

(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2021-526844

(P2021-526844A)

(43) 公表日 令和3年10月11日 (2021. 10. 11)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/62 (2006. 01)	C 1 2 N 15/62 Z	4 B 0 6 3
C 0 7 K 16/28 (2006. 01)	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 B 0 6 4
C 1 2 N 15/13 (2006. 01)	C 1 2 N 15/13	4 B 0 6 5
C 0 7 K 16/46 (2006. 01)	C 0 7 K 16/46	4 C 0 7 6
C 0 7 K 19/00 (2006. 01)	C 0 7 K 19/00	4 C 0 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 222 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2020-570458 (P2020-570458)
 (86) (22) 出願日 令和1年6月17日 (2019. 6. 17)
 (85) 翻訳文提出日 令和3年2月17日 (2021. 2. 17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2019/037534
 (87) 国際公開番号 W02019/245991
 (87) 国際公開日 令和1年12月26日 (2019. 12. 26)
 (31) 優先権主張番号 62/686, 605
 (32) 優先日 平成30年6月18日 (2018. 6. 18)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 321002949
 ユーリカ セラピューティックス, イン
 コーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 946
 08, エメリービル, ホートン スト
 リート 5858, スイート 170
 (74) 代理人 110002077
 園田・小林特許業務法人
 (72) 発明者 リュー, ホン
 アメリカ合衆国 94803 カリフォル
 ニア, エル ソブランテ, ウッドビュ
 ー ドライブ 5573

最終頁に続く

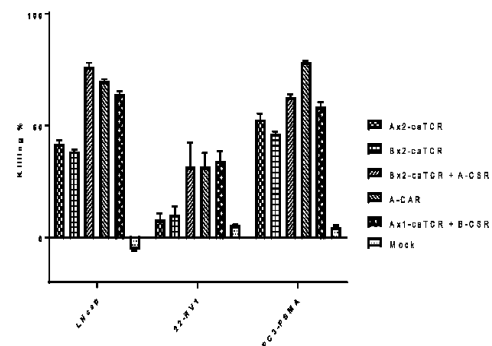
(54) 【発明の名称】 前立腺特異的膜抗原 (P S M A) を標的とする構築物及びその使用

(57) 【要約】

本出願は、P S M A (例えば、細胞の表面上に発現される P S M A) に特異的に結合する抗体部分を含む構築物を提供する。これらの構築物を作製及び使用する方法も提供される。

【選択図】 図 6

FIG. 6



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む細胞表面結合 P S M A の細胞外ドメインを特異的に認識する抗体部分を含む抗前立腺特異的膜抗原 (P S M A) 構築物。

【請求項 2】

抗体部分が、

i) 配列番号 1 - 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 1 、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体、配列番号 3 - 4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 2 、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体、及び配列番号 5 - 6 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 3 、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体を含む重鎖可変ドメイン (V_H) ; 並びに

10

i i) 配列番号 7 - 8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 1 、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体、アミノ酸配列 G N S 若しくは S S N を含む C D R - L 2 、又は約 2 個のアミノ酸置換を含むその変異体、及び配列番号 9 - 10 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 3 、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体を含む軽鎖可変ドメイン (V_L)

を含む、請求項 1 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 3】

抗体部分が、 i) 配列番号 1 - 2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 1 、配列番号 3 - 4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 2 、及び配列番号 5 - 6 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む V_H ; 並びに i i) 配列番号 7 - 8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 1 、 G N S 又は S N N のアミノ酸配列を含む C D R - L 2 、及び配列番号 9 - 10 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む V_L を含む、請求項 2 に記載の抗 P S M A 構築物。

20

【請求項 4】

抗体部分が、

a) 配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R - H 1 、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R - H 2 、及び配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む V_H ; 並びに配列番号 7 のアミノ酸配列を含む C D R - L 1 、アミノ酸配列 G N S を含む C D R - L 2 、及び配列番号 9 のアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む軽鎖可変ドメイン (V_L) ; 又は

30

b) 配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R - H 1 、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R - H 2 、及び配列番号 6 のアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む V_H ; 並びに配列番号 8 のアミノ酸配列を含む C D R - L 1 、アミノ酸配列 S N N を含む C D R - L 2 、及び配列番号 10 のアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む V_L を含む、請求項 2 又は 3 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 5】

抗体部分が、配列番号 16 又は 17 に記載の重鎖可変ドメイン (V_H) の C D R - H 1 、 C D R - H 2 、及び C D R - H 3 、並びに配列番号 18 又は 19 に記載の軽鎖可変ドメイン (V_L) の C D R - L 1 、 C D R - L 2 、及び C D R - L 3 を含む、請求項 1 に記載の抗 P S M A 構築物。

40

【請求項 6】

抗体部分が、

(a) 配列番号 16 に記載の V_H の C D R - H 1 、 C D R - H 2 、及び C D R - H 3 、並びに配列番号 18 に記載の V_L の C D R - L 1 、 C D R - L 2 、及び C D R - L 3 ; 又は

(b) 配列番号 17 に記載の V_H の C D R - H 1 、 C D R - H 2 、及び C D R - H 3 、並びに配列番号 19 に記載の V_L の C D R - L 1 、 C D R - L 2 、及び C D R - L 3 を含む、請求項 5 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 7】

50

抗体部分が、

i) 配列番号 16、配列番号 17、又は配列番号 16 若しくは 17 に対して少なくとも約 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H ；及び配列番号 18、配列番号 19、又は配列番号 18 若しくは 19 に対して少なくとも約 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L ；

ii) 配列番号 16、又は配列番号 16 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H ；及び配列番号 18 又は配列番号 18 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L ；

iii) 配列番号 17、又は配列番号 16 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H ；及び配列番号 19 又は配列番号 18 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L ；

iv) 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む V_H 、及び配列番号 18 のアミノ酸配列を含む V_L ；又は

v) 配列番号 17 のアミノ酸配列を含む V_H 、及び配列番号 19 のアミノ酸配列を含む V_L

を含む、請求項 1－6 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 8】

抗体部分が、

i) 配列番号 1、3、及び 5 のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン (V_H)、並びに配列番号 7、G N S、及び配列番号 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン (V_L)；又は

ii) 配列番号 2、4、及び 6 のアミノ酸配列を含む V_H 、並びに配列番号 8、S S N、及び配列番号 10 のアミノ酸配列を含む V_L

を含む、請求項 1 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 9】

P S M A を特異的に認識する抗体部分が、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である、請求項 1－8 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 10】

P S M A を特異的に認識する抗体部分が、完全長抗体、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v、又は単鎖 F v (s c F v) である、請求項 1－9 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 11】

P S M A を特異的に認識する抗体部分が、s c F v である、請求項 10 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 12】

s c F v が、

i) 配列番号 20 に記載のアミノ酸配列若しくは配列番号 20 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列；又は

ii) 配列番号 21 に記載のアミノ酸配列若しくは配列番号 21 に対して少なくとも 85%、90%、又は 95% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 13】

抗 P S M A 構築物が完全長抗体であり、該完全長抗体が、

i) 配列番号 39 若しくは配列番号 39 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号 40 若しくは配列番号 40 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖；又は

ii) 配列番号 41 若しくは配列番号 41 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号 42 若しくは配列番号 42 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖

10

20

30

40

50

を含む、請求項 10 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 14】

構築物が単一特異性である、請求項 1－13 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 15】

構築物が多重特異性である、請求項 1－13 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 16】

構築物が二重特異性である、請求項 15 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 17】

構築物が、タンデム s c F v、ダイアボディ (D b)、単鎖ダイアボディ (s c D b)、二重親和性リターゲティング (d u a l－a f f i n i t y r e t a r g e t i n g) (D A R T) 抗体、F (a b') 2、二重可変ドメイン (D V D) 抗体、ノブイントゥホール (K i H) 抗体、ドックアンドロック (D N L) 抗体、化学的に架橋された抗体、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である、請求項 15 又は 16 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 18】

構築物が、第 2 の抗原を特異的に認識する第 2 の抗体部分をさらに含む、請求項 15－17 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 19】

第 2 の抗原が、B 細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、好中球、又は T 細胞の表面上の抗原であり、

任意選択で、T 細胞の表面上の抗原が、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 3 ζ、C D 2 8、O X 4 0、G I T R、C D 1 3 7、C D 2 7、C D 4 0 L、及び H V E M からなる群から選択される、請求項 18 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 20】

構築物が、

(a) 抗 P S M A 抗体部分を含む細胞外ドメイン；

(b) 膜貫通ドメイン；及び

(c) 細胞内シグナル伝達ドメイン

を含む C A R である、請求項 1－12 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 21】

細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 3 ζ、T C R ζ、F c R γ、F c R β、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 5、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、又は C D 6 6 d に由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む、請求項 20 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 22】

細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 2 8、4－1 B B、I C O S、又は O X 4 0 に由来する共刺激シグナル伝達配列をさらに含む、請求項 21 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 23】

細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 3 ζ に由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列及び C D 2 8 に由来する共刺激シグナル伝達配列を含む、請求項 20－22 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 24】

i) 配列番号 29 若しくは配列番号 29 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列；又は

i i) i) 配列番号 30 若しくは配列番号 30 に対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列

を含む、請求項 20－23 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 25】

構築物が、

10

20

30

40

50

(a) 抗 P S M A 抗体部分を含む細胞外ドメイン；及び

(b) 第 1 の T C R 膜貫通ドメイン (T C R - T M) を含む第 1 の T C R ドメイン (T C R D) 及び第 2 の T C R - T M を含む第 2 の T C R D を含む T 細胞受容体モジュール (T C R M)、を含み、ここで、該 T C R M が少なくとも 1 つの T C R 会合シグナル伝達分子の動員を促進する、c a T C R である、請求項 1 - 9 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 2 6】

