chain CDRs; these shared technical features are previously disclosed by WO 2017/058859 A1 to Celgene Corporation (hereinafter 'Celgene').

Celgene discloses an antibody, antibody reagent, antigen-binding fragment thereof, or chimeric antigen receptor (CAR), that specifically binds a PD1 polypeptide (an antibody, antibody reagent, antigen-binding fragment thereof that specifically binds a PD1 polypeptide; paragraph [0002]), said antibody reagent, antigen-binding portion thereof, or CAR comprising at least one heavy or light chain complementarity determining region (CDR) (said antibody reagent, antigen-binding portion thereof, or CAR comprising at least one heavy or light chain complementarity determining region (CDR); paragraph [0005]); and a first antibody, antibody reagent, antigen-binding portion thereof, or CAR that specifically binds a PD1 polypeptide (an antibody, antibody reagent, antigen-binding fragment thereof that specifically binds a PD1 polypeptide; paragraph [0002]), and can compete for binding of PD1 with a second antibody (can compete for binding of PD1 with a second antibody; paragraph [0007]) comprising: light chain CDRs and heavy chain CDRs (comprising: light chain CDRs and heavy chain CDRs; paragraph [0005]).

Since none of the special technical features of the Groups I+ inventions is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the Celgene reference, unity of invention is lacking.

## 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 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 35/12 (2015.01)	A 6 1 K 39/395	T
A 6 1 K 9/16 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 37/04 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	E
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	L
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Y
C 0 7 K 16/18 (2006.01)	A 6 1 K 35/12	
	A 6 1 K 9/16	
	A 6 1 P 37/04	
	G 0 1 N 33/53	D
	G 0 1 N 33/543	5 0 1 A
	C 0 7 K 16/18	Z N A

(81)指定国・地域 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, 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 アルト フレデリック ダブリュ .

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ハーバード ストリート 3

21 アパートメント 201

(72)発明者 ティアン ミン

アメリカ合衆国 02115 マサチューセッツ州 ボストン ブルックライン アベニュー 4  
00 アpartment 23イー

(72)発明者 チェン フェイ - リン

アメリカ合衆国 01532 マサチューセッツ州 ノースボロー ブリドル パス ドライブ  
8

F ターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA83X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25  
CA44  
4C076 AA31 AA95 BB01 BB11 BB13 BB14 BB15 BB16 BB21 CC27  
EE41 EE59 FF31  
4C084 AA13 AA19 MA02 MA05 MA13 MA52 MA56 MA65 MA66 MA67  
NA05 NA13 NA14 ZB091 ZB092 ZB261 ZB262 ZC751  
4C085 AA13 AA14 AA15 AA16 AA19 AA26 BB31 BB33 BB34 BB35  
BB36 BB37 BB41 BB43 CC22 CC23 DD62 EE01 EE03 GG02  
GG03 GG04 GG05 GG06 GG08  
4C087 AA01 AA02 BB33 MA02 NA05 NA13 NA14 ZB09 ZB26 ZC75  
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 BA41 BA60 CA40 DA75 DA76 EA20  
FA74

专利名称(译)	与抗pd1抗体试剂有关的方法和组合物		
公开(公告)号	<a href="#">JP2020518243A</a>	公开(公告)日	2020-06-25
申请号	JP2019559720	申请日	2018-05-01
[标]申请(专利权)人(译)	儿童医学中心公司		
申请(专利权)人(译)	儿童医学中心公司		
[标]发明人	ティアンミン		
发明人	アルト フレデリック ダブリュ. ティアン ミン チェン フェイ-リン		
IPC分类号	C12N15/13 C12N5/10 C07K19/00 C07K17/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 A61K45/00 A61K47/68 A61P35/00 A61P43/00 A61P35/04 A61K48/00 A61K39/395 A61K35/12 A61K9/16 A61P37/04 G01N33/53 G01N33/543 C07K16/18		
CPC分类号	A61K35/17 A61P35/00 C07K16/2818 C07K2317/565 C07K2317/92 G01N33/57426 G01N33/5743 G01N33/57438 G01N33/57492 G01N2333/70532 C07K2317/21 C07K2317/24		
FI分类号	C12N15/13 C12N5/10 C07K19/00 C07K17/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 A61K45/00 A61K47/68 A61P35/00 A61P43/00.121 A61P35/04 A61K48/00 A61K39/395.D A61K39/395.T A61K39/395.N A61K39/395.E A61K39/395.L A61K39/395.Y A61K35/12 A61K9/16 A61P37/04 G01N33/53.D G01N33/543.501.A C07K16/18.ZNA		
F-TERM分类号	4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA83X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4C076/AA31 4C076/AA95 4C076/BB01 4C076/BB11 4C076/BB13 4C076/BB14 4C076/BB15 4C076/BB16 4C076/BB21 4C076/CC27 4C076/EE41 4C076/EE59 4C076/FF31 4C084/AA13 4C084/AA19 4C084/MA02 4C084/MA05 4C084/MA13 4C084/MA52 4C084/MA56 4C084/MA65 4C084/MA66 4C084/MA67 4C084/NA05 4C084/NA13 4C084/NA14 4C084/ZB091 4C084/ZB092 4C084/ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZC751 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA15 4C085/AA16 4C085/AA19 4C085/AA26 4C085/BB31 4C085/BB33 4C085/BB34 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG08 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB33 4C087/MA02 4C087/NA05 4C087/NA13 4C087/NA14 4C087/ZB09 4C087/ZB26 4C087/ZC75 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/BA60 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74		
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	62/492533 2017-05-01 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

#### 摘要(译)

本文描述了新颖的抗PD1抗体试剂(例如,抗体,其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体)。 本文还描述了包含公开的抗体试剂的抗体药物缀合物或试剂盒,以及通过施用公开的抗体试剂治疗癌症的方法。

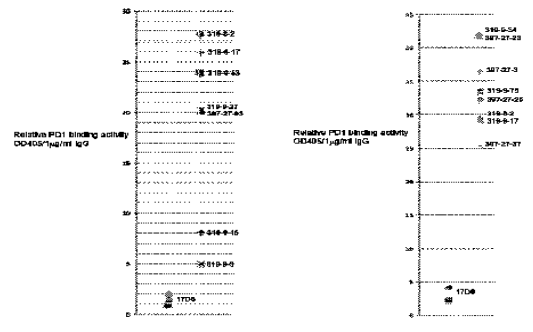


Fig. 5