第 1 の T C R - T M 及び第 2 の T C R - T M が、 γ / δ T C R に由来し、

任意選択で、第 1 の T C R - T M が T C R γ 鎖に由来し、第 2 の T C R - T M が T C R δ 鎖に由来し、又は

任意選択で、第 1 の T C R - T M が T C R δ 鎖に由来し、第 2 の T C R - T M が T C R γ 鎖に由来する、請求項 2 5 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 2 7】

構築物が、

i) 配列番号 3 1 又は配列番号 3 1 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 3 2 又は配列番号 3 2 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

i i) 配列番号 3 4 又は配列番号 3 4 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 3 5 又は配列番号 3 5 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

i i i) 配列番号 1 6 5 又は配列番号 1 6 5 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 6 6 又は配列番号 1 6 6 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

i v) 配列番号 1 6 7 又は配列番号 1 6 7 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 6 8 又は配列番号 1 6 8 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

v) 配列番号 1 6 9 又は配列番号 1 6 9 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 7 0 又は配列番号 1 7 0 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

v i) 配列番号 1 7 1 又は配列番号 1 7 1 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 7 2 又は配列番号 1 7 2 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

v i i) 配列番号 7 3 又は配列番号 1 7 3 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 7 4 又は配列番号 1 7 4 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

v i i i) 配列番号 1 7 5 又は配列番号 1 7 5 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 7 6 又は配列番号 1 7 6 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；

i x) 配列番号 1 7 7 又は配列番号 1 7 7 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 7 8 又は配列番号 1 7 8 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖；又は

x) 配列番号 1 7 9 又は配列番号 1 7 9 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 1 のポリペプチド鎖及び配列番号 1 8 0 又は配列番号 1 8 0 に対して少なくとも 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第 2 のポリペプチド鎖

10

20

30

40

50

を含む、請求項 27 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 28】

T C R 会合シグナル伝達分子が、C D 3 δ ϵ 、C D 3 γ ϵ 、及び C D 3 ζ ζ からなる群から選択される、請求項 25－27 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 29】

c a T C R が、機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている、請求項 25－28 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 30】

構築物が、

i) P S M A と結合又は相互作用することができるリガンド結合モジュール；

i i) 膜貫通モジュール；及び

i i i) 共刺激シグナルをエフェクター細胞に提供することができる共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュール

を含み、

ここで、該リガンド結合モジュールと共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが同じ分子に由来せず、該 C S R が機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている、キメラシグナル伝達受容体 (C S R) である、請求項 1－9 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 31】

C S R が、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている、請求項 30 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 32】

リガンド結合モジュールが、請求項 1－24 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物を含む、請求項 30 又は 31 に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 33】

C S R の膜貫通モジュールと C S R の共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが同じ分子に由来し、

任意選択で、分子が、C D 28、4－1 B B (C D 137)、O X 40、C D 30、C D 27、C D 40、P D－1、I C O S、リンパ球機能関連抗原－1 (L F A－1)、C D 2、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、B 7－H 3、及び C D 83 と特異的に結合するリガンドからなる群から選択される、請求項 30 から 32 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 34】

C S R の膜貫通モジュールと C S R の共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが異なる分子に由来し、

任意選択で、C S R の膜貫通モジュールが、C D 28、C D 3 ϵ 、C D 3 ζ 、C D 45、C D 4、C D 5、C D 8、C D 9、C D 16、C D 22、C D 27、C D 30、C D 33、C D 37、C D 64、C D 80、C D 86、C D 134、C D 137、C D 154、4－1 B B、O X 40、又は T 細胞受容体の α 、 β 、 δ 、 γ 、若しくは ζ 鎖、配列番号 94－99 のいずれか 1 つを含む配列、又は配列番号 94－99 のいずれか 1 つに対して少なくとも 85% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、

任意選択で、共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが、T C R の共刺激受容体の細胞内ドメインに由来し、任意選択で、共刺激受容体が、4－1 B B、C D 27、C D 28、C D 30、O X 40、I C O S、C D 40、配列番号 100－103 及び 183 のいずれか 1 つ、又は配列番号 100－103 及び 183 のいずれか 1 つに対して少なくとも 85% の配列同一性を有する配列からなる群から選択される、請求項 30 から 33 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

【請求項 35】

配列番号 37－38、55－84、93、及び 184－186 のいずれか 1 つのアミノ酸配列、又は、配列番号 37－38、55－84、93、及び 184－186 のいずれか

10

20

30

40

50

1つに対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；

任意選択で、抗PSMA構築物がシグナルペプチドをさらに含み、

任意選択で、該シグナルペプチドが、METDTLLLVVLLLVVPGSTG 配列番号128の配列を含む、請求項31-34のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

【請求項36】

エフェクター分子が、検出可能な標識であるか、又は薬物、毒素、放射性同位元素、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療剤である、該エフェクター分子にコンジュゲートされた、請求項1-19のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

10

【請求項37】

請求項20-24のいずれか一項に記載の抗PSMA CAR又は請求項25-29のいずれか一項に記載の抗PSMA cαTCRをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞であって、

ここで、抗PSMA CAR又は抗PSMA cαTCRをコードする1つ又は複数の核酸がまた、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含むCSR又は標的抗原に結合する第1のscFvを含むタンデムscFvをコードし；あるいは

ここで、エフェクター細胞が、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含むCSR又は標的抗原に結合する第1のscFvを含むタンデムscFvをコードする1つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されており、

20

任意選択で、エフェクター細胞が、免疫細胞であり、

任意選択で、免疫細胞が、T細胞であり、

任意選択で、T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である、エフェクター細胞。

【請求項38】

請求項17-19のいずれか一項に記載の抗PSMAタンデムscFv又は請求項30-35のいずれか一項に記載の抗PSMA CSRをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞であって、

任意選択で、エフェクター細胞が、免疫細胞であり、

任意選択で、免疫細胞が、T細胞であり、

任意選択で、T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である、エフェクター細胞。

30

【請求項39】

請求項20-24のいずれか一項に記載の抗PSMA CAR又は請求項25-29のいずれか一項に記載の抗PSMA cαTCRをコードする1つ又は複数の核酸で細胞を遺伝子改変することを含む、エフェクター細胞を生成する方法であって、

任意選択で、抗PSMA CAR又は抗PSMA cαTCRをコードする1つ又は複数の核酸がまた、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含むCSR、又は標的抗原に結合する第1のscFvを含むタンデムscFvをコードし；あるいは

任意選択で、該方法が、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含むCSR又は標的抗原に結合する第1のscFvを含むタンデムscFvをコードする1つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することをさらに含み；

40

任意選択で、エフェクター細胞が、免疫細胞であり、

任意選択で、免疫細胞が、T細胞であり、

任意選択で、T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である、方法。

【請求項40】

請求項17-19のいずれか一項に記載の抗PSMAタンデムscFv又は請求項30-35のいずれか一項に記載の抗PSMA CSRをコードする1つ又は複数の核酸で細胞を遺伝子改変することを含む、エフェクター細胞を生成する方法であって；

50

任意選択で、エフェクター細胞が、免疫細胞であり、
 任意選択で、免疫細胞が、T細胞であり、
 任意選択で、T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である、方法。

【請求項41】

請求項1-35のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物のポリペプチド部分をコードする核酸。

【請求項42】

請求項41に記載の核酸を含むベクター。

【請求項43】

請求項41に記載の核酸、又は42に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項44】

抗PSMA構築物が発現される条件下で請求項43に記載の宿主細胞を培養すること、及び宿主細胞によって産生された抗PSMA構築物を回収することを含む、請求項1-19のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物を産生する方法。

【請求項45】

請求項1-19及び36のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物、請求項37又は38に記載のエフェクター細胞、請求項41に記載の核酸、及び／又は請求項42に記載のベクター及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。

【請求項46】

請求項1-19及び36のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物、請求項37又は38に記載のエフェクター細胞、請求項41に記載の核酸、請求項42に記載のベクター、及び／又は請求項43に記載の宿主細胞を含むキット。

【請求項47】

試料を請求項36に記載の抗PSMA構築物と接触させることと、エフェクター分子が検出可能な標識である、該標識の存在を検出することを含む、試料中のPSMAを検出する方法。

【請求項48】

PSMA関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法であって、

i) 請求項45に記載の薬学的組成物の有効量を個体に投与すること；又は

ii) 請求項37又は38に記載のエフェクター細胞を個体に投与すること
 を含み；

任意選択で、該方法が、個体に追加の治療を投与することをさらに含み；

任意選択で、PSMA関連疾患又は障害が、がんであり；

任意選択で、哺乳動物が、ヒトである、方法。

【請求項49】

PSMA関連疾患又は障害を有すると疑われる個体を診断する方法であって、

a) エフェクター分子が検出可能な標識である、請求項36に記載の抗PSMA構築物の有効量を個体に投与すること；及び

b) 個体における標識のレベルを決定することであって、ここで、閾値レベルを上回る標識のレベルが、個体がPSMA関連疾患又は障害を有することを示す、決定すること
 を含み；

任意選択で、PSMA関連疾患又は障害が、がんであり；

任意選択で、哺乳動物が、ヒトである、方法。

【請求項50】

PSMA関連疾患又は障害を有すると疑われる個体を診断する方法であって、

a) 個体に由来する細胞を含む試料を、請求項114に記載の抗PSMA構築物と接触させること；及び

b) 抗PSMA構築物と結合した試料中の細胞の数を決定することであって、ここで、閾値レベルを上回る、抗PSMA構築物と結合した細胞の数の値が、個体がPSMA関連

10

20

30

40

50

疾患又は障害を有することを示す、決定すること
を含み；

任意選択で、P S M A 関連疾患又は障害が、がんであり；

任意選択で、哺乳動物が、ヒトである、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2018年6月18日に出願された米国特許仮出願第62／686605号の優先権を主張するものであり、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0002】

A S C I I テキストファイルの配列表の提出

A S C I I テキストファイルでの以下の提出物の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：コンピュータ読取可能形式（C R F）の配列表（ファイル名：750042001540 S E Q L I S T . T X T、記録日：2019年6月14日、サイズ：487 K B）。

【0003】

発明の分野

本開示は、前立腺特異的膜抗原（P S M A）に特異的に結合するポリペプチド構築物、並びに疾患の治療及び診断を含むその使用に関する。

20

【背景技術】

【0004】

発明の背景

前立腺がんは、米国人男性で2番目に多いがんであり、がん関連の死亡の2番目に多い原因である。米国では、毎年27,000人以上の前立腺がんによる死亡がある（米国がん協会）。根治的前立腺切除術又は根治的放射線療法を受けている前立腺がん患者の35－61％が、最終的に再発する。これらの患者はアンドロゲン除去療法に一過性に反応し得るが、大多数はその後、治癒的全身療法が不足しているホルモン抵抗性疾患に進行するであろう（Perambakam S, et al., Clin. Dev. Immunol. 2010; Epub 2011 Jan 5）。

30

【0005】

前立腺特異的膜抗原（P S M A）は、全ての腫瘍段階で前立腺腫瘍細胞の表面に高度に発現する750アミノ酸のI I型膜貫通糖タンパク質であり、去勢抵抗性前立腺がん及び転移性前立腺がんにおいて上方制御されることが知られている（Afshar-Oromieh, A. et al., J. Nucl. Med. 2016, 57: 79S）。結腸がん、卵巣がん、乳がん、及び腎臓がんを含む他の固形腫瘍では、P S M A 発現の上昇が腫瘍新生血管系で観察されているが、正常血管系では観察されておらず、血管新生におけるP S M A の役割を示唆している。ほとんどのP S M A 発現は前立腺に限定されているように見えるが、低レベルの発現は脳、腎臓、唾液腺、及び小腸で見られる。

【0006】

40

小分子P S M A リガンドは、前立腺がんのリンパ節や骨への転移の検出における画像研究で使用されてきた。P S M A の発現パターンを考えると、それは治療標的としても探求されてきた。P S M A を標的とする現在の免疫療法アプローチには、ペプチド、細胞、ベクター又はD N A ベースのワクチン、モノクローナル抗体（m A b）の投与又はP S M A に対するD N A コード化m A b の発現（Muthumani, K. et al., Cancer Immunol. Immunother. 2017, 66: 1577）及びキメラ抗原受容体キメラ抗原受容体（C A R）修飾T細胞（Junghans, RP et al., Prostate. 2016, 76: 1257）が含まれる。正常組織におけるP S M A の発現が報告されているにもかかわらず、抗P S M A C A R T細胞を使用した第I相臨床試験では、抗P S M A 毒性は観察されなかった。

【0007】

50

したがって、がんの診断及び／又は治療のために P S M A を標的とする薬剤（ポリペプチド構築物など）に対する当技術分野における必要性が残されている。本出願は、これら及び他の必要性に対処する。

【0008】

本明細書で言及される全ての刊行物、特許、特許出願、及び公開された特許出願の開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【発明の概要】

【0009】

発明の概要

いくつかの実施態様では、配列番号 44 に記載のアミノ酸配列を含む細胞表面結合 P S M A の細胞外ドメインを特異的に認識する抗体部分を含む抗前立腺特異的膜抗原（P S M A）構築物が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A は、がん細胞の表面上に発現される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がん細胞は、前立腺がん細胞、腎細胞がん細胞、子宮がん細胞、又は肝臓がん細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がん細胞は前立腺がん細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、前立腺がん細胞は、ホルモン抵抗性前立腺がん細胞又は転移性前立腺がん細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がん細胞は腎がん細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、腎がん細胞は腎明細胞がん（C C R C C）細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A は、L N C a P、M D A P C a 2 b、V C a P、22Rv1、C a k i - 1；H C C 1482；及び H u H - 7 からなる群から選択される細胞の表面上に発現される。

【0010】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1-2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 1、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体、配列番号 3-4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 2、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体、及び配列番号 5-6 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 3、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体を含む重鎖可変ドメイン（V_H）；並びに i i）配列番号 7-8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 1、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体、アミノ酸配列 G N S 若しくは S S N を含む C D R - L 2、又は約 2 個のアミノ酸置換を含むその変異体、及び配列番号 9-10 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 3、又は最大約 5 個のアミノ酸置換を含むその変異体を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1-2 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 1、配列番号 3-4 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 2、及び配列番号 5-6 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む V_H；並びに i i）配列番号 7-8 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 1、G N S 又は S N N のアミノ酸配列を含む C D R - L 2、及び配列番号 9-10 のいずれか 1 つのアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む V_L を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1 のアミノ酸配列を含む C D R - H 1、配列番号 3 のアミノ酸配列を含む C D R - H 2、及び配列番号 5 のアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む V_H；並びに i i）配列番号 7 のアミノ酸配列を含む C D R - L 1、アミノ酸配列 G N S を含む C D R - L 2、及び配列番号 9 のアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 2 のアミノ酸配列を含む C D R - H 1、配列番号 4 のアミノ酸配列を含む C D R - H 2、及び配列番号 6 のアミノ酸配列を含む C D R - H 3 を含む V_H；並びに i i）配列番号 8 のアミノ酸配列を

含む C D R - L 1、アミノ酸配列 S N N を含む C D R - L 2、及び配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む C D R - L 3 を含む V_L を含む。

【 0 0 1 1 】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、配列番号 1 6 又は 1 7 に記載の重鎖可変ドメイン（V_H）の C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3、並びに配列番号 1 8 又は 1 9 に記載の軽鎖可変ドメイン（V_L）の C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、配列番号 1 6 に記載の V_H の C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3、並びに配列番号 1 8 に記載の V_L の C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、配列番号 1 7 に記載の V_H の C D R - H 1、C D R - H 2、及び C D R - H 3、並びに配列番号 1 9 に記載の V_L の C D R - L 1、C D R - L 2、及び C D R - L 3 を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1 6 又は 1 7 に対して少なくとも約 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H、及び i i）配列番号 1 8 又は 1 9 に対して少なくとも約 8 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1 6 又は 1 7 に対して少なくとも約 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H、及び i i）配列番号 1 8 又は 1 9 に対して少なくとも約 9 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1 6 又は 1 7 に対して少なくとも約 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H、及び i i）配列番号 1 8 又は 1 9 に対して少なくとも約 9 5 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む V_H 及び配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む V_L を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む V_H 及び配列番号 1 9 のアミノ酸配列を含む V_L を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗体部分は、i）配列番号 1、3、及び 5 のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン（V_H）、並びに配列番号 7、G N S、及び配列番号 9 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）；又は i i）配列番号 2、4、及び 6 のアミノ酸配列を含む V_H、並びに配列番号 8、S S N、及び配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む V_L を含む。

【 0 0 1 2 】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A を特異的に認識する抗体部分は、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A を特異的に認識する抗体部分は、完全長抗体、F a b、F a b'、F（a b'）₂、F v、又は単鎖 F v（s c F v）である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A を特異的に認識する抗体部分は、s c F v である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、s c F v は、配列番号 2 0 に記載のアミノ酸配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、s c F v は、配列番号 2 1 に記載のアミノ酸配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A を特異的に認識する抗体部分は、F a b 又は F a b' である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A を特異的に認識する抗体部分は、任意選択でリンカーを介して F c 断片に融合される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、F c 断片はヒト I g G F c 断片である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、ヒト I g G は

、I g G 1、I g G 2、I g G 3、又はI g G 4である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A抗体部分は、完全長抗体である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、完全長抗体は、配列番号39に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号40に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、完全長抗体は、配列番号41に記載のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号42に記載のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は単一特異性である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は多重特異性である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は二重特異性である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、タンデムs c F v、ダイアボディ（D b）、単鎖ダイアボディ（s c D b）、二重親和性リターゲティング（d u a l - a f f i n i t y r e t a r g e t i n g）（D A R T）抗体、F（a b'）₂、二重可変ドメイン（D V D）抗体、ノブイントゥホール（K i H）抗体、ドックアンドロック（D N L）抗体、化学的に架橋された抗体、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である。

【0013】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、ペプチドリンカーによって連結された2つのs c F vを含むタンデムs c F vである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、第2の抗原を特異的に認識する第2の抗体部分をさらに含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第2の抗原は、T細胞の表面上の抗原である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、T細胞は、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞からなる群から選択される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第2の抗原は、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 3 ζ、C D 2 8、O X 4 0、G I T R、C D 1 3 7、C D 2 7、C D 4 0 L、及びH V E Mからなる群から選択される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第2の抗原はC D 3 εである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、P S M Aを特異的に認識するN末端s c F v及びC D 3 εを特異的に認識するC末端s c F vを含むタンデムs c F vである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号25又は26に記載のアミノ酸配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号27又は28に記載のアミノ酸配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物の発現は、操作されたT細胞の活性化によって誘導される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、操作されたT細胞は、キメラ抗原受容体（C A R）を含むT細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A RはP S M A以外の抗原に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、操作されたT細胞は、キメラ抗体-T細胞受容体（T C R）構築物（c a T C R）を含むT細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C RはP S M A以外の抗原に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物の第2の抗体部分によって結合される第2の抗原は、B細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、又は好中球の表面上の抗原で

10

20

30

40

50

ある。

【0014】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）抗PSMA抗体部分を含む細胞外ドメイン；（b）膜貫通ドメイン；及び（c）細胞内シグナル伝達ドメインを含むCARである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 ζ 、TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、又はCD66dに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD28、4-1BB、ICOS、又はOX40に由来する共刺激シグナル伝達配列をさらに含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、CD3 ζ 細胞内シグナル伝達配列及びCD28細胞内シグナル伝達配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、配列番号29に記載のアミノ酸配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、配列番号30に記載のアミノ酸配列を含む。

10

【0015】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）抗PSMA抗体部分を含む細胞外ドメイン；及び（b）第1のTCR膜貫通ドメイン（TCR-TM）を含む第1のTCRDドメイン（TCRD）及び第2のTCR-TMを含む第2のTCRDを含むT細胞受容体モジュール（TCRM）を含み、ここで、該TCRMが少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達分子の動員を促進する、caTCRである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第1のTCR-TMは、第1の天然に存在するTCRの膜貫通ドメインの1つに由来し、第2のTCR-TMは、第1の天然に存在するTCRの他の膜貫通ドメインに由来する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、TCR-TMの少なくとも1つは、天然には存在しない。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、少なくとも1つの天然には存在しないTCR-TMを含むTCRMは、第1の天然に存在するT細胞受容体膜貫通ドメインを含むTCRMと比較して、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達分子の増強された動員を可能にする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第1及び第2のTCR-TMは、天然に存在する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第1の天然に存在するTCRは γ/δ TCRである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、配列番号31に記載のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖と、配列番号32に記載のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖とを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、配列番号34に記載のアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖と、配列番号35に記載のアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖とを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、第1の天然に存在するTCRは α/β TCRである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、TCR会合シグナル伝達分子は、CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 、及びCD3 $\zeta\zeta$ からなる群から選択される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、caTCRは機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、caTCRは、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。

20

30

40

【0016】

上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、i）PSMAと結合又は相互作用することができるリガンド結合モジュ

50

ール； i i) 膜貫通モジュール；及び i i i) 共刺激シグナルをエフェクター細胞に提供することができる共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールを含むキメラシグナル伝達受容体 (C S R) であり、ここで、リガンド結合モジュールと共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールは同じ分子に由来せず、 C S R は機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 C S R は、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、リガンド結合モジュールは、請求項 1-23 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物を含む。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 C S R の膜貫通モジュールは、 C D 28、 C D 3 ε、 C D 3 ζ、 C D 45、 C D 4、 C D 5、 C D 8、 C D 9、 C D 16、 C D 22、 C D 33、 C D 37、 C D 64、 C D 80、 C D 86、 C D 134、 C D 137、又は C D 154 に由来する膜貫通ドメインを含む。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールは、 T C R の共刺激受容体の細胞内ドメインに由来する。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、共刺激受容体は、 C D 28、 4-1 B B、 O X 40、 I C O S、 C D 27、及び C D 40 からなる群から選択される。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 C S R の発現は、操作された T 細胞の活性化の際に誘導可能である。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、操作された T 細胞は、 C A R を含む T 細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 C A R は P S M A に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 C A R は P S M A 以外の抗原に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、操作された T 細胞は、 c a T C R を含む T 細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 c a T C R は P S M A に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、 c a T C R は P S M A 以外の抗原に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、抗 P S M A 構築物は、配列番号 37 に記載のアミノ酸配列を含む。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、抗 P S M A 構築物は、配列番号 38 に記載のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 1 7 】

上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、抗 P S M A 構築物は、エフェクター分子にコンジュゲートされている。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、エフェクター分子は、薬物、毒素、放射性同位元素、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療剤である。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、治療剤は、薬物又は毒素である。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、エフェクター分子は、検出可能な標識である。

【 0 0 1 8 】

本発明の別の態様では、上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) 抗 P S M A C A R 又は上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) 抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含む C S R をコードする。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含む C S R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、標的抗原は P S M A である。上記の実施態様のいずれかに従った (又は適用される) いくつかの実施態様では、標的抗原は、 P S M A 以外の抗

原である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、標的抗原に結合する第 1 の s c F v を含むタンデム s c F v をコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は、標的抗原に結合する第 1 の s c F v を含むタンデム s c F v をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、標的抗原は P S M A である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、標的は P S M A 以外の抗原である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗 P S M A タンデム s c F v 又は上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗 P S M A C S R をコードする 1 つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗 P S M A タンデム s c F v 又は抗 P S M A C S R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、C A R をコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は、C A R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A R は P S M A に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A R は P S M A 以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗 P S M A タンデム s c F v 又は抗 P S M A C S R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、c a T C R をコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は、c a T C R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C R は P S M A に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C R は P S M A 以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は免疫細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、免疫細胞は T 細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、T 細胞は、細胞傷害性 T 細胞、ヘルパー T 細胞、又はナチュラルキラー T 細胞である。

【0019】

本発明の別の態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗 P S M A C A R、又は上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸で細胞を遺伝子改変することを含む、エフェクター細胞を生成する方法が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含む C S R をコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含む C S R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、標的抗原は P S M A である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、標的抗原は P S M A 以外の抗原である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、標的抗原に結合する第 1 の s c F v を含むタンデム s c F v をコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、標的抗原に結合する第 1 の s c F v を含むタンデム s c F v をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、標的抗原は

P S M Aである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、標的はP S M A以外の抗原である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M Aタンデム s c F v又は上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A C S Rをコードする1つ又は複数の核酸で細胞を遺伝子改変することを含む、エフェクター細胞を生成する方法が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M Aタンデム s c F v又は抗P S M A C S Rをコードする1つ又は複数の核酸はまた、C A Rをコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、C A Rをコードする1つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A RはP S M A以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A C A R又は抗P S M A c a T C Rをコードする1つ又は複数の核酸はまた、c a T C Rをコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、c a T C Rをコードする1つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C RはP S M A以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は免疫細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、免疫細胞はT細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、T細胞は、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である。

10

20

【0020】

本発明の別の態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A構築物のポリペプチド部分をコードする核酸が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）核酸を含むベクターも提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）核酸又はベクターを含む宿主細胞も提供される。

30

【0021】

抗P S M A構築物が発現される条件下で上記の実施態様のいずれかに従って（又は適用されるように）宿主細胞を培養すること、及び宿主細胞によって産生された抗P S M A構築物を回収することを含む、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A構築物を産生する方法も提供される。

【0022】

本発明の別の態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A構築物、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）エフェクター細胞、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）核酸、又は、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）ベクター、及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物が提供される。

40

【0023】

本発明の別の態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A構築物、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）エフェクター細胞、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）核酸、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）ベクター及び／又は上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）宿主細胞を含むキットが提供される。

【0024】

本発明の別の態様は、検出可能な標識にコンジュゲートされた上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A構築物と試料を接触させること、及び標識の存

50

在を検出することを含む、試料中のP S M Aを検出する方法を提供する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M Aを発現する細胞を含む試料が提供される。

【0025】

本発明の別の態様は、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）薬学的組成物の有効量を個体に投与することを含む、P S M A関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法を提供する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A C A R、又は上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A c a T C Rをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞を個体に投与することを含む、P S M A関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、投与前にエフェクター細胞を1つ又は複数の核酸で遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A C A R又は抗P S M A c a T C Rをコードする1つ又は複数の核酸はまた、C S R又はタンデムs c F vをコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、C S R又はタンデムs c F vをコードする1つ又は複数の追加の核酸でエフェクター細胞をさらに遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、タンデムs c F vはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、タンデムs c F vはP S M A以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C S RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C S RはP S M A以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M Aタンデムs c F v、又は上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗P S M A C S Rをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞を個体に投与することを含む、P S M A関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法が提供される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、投与前にエフェクター細胞を1つ又は複数の核酸で遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、抗P S M A C S R又は抗P S M Aタンデムs c F vをコードする1つ又は複数の核酸はまた、C A R又はc a T C Rをコードする。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、C A R又はc a T C Rをコードする1つ又は複数の追加の核酸でエフェクター細胞をさらに遺伝子改変することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、C A RはP S M A以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C RはP S M Aに特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、c a T C RはP S M A以外の抗原に特異的に結合する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は免疫細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、免疫細胞はT細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、T細胞は、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、方法は、エフェクター細胞を遺伝子改変して投与する前に、個体からエフェクター細胞を得ることをさらに含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞が得られる個体は、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体である。上記

10

20

30

40

50

の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、エフェクター細胞が得られる個体は、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体ではない。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、遺伝子改変されたエフェクター細胞は、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体に関して同種異系である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、遺伝子改変されたエフェクター細胞は、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体に関して同系である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、遺伝子改変されたエフェクター細胞は、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体に関して異種である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A 関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法は、個体に追加の治療を投与することを含む。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A 関連疾患又は障害はがんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がんは、前立腺がん、腎がん細胞、子宮がん及び肝臓がんからなる群から選択される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がんは前立腺がんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、前立腺がんは、ホルモン抵抗性前立腺がん又は転移性前立腺がんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がんは腎がんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、腎がんは腎明細胞がん（C C R C C）である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A 関連疾患又は障害を有する個体は哺乳動物である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、哺乳動物はヒトである。

10

20

【0026】

本発明の別の態様は、P S M A 関連疾患又は障害を有すると疑われる個体を診断する方法であって、a) 検出可能な標識にコンジュゲートされた上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗 P S M A 構築物の有効量を個体に投与すること；及びb) 個体における標識のレベルを決定することであって、ここで、閾値レベルを上回る標識のレベルが、個体が P S M A 関連疾患又は障害を有することを示す、決定することを含む方法を提供する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A 関連疾患又は障害を有すると疑われる個体を診断する方法であって、a) 検出可能な標識にコンジュゲートされた上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）抗 P S M A 構築物と、個体に由来する試料とを接触させること；及びb) 試料中の抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数を決定することを含み、ここで、閾値レベルを超える抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数の値が、個体が P S M A 関連疾患又は障害を有することを示す、方法を提供する。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A 関連疾患又は障害はがんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がんは、前立腺がん、腎がん細胞、子宮がん及び肝臓がんからなる群から選択される。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がんは前立腺がんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、前立腺がんは、ホルモン抵抗性前立腺がん又は転移性前立腺がんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、がんは腎がんである。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、腎がんは腎明細胞がん（C C R C C）である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、P S M A の発現、異常な発現、及び／又は異常な活性に関連する疾患又は障害を有すると疑われる個体は哺乳動物である。上記の実施態様のいずれかに従った（又は適用される）いくつかの実施態様では、哺乳動物はヒトである。

30

40

【図面の簡単な説明】

【0027】

50

【図 1-1】図 1 は、P S M A 陽性及び P S M A 陰性細胞へのファージクローン A 及び B の結合を評価するために実施されたフローサイトメトリー実験の結果を示す。

【図 1-2】図 1 は、P S M A 陽性及び P S M A 陰性細胞へのファージクローン A 及び B の結合を評価するために実施されたフローサイトメトリー実験の結果を示す。

【図 2】図 2 は、クローン A 又はクローン B に由来する s c F v 部分を含む C A R を発現する T 細胞による標的細胞の特異的死滅を評価するために実施された実験の結果を示す。

【図 3】図 3 は、クローン A 又はクローン B に由来する s c F v 部分を含む C A R を発現する T 細胞による特異的 I F N ガンマ放出を評価するために実施された実験の結果を示す。

【図 4】図 4 は、例示的な c a T C R の概略図を提供する。F a b 断片は、クローン A 又はクローン B に由来する。

【図 5】図 5 は、クローン A 及びクローン B が、抗原に応答して T 細胞増殖を刺激するために複数の受容体構成（例えば、C A R 又は c a T C R + C S R）において使用できることを確認するフローサイトメトリー実験の結果を示す。

【図 6】図 6 は、異なる抗 P S M A 構築物の構成及び構築物の組み合わせにおいてクローン A 及び／又はクローン B を発現する T 細胞による 3 つの P S M A⁺ 標的細胞株の特異的死滅を評価するために実施された実験の結果を示す。

【図 7】図 7 は、異なる抗 P S M A 構築物の構成及び構築物の組み合わせにおいてクローン A 及び／又はクローン B を発現する T 細胞による 3 つの P S M A⁺ 標的細胞株の特異的死滅を評価するために実施された追加実験の結果を示す。

【図 8】図 8 は、異なる抗 P S M A 構築物の構成及び構築物の組み合わせにおいてクローン A 及び／又はクローン B を発現する T 細胞による 2 つの P S M A⁺ 標的細胞株の特異的死滅を評価するために実施された実験の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0028】

発明の詳細な説明

本出願は、がん細胞などの細胞の表面上に発現される前立腺特異的膜抗原、又は「P S M A」（例えば、ヒト P S M A などの P S M A）に特異的に結合する抗体部分（本明細書では「抗 P S M A 抗体部分」と呼ばれる）を含む単離された構築物（本明細書では「抗 P S M A 構築物」と呼ばれる）を提供する。抗 P S M A 構築物は、P S M A を発現する（又は過剰発現する）疾患細胞など、P S M A を発現する細胞（例えば、それらの表面に P S M A を発現する細胞）の特異的標的化を可能にする。T 細胞によって発現されるキメラ抗原受容体（C A R）又はキメラ抗体-T 細胞受容体構築物（c a T C R）に存在する場合、抗 P S M A 抗体部分は、P S M A を発現する標的細胞（例えば、がん細胞）を死滅させるようにヒト T 細胞を特異的にリダイレクトする。さらに、検出可能な標識に融合された場合、抗 P S M A 抗体部分は、P S M A 発現細胞の数及び局在の変化を視覚化するために使用することができる。そのような情報は、次いで、P S M A 関連疾患又は障害を診断及び／又は予知するために使用することができる。

【0029】

本出願は、P S M A（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現される P S M A）に特異的に結合する抗体部分を含む構築物（単離された構築物など）を提供する。例示的な構築物には、限定されないが、例えば、完全長抗 P S M A 抗体、多重特異性抗 P S M A 構築物（二重特異性抗 P S M A 抗体など）、抗 P S M A キメラ抗原受容体（「C A R」）、抗 P S M A キメラ抗体-T 細胞受容体構築物（c a T C R）、抗 P S M A キメラシグナル伝達受容体（C S R）、抗 P S M A イムノコンジュゲート、並びに以下でさらに詳細に説明されるように、他の構築物が挙げられる。本明細書に記載の構築物のそれぞれは、天然形態のヒト P S M A（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現される）に対して高い特異性を示す。

【0030】

本出願はまた、本明細書に記載の抗 P S M A 構築物（又はそのポリペプチド部分）をコ

10

20

30

40

50

ードする核酸を提供する。

【0031】

本明細書に記載の抗PSMA構築物、又は本明細書に記載の抗PSMA構築物を発現する又はそれと会合したエフェクター細胞（抗PSMA CAR、抗PSMA c a T C R、又は抗PSMAキメラシグナル伝達受容体（CSR）を発現するT細胞など）を含む組成物（薬学的組成物又は製剤など）も本明細書に提供される。

【0032】

本出願はまた、治療のために、診断目的のために、予後の目的のために、及びPSMA関連疾患及び障害の治療、診断、及び／又は予後のために有用なキット及び製造品の中に含めるための、抗PSMA構築物（又は抗PSMA構築物を発現する又はそれと会合したエフェクター細胞）を作製及び使用する方法を提供する。

10

【0033】

定義

開示された実施形態を詳細に説明する前に、本開示は、もちろん変化し得る特定の組成物又は生物学的システムに限定されないことを理解されたい。本明細書で使用される用語は、特定の実施態様を説明することのみを目的としており、限定することを意図するものではないことも理解されたい。

【0034】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、単数形「a」、「an」及び「the」は、内容が明確に別段の指示をしない限り、複数の指示対象を含む。したがって、例えば、「分子（a molecule）」への言及は、任意選択で、2つ以上のかかる分子の組み合わせなどを含む。

20

【0035】

本明細書で使用される場合、「前立腺特異的膜抗原」又は「PSMA」は、特に明記しない限り、霊長類（例えば、ヒト、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル又はアカゲザル））及びげっ歯類（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物源由来の任意の天然PSMAを指す。用語は、「完全長」の、未処理のPSMAと、細胞内でのプロセッシングから生じた任意の形態のPSMAとを包含する。この用語はまた、PSMAの天然に存在する変異体、例えば、スプライス変異体、対立遺伝子変異体、及びアイソフォームを包含する。PSMAは、もともとマウスモノクローナル抗体（mAb）7E11-C5.3によって特徴づけられたII型膜タンパク質であり、前立腺組織（がん腫を含む）の全ての形態で発現している。PSMAタンパク質は、19アミノ酸の内部部分、24アミノ酸の膜貫通部分、及び707アミノ酸の外部部分（例えば、細胞外ドメイン）の3つの部分構造を有する。ヒトPSMAの例示的なアミノ酸配列は、MWNLLEHTDSAVATARRPRWLCAGALVLAGGFFLLGFLFGWFIKSSNEATNITPKHNMKAFLDELKAENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQN FQLAKQIQSQWKEFGLD SVELAHYDVLLSYPNKTHPNYIS I INEDGNEIFNTSLFEP PPPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGDLVYVNYARTEDFFKLERDMKINC SGKIV IARYGKVFRGNKVKNALAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNI LNLNGAGDPLTPGYPAN EYAYRRGIAEA VGLPSIPVHP IGY YDAQKLLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPY NVGP GF TGNFSTQKV KMH I HSTNEVTRIYNVIGTLRGAV EPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAVVHEIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRL LQERGVAYINADSS IEGNYTLRVDC TPLMYS LVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRISKLGSGNDFEVFFQRLG IASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETTYELVEKFYDPMFKYHLTV AQVRGGMVFELANS I VLPFDCRDYAVVLRKYADKIYS I SMKHPQEMKTYSVSFD S L FSAVKNFTE I ASKF

30

40

50

S E R L Q D F D K S N P I V L R M M N D Q L M F L E R A F I D P L G L P D R P F
Y R H V I Y A P S S H N K Y A G E S F P G I Y D A L F D I E S K V D P S K A W G
E V K R Q I Y V A A F T V Q A A A E T L S E V A (配列番号43)である。

【0036】

ヒトPSMAの細胞外ドメインの例示的なアミノ酸配列は、K S S N E A T N I T P K
H N M K A F L D E L K A E N I K K F L Y N F T Q I P H L A G T E Q N F Q L A K Q
I Q S Q W K E F G L D S V E L A H Y D V L L S Y P N K T H P N Y I S I I N E D G
N E I F N T S L F E P P P P G Y E N V S D I V P P F S A F S P Q G M P E G D L V
Y V N Y A R T E D F F K L E R D M K I N C S G K I V I A R Y G K V F R G N K V K
N A Q L A G A K G V I L Y S D P A D Y F A P G V K S Y P D G W N L P G G G V Q R
G N I L N L N G A G D P L T P G Y P A N E Y A Y R R G I A E A V G L P S I P V H
P I G Y Y D A Q K L L E K M G G S A P P D S S W R G S L K V P Y N V G P G F T G
N F S T Q K V K M H I H S T N E V T R I Y N V I G T L R G A V E P D R Y V I L G
G H R D S W V F G G I D P Q S G A A V V H E I V R S F G T L K K E G W R P R R T
I L F A S W D A E E F G L L G S T E W A E E N S R L L Q E R G V A Y I N A D S S
I E G N Y T L R V D C T P L M Y S L V H N L T K E L K S P D E G F E G K S L Y E
S W T K K S P S P E F S G M P R I S K L G S G N D F E V F F Q R L G I A S G R A
R Y T K N W E T N K F S G Y P L Y H S V Y E T Y E L V E K F Y D P M F K Y H L T
V A Q V R G G M V F E L A N S I V L P F D C R D Y A V V L R K Y A D K I Y S I S
M K H P Q E M K T Y S V S F D S L F S A V K N F T E I A S K F S E R L Q D F D K
S N P I V L R M M N D Q L M F L E R A F I D P L G L P D R P F Y R H V I Y A P S
S H N K Y A G E S F P G I Y D A L F D I E S K V D P S K A W G E V K R Q I Y V A
A F T V Q A A A E T L S E V A (配列番号44)である。

【0037】

本明細書で使用される場合、「治療(treatment)」又は「治療すること(treating)」は、臨床結果を含む有益な又は所望の結果を得るための手法である。本出願の目的のために、有益な又は所望の臨床結果には、以下のうちの1つ又は複数が含まれるが、これらに限定されない：疾患に起因する1つ若しくは複数の症状を緩和すること、疾患の程度を減弱すること、疾患を安定化すること(例えば、疾患の悪化を防止する若しくは遅延させること)、疾患の広がり(例えば、転移)を防止する若しくは遅延させること、疾患の再発を防止する若しくは遅延させること、疾患の進行を遅らせる若しくは減速させること、疾患状態を改善すること、疾患の寛解(部分若しくは完全)を提供すること、疾患の治療に必要な1つ若しくは複数の他の薬物の用量を減少させること、疾患の進行を遅延させること、生活の質を向上させる若しくは改善すること、体重増加を増加させること、及び/又は生存期間を延長させること。「治療」には、がんの病理学的帰結(例えば、腫瘍体積など)の低減も含まれる。本明細書で提供される方法は、治療のこれらの態様のいずれか1つ又は複数を企図している。

【0038】

用語「再発(recurrence)」、「再発する(relapse)」又は「再発した(relapsed)」は、疾患の消失の臨床評価後のがん又は疾患の再発を指す。遠隔転移又は局所再発の診断は、再発と見なすことができる。

【0039】

用語「抵抗性(refractory)」又は「抵抗性(resistant)」は、治療に応答しなかったがん又は疾患を指す。

【0040】

T細胞に関して本明細書で使用する「活性化」は、検出可能な細胞増殖を誘導するために十分に刺激されたT細胞の状態を指す。活性化はまた、誘導されたサイトカイン産生、及び検出可能なエフェクター機能とも関連し得る。

【0041】

用語「抗体部分」は、完全長抗体及びその抗原結合断片を含む。完全長抗体は、2つの

重鎖及び2つの軽鎖を含む。軽鎖と重鎖の可変領域が抗原結合に関与している。各鎖の可変領域は、一般に、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる3つの高度に可変性のループを含む（CDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む軽鎖（LC）CDR、CDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3を含む重鎖（HC）CDR）。本明細書に開示される抗体及び抗原結合断片のCDR境界は、Kabata、Chothia、又はAl-Lazikaniの慣例によって定義又は同定され得る（Al-Lazikani 1997; Chothia 1985; Chothia 1987; Chothia 1989; Kabat 1987; Kabat 1991）。重鎖又は軽鎖の3つのCDRは、CDRよりも高度に保存されており、超可変ループをサポートするための足場を形成するフレームワーク領域（FR）として知られる隣接する伸長の間に挿入されている。重鎖と軽鎖の定常領域は抗原結合に関与していないが、様々なエフェクター機能を示す。抗体は、重鎖の定常領域のアミノ酸配列に基づいてクラスに割り当てられる。抗体の5つの主要なクラス又はアイソタイプは、IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgMであり、それぞれα、δ、ε、γ、及びμ重鎖の存在を特徴としている。主要な抗体クラスのいくつかは、IgG1（γ1重鎖）、IgG2（γ2重鎖）、IgG3（γ3重鎖）、IgG4（γ4重鎖）、IgA1（α1重鎖）、又はIgA2（α2重鎖）などのサブクラスに分類される

10

【0042】

本明細書で使用される用語「抗原結合断片」は、例えば、ダイアボディ、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片（dsFv）、（dsFv）₂、二重特異性dsFv（dsFv-dsFv'）、ジスルフィド安定化ダイアボディ（dsダイアボディ）、単鎖抗体分子（scFv）、scFv二量体（二価ダイアボディ）、1つ又は複数のCDRを含む抗体の一部から形成される多重特異性抗体、ラクダ化単ドメイン抗体、ナノボディ、ドメイン抗体、二価ドメイン抗体、又は抗原に結合するが完全な抗体構造を含まない任意の他の抗体断片を含むがこれらに限定されない抗体断片を指す。抗原結合断片は、親抗体又は親抗体断片（例えば、親scFv）が結合するのと同じ抗原に結合することができる。いくつかの実施態様では、抗原結合断片は、1つ又は複数の異なるヒト抗体からのフレームワーク領域にグラフトされた特定のヒト抗体からの1つ又は複数のCDRを含み得る。

20

【0043】

本明細書で使用される用語「エピトープ」は、抗体又は抗体部分が結合する抗原上の原子又はアミノ酸の特定の群を指す。2つの抗体又は抗体部分は、それらが抗原に対して競合的結合を示す場合、抗原内の同じエピトープ（又は重複するエピトープ）に結合し得る。

30

【0044】

本明細書で使用される場合、第1の抗体部分が第2の抗体部分のPSMAへの結合を、等モル濃度の第1の抗体部分の存在下で、少なくとも約50%（少なくとも約55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、又は99%のいずれかなど）阻害する場合、第1の抗体部分は、第2の抗体部分とPSMAへの結合について「競合」し、逆もまた同様である。それらの交差競合に基づいて抗体を「ビニング」するためのハイスループットプロセスは、PCT公開番号国際公開第03/48731号に記載されている。

40

【0045】

本明細書で使用する場合、「特異的に結合する」又は「～に特異的である」という用語は、生体分子を含む不均一な分子集団の存在下で標的の存在を判定する、測定可能かつ再現可能な相互作用（標的と抗体又は抗体部分との間の結合など）を指す。例えば、標的（エピトープであり得る）に特異的に結合する抗体又は抗体部分は、他の標的に結合するよりも、より高い親和性、結合活性、より容易に、及び／又はより長い持続時間でその標的に結合する抗体又は抗体部分である。いくつかの実施態様では、抗原に特異的に結合する抗体又は抗体部分は、他の標的に対する結合親和性の少なくとも約10倍である結合親和性で、該抗原の1つ又は複数の抗原決定基（例えば、PSMAの細胞外ドメイン上のエピ

50

トープ)と反応する。

【0046】

本明細書で使用される「単離された」抗P S M A構築物は、以下の抗P S M A構築物を指す。(1)天然に見出されるタンパク質と会合していない、(2)同じ供給源からの他のタンパク質を含まない、(3)異なる種からの細胞によって発現される、又は(4)天然には存在しない。

【0047】

本明細書で使用される用語「単離された核酸」は、ゲノム、c D N A、又は合成起源の核酸、又はそれらのいくつかの組み合わせを意味することを意図しており、その起源によって、「単離された核酸」は、(1)「単離された核酸」が天然に見出されるポリヌクレオチドの全て又は一部と会合していない、(2)天然では連結されていないポリヌクレオチドに作動可能に連結されている、あるいは(3)より大きな配列の一部として天然には存在しない。

【0048】

本明細書で使用される場合、用語「C D R」又は「相補性決定領域」は、重鎖及び軽鎖ポリペプチドの両方の可変領域内に見出される非連続抗原結合部位を意味することを意図している。これらの特定の領域は、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991); Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); 及びMacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)に記載されており、その定義には、互いに比較した場合のアミノ酸残基の重複又はサブセットが含まれる。それにもかかわらず、抗体若しくはグラフトされた抗体又はその変異体のC D Rを指すいずれかの定義の適用は、本明細書で定義及び使用される用語の範囲内にあることが意図されている。上記引用文献の各々により定義されるC D Rを包含するアミノ酸残基を、比較として以下の表1に明記する。

【0049】

表1:CDRの定義

	Kabat ¹	Chothia ²	MacCallum ³	IMGT ⁴	AHo ⁵
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35	27-38	25-40
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58	56-65	58-77
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101	105-117	109-137
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36	27-38	25-40
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55	56-65	58-77
V _L CDR3	89-97	91-96	89-96	105-117	109-137

¹ 残基の番号付けは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, “Sequences of proteins of immunological interest” (1991)の命名法に従う。

² 残基の番号付けは、Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Al-Lazikani B. et al., J. Mol. Biol., 273: 927-948 (1997)の命名法に従う。

³ 残基の番号付けは、MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996); Abhinandan and Martin, Mol. Immunol., 45: 3832-3839 (2008)の命名法に従う。

⁴ 残基の番号付けは、Lefranc M.P. et al., Dev. Comp. Immunol., 27: 55-77 (2003); 及びHonegger and Pluckthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)の命名法に従う。

⁵ 残基の番号付けは、Honegger and Pluckthun, J. Mol. Biol., 309:657-670 (2001)の命名法に従う。

【0050】

用語「キメラ抗体」は、目的の生物学的活性を示す限り（例えば、がん細胞などの細胞の表面上で、ヒトPSMAなどのPSMAへの結合）、重鎖及び／又は軽鎖の一部は、特定の種に由来する、又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同であるが、鎖の残りの部分は、別の種に由来する、又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同である抗体、並びにそのような抗体の断片を指す（米国特許第4816567号；及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)を参照）。

【0051】

抗体又は抗体部分に関する用語「半合成」は、抗体又は抗体部分が、1つ又は複数の天然に存在する配列及び1つ又は複数の天然には存在しない（すなわち、合成の）配列又はアミノ酸を有することを意味する。

【0052】

「Fv」は、完全な抗原認識及び抗原結合部位を含む最小の抗体断片である。この断片は、1つの重鎖及び1つの軽鎖可変領域ドメインが、堅固な非共有結合をなした二量体からなる。これらの2つのドメインの折り畳みから、抗原結合のアミノ酸残基に寄与し、抗体に抗原結合特異性を付与する6つの超可変ループ（重鎖と軽鎖からそれぞれ3つのループ）が生じる。しかしながら、単一の可変ドメイン（又は抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分）でさえ、結合部位全体よりも親和性は低いものの、抗原を認識して結合する能力を有している。

【0053】

「単鎖Fv」は、「sFv」又は「scFv」とも略され、単一のポリペプチド鎖に連結されたV_H及びV_L抗体ドメインを含む抗体断片である。いくつかの実施態様では、scFvポリペプチドは、scFvが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする、V_HドメインとV_Lドメインとの間のポリペプチドリンカーをさらに含む。scFvの概説については、例えば、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)のPluckhuenを参照のこと。

【0054】

用語「ダイアボディ」は、Vドメインの鎖内対形成でなく鎖間対形成が達成され、その結果、二価の断片、すなわち、2つの抗原結合部位を有する断片を生じるように、V_HドメインとV_Lドメインの間に短いリンカー（約5から約10残基など）を典型的に有するscFv断片（前のパラグラフを参照のこと）を構築することによって調製される小さな抗体断片を指す。二重特異性ダイアボディは、2つの抗体のV_HドメインとV_Lドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在する2つの「クロスオーバー」scFv断片のヘテロ二量体である。ダイアボディは、例えば、欧州特許第404097号；国際公開第93/01161号；及びEP404097；国際公開第93/11161号；及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)にさらに詳細に記載されている。

【0055】

非ヒト（例えば、げっ歯類）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小限の配列を含むキメラ抗体である。ほとんどの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（CDR）からの残基が、所望の抗体特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラット、ウサギ、又は非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のCDRからの残基で置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。いくつかの例においては、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（FR）の残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体又はドナー抗体には見られない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体の性能（例えば、標的抗原に対する親和性）をさらに洗練させるために行われる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むことができ、ここで、超可変ル

ープの全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、F Rの全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。また、ヒト化抗体は、場合によっては、免疫グロブリン、典型的にはヒト免疫グロブリンの、定常領域（F c）の少なくとも一部を含むであろう。さらなる詳細については、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); 及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)を参照のこと。

【0056】

本明細書で同定されるポリペプチド及び抗体配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」又は「相同性」は、配列同一性の一部として任意の保存的置換を考慮して配列をアラインメントした後の、比較されるポリペプチド中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアラインメントは、当技術分野における技術の範囲内にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMegalign (DNASTAR) 又はMUSCLEソフトウェアのような公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用して達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書の目的のために、アミノ酸配列同一性%の値は、配列比較コンピュータプログラムMUSCLEを使用して生成される(Edgar, R.C., Nucleic Acids Research 32(5):1792-1797, 2004; Edgar, R.C., BMC Bioinformatics 5(1):113, 2004)。

【0057】

用語「F c受容体」又は「F c R」は、抗体のF c領域に結合する受容体を説明するために使用される。いくつかの実施態様では、F c Rは、Ig G抗体（ γ 受容体）に結合するものであり、対立遺伝子変異体及び選択的スプライシング形態のこれらの受容体を含む、F c γ R I、F c γ R I I、及びF c γ R I I Iサブクラスを受容体を含む。F c γ R I I受容体は、F c γ R I I A（「活性化型受容体」）及びF c γ R I I B（「抑制性受容体」）を含み、これらは、主にその細胞質ドメインが異なる、類似のアミノ酸配列を有する。活性化型受容体F c γ R I I Aは、その細胞質ドメイン中に免疫受容活性化チロシンモチーフ（ITAM）を含む。抑制性受容体F c γ R I I Bは、その細胞質ドメイン中に免疫受容抑制性チロシンモチーフ（ITIM）を含む(Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)の概説のM. を参照のこと)。この用語には、F c γ R I I I Aアロタイプ：F c γ R I I I A-Ph e 1 5 8、F c γ R I I I A-V a l 1 5 8、F c γ R I I A-R 1 3 1及び／又F c γ R I I A-H 1 3 1などのアロタイプが含まれる。F c Rは、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al., Immun methods 4:25-34 (1994); 及びde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)に総説されている。将来的に同定されることになるものを含め、他のF c Rは、本明細書においては用語「F c R」に包含される。この用語には、母体のIg Gの胎児への移行に関与する新生児受容体F c R nも含まれる(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994))。

【0058】

用語「F c R n」は、新生児のF c受容体（F c R n）を指す。F c R nは、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）と構造的に類似しており、 β 2-ミクログロブリンに非共有結合した α 鎖で構成される。新生児F c受容体F c R nの複数の機能については、Ghetie and Ward (2000) Annu. Rev. Immunol. 18, 739-766において総説される。F c R nは、母親から子供への免疫グロブリンIg Gの受動的送達、及び血清Ig Gレベルの調節において役割を果たしている。F c R nは、ピノサイトーシスされたIg Gを細胞内及び細胞間でインタクトな形態で結合及び輸送し、デフォルトの分解経路からそれらを救出するサルベージ受容体として機能することができる。

【0059】

ヒトIg G F c領域の「CH1ドメイン」（「H1」ドメインの「C1」とも呼ばれる

）は、通常、およそアミノ酸 118 からおよそアミノ酸 215（E U 番号付けシステム）に及ぶ。

【0060】

「ヒンジ領域」は、一般に、ヒト IgG1 の Glu 216 から Pro 230 までの伸長として定義される (Burton, Molec. Immunol. 22:161-206 (1985))。他の IgG アイソタイプのヒンジ領域は、重鎖間 S-S 結合を形成する最初と最後のシステイン残基を同じ位置に配置することにより、IgG1 配列と整列させることができる。

【0061】

ヒト IgG Fc 領域の「CH2 ドメイン」（「H2」ドメインの「C2」とも呼ばれる）は、通常、およそアミノ酸 231 からおよそアミノ酸 340 に及ぶ。CH2 ドメインは、別のドメインと密接に対合していないという点でユニークである。むしろ、2つの N 結合型分枝状糖鎖が、インタクトな天然 IgG 分子の 2つの CH2 ドメイン間に挿入される。糖がドメインドメイン対形成の代替を提供し、CH2 ドメインの安定化に役立つ可能性がある」と推測されている。Burton, Molec Immunol. 22:161-206 (1985)。

10

【0062】

「CH3 ドメイン」（「C2」又は「H3」ドメインとも呼ばれる）は、Fc 領域の CH2 ドメインに対して C 末端の残基の伸長（すなわち、約アミノ酸残基 341 から抗体配列の C 末端まで、典型的には IgG のアミノ酸残基 446 又は 447 まで）を含む。

【0063】

「機能的 Fc 断片」は、天然配列 Fc 領域の「エフェクター機能」を有している。例示的な「エフェクター機能」には、C1q 結合；補体依存性細胞傷害 (CDC)；Fc 受容体結合；抗体依存性細胞介在性細胞傷害 (ADCC)；食作用；細胞表面受容体（例えば、B 細胞受容体；BCR）の下方制御などが含まれる。そのようなエフェクター機能は、一般に、Fc 領域が結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせられることを必要とし、当技術分野で知られている様々なアッセイを使用して評価することができる。

20

【0064】

「改変された」FcR 結合親和性又は ADCC 活性を有する変異体 IgG Fc を有する抗体は、親ポリペプチド又は天然配列 Fc 領域を含むポリペプチドと比較して、FcR 結合活性（例えば、FcγR 又は FcRn）及び／又は ADCC 活性が増強又は減少したものである。FcR への「結合の増加を示す」変異体 Fc は、親ポリペプチド又は天然配列 IgG Fc よりも高い親和性（例えば、より低い見かけの K_d 又は IC_{50} 値）で少なくとも 1つの FcR に結合する。いくつかの実施態様によれば、親ポリペプチドと比較した結合の改善は、約 3 倍、例えば、約 5 倍、10 倍、25 倍、50 倍、60 倍、100 倍、150 倍、200 倍、若しくは最大 500 倍のいずれかであり、又は約 25% から 1000% の結合の改善である。FcR への「結合の減少を示す」ポリペプチド変異体は、親ポリペプチドよりも低い親和性（例えば、より高い見かけの K_d 又はより高い IC_{50} 値）で少なくとも 1つの FcR に結合する。親ポリペプチドと比較した結合の減少は、結合の約 40% 以上の減少であり得る。

30

【0065】

「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」又は「ADCC」は、特定の細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー (NK) 細胞、好中球、及びマクロファージ）に存在する Fc 受容体 (FcR) に結合した分泌型 Ig が、これらの細胞傷害性エフェクター細胞を抗原保有標的細胞に特異的に結合させ、続いて細胞毒で標的細胞を死滅させることができる、細胞傷害性の一形態を指す。抗体は細胞傷害性細胞を「武装」させ、そのような死滅のために絶対に必要である。ADCC を媒介する主要な細胞である NK 細胞が FcγRIII のみを発現するのに対し、単球は FcγRI、FcγRII 及び FcγRIII を発現する。造血細胞での FcR の発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991) の 464 頁の表 3 に要約されている。目的の分子の ADCC 活性を評価するために、米国特許第 5500362 号又は同第 5821337 号に記載されているような *in vitro* ADCC アッセイを実施してもよい。このようなアッセイに有用なエフェクタ

40

50

一細胞は、末梢血液単核細胞（P B M C）及びナチュラルキラー（N K）細胞を含む。あるいは、又はさらに、目的の分子のA D C C活性は、Clynes et al. PNAS (USA) 95:652-656 (1998)に開示されるように、例えば動物モデルにおいて、i n v i v oで評価することができる。

【0066】

野生型 I g G F cを有するポリペプチド又は親ポリペプチドよりも効果的にヒトエフェクター細胞の存在下で「増加したA D C Cを示す」か又はA D C Cを媒介する変異体F c領域を含むポリペプチドは、アッセイにおける変異体F c領域を有するポリペプチドの量と野生型F c領域を有するポリペプチド（又は親ポリペプチド）の量とが本質的に同じである場合、i n v i t r o又はi n v i v oにおいて、A D C Cを媒介するのに実質的により効果的なものである。一般に、そのような変異体は、例えば動物モデルなどにおいてA D C C活性を決定するためのアッセイ又は方法などの当技術分野で知られている任意のi n v i t r o A D C Cアッセイを使用して同定される。いくつかの実施態様では、変異体は、野生型F c（又は親ポリペプチド）よりもA D C Cの媒介において、約5倍から約100倍、例えば約25倍から約50倍効果的である。

【0067】

「補体依存性細胞傷害」又は「C D C」は、補体の存在下での標的細胞の溶解を指す。古典的補体経路の活性化は、補体系の第1の成分（C 1 q）が、同族の抗原に結合している（適切なサブクラスの）抗体に結合することによって開始される。補体活性化を評価するため、例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)に記載のようなC D Cアッセイを実行することができる。F c領域のアミノ酸配列が改変され、C 1 q結合能力が増加したか又は減少したポリペプチド変異体が、米国特許第6194551号（B1）及び国際公開第99/51642号に記載されている。それらの特許公開の内容は、参照により本明細書に具体的に組み込まれる。また、Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)も参照のこと。

【0068】

特に指定のない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」には、互いに縮重バージョンであり、同じアミノ酸配列をコードする全てのヌクレオチド配列が含まれる。また、タンパク質又はR N Aをコードするヌクレオチド配列という語句は、タンパク質をコードするヌクレオチド配列がいくつかのバージョンにおいてイントロンを含む程度までイントロンを含み得る。

【0069】

用語「作動可能に連結された」とは、調節配列と異種核酸配列との間の機能的連結であって、その結果、後者の発現をもたらす連結を指す。例えば、第1の核酸配列が第2の核酸配列と機能的関係に配置される場合、第1の核酸配列は第2の核酸配列と作動可能に連結されている。例えば、プロモーターがコード配列の転写又は発現に影響を与える場合、プロモーターはコード配列に作動可能に連結されている。一般に、作動可能に連結されたD N A配列は隣接しており、2つのタンパク質コード領域を結合する必要がある場合、同じリーディングフレームである。

【0070】

「相同」とは、2つのポリペプチド間、又は2つの核酸分子間の配列類似性又は配列同一性を指す。比較される2つの配列の両方の位置が同じ塩基又はアミノ酸単量体サブユニットによって占有されている場合、例えば、2つのD N A分子のそれぞれの位置がアデニンによって占有されている場合、その分子はその位置で相同性がある。2つの配列間の相同性のパーセントは、2つの配列によって共有される一致する又は相同な位置の数を、比較される位置の数で割ったものを100倍した関数である。例えば、2つの配列の10個の位置のうち6個が一致又は相同であれば、2つの配列は60%相同である。例えば、D N A配列A T T G C CとT A T G C G Cは、50%の相同性を共有している。一般に、2つの配列が最大の相同性を与えるように整列したときに比較が行われる。

【0071】

本明細書に開示されるような抗 P S M A 構築物又は組成物の「有効量」は、具体的に記載された目的を遂行するのに十分な量である。「有効量」は、経験的に、また記載された目的に関連する既知の方法によって決定することができる。

【0072】

用語「治療的有效量」とは、個体の疾患又は障害を「治療」するのに有効な、本明細書に開示される抗 P S M A 構築物又は組成物の量を指す。がんの場合、本明細書に開示される治療的有效量の抗 P S M A 構築物又は組成物は、がん細胞数を減少させることができる；腫瘍の大きさ又は重量を減少させることができる；末梢器官へのがん細胞浸潤を阻害することができる（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止させることができる）；腫瘍転移を阻害することができる（すなわち、ある程度遅らせ、好ましくは停止させることができる）；腫瘍増殖をある程度阻害することができる；及び／又はがんに関連する1つ又は複数の症候をある程度緩和することができる。本明細書に開示される抗 P S M A 構築物又は組成物が、増殖を防止し、かつ／又は既存のがん細胞を死滅させることができる範囲で、該抗 P S M A 構築物又は該組成物は、細胞増殖抑制性及び／又は細胞毒性であり得る。いくつかの実施態様では、治療的有效量は、増殖抑制量である。いくつかの実施態様では、治療的有效量は、患者の生存を延長する量である。いくつかの実施態様では、治療的有效量は、患者の無増悪生存期間を改善する量である。

10

【0073】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される」又は「薬理学的に適合性がある」とは、生物学的に又は非生物学的に望ましくないものではない物質を意味し、例えば、該材料は、重大な望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、あるいはそれが含まれる組成物の他の成分のいずれかと有害な様式で相互作用したりすることなく、患者に投与される薬学的組成物に組み込まれ得る。薬学的に許容される担体又は添加物は、好ましくは、毒性学的及び製造試験の要求される基準を満たしており、かつ／又は米国食品医薬品局によって作成された非活性成分ガイドに含まれている。

20

【0074】

本明細書で使用される場合の用語「標識」は、抗 P S M A 抗体部分に直接的又は間接的にコンジュゲートすることができる検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、それ自体で検出可能であり得（例えば、放射性同位元素標識又は蛍光標識）、又は酵素標識の場合、検出可能な基質化合物又は組成物の化学的变化を触媒し得る。

30

【0075】

用語「キメラ抗原受容体（C A R）」は、細胞外抗原結合ドメイン（細胞外抗原結合ドメインは膜貫通ドメイン（例えば、T C R 膜貫通ドメイン）に直接的又は間接的に連結され、次にこの膜貫通ドメインが、細胞内免疫細胞（例えば、T 細胞又はN K 細胞）シグナル伝達ドメインに直接的又は間接的に連結されている）の一部として、単鎖可変断片（s c F v）を含む人工的に構築されたハイブリッド単鎖タンパク質又は単鎖ポリペプチドを指す。細胞内シグナル伝達ドメイン（I S D）は、抗原依存性のT C R 会合T 細胞活性化分子からの一次シグナル伝達配列又は一次免疫細胞シグナル伝達配列、例えば、C D 3 ζ、T C R ζ、F c R γ、F c R β、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 5、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、又はC D 6 6 d の細胞内ドメインの一部を含む。I S D は、共刺激シグナル伝達配列；例えば、抗原非依存性の共刺激分子、例えば、C D 2 7、C D 2 8、4-1 B B（C D 1 3 7）、O X 4 0、C D 3 0、C D 4 0、P D-1、I C O S、リンパ球機能関連抗原-1（L F A-1）、C D 2、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、B 7-H 3、C D 8 3 と特異的に結合するリガンドなどの細胞内ドメインの一部をさらに含むことができる。C A R の特徴には、モノクローナル抗体の抗原結合特性を利用し、M H C 制限（T C R 模倣抗体の場合）又は非M H C 制限（細胞表面タンパク質に対する抗体の場合）のいずれかの様式で、免疫細胞（例えば、T 細胞及びN K 細胞）の特異性と反応性を、選択した標的にリダイレクトする能力が含まれる。非M H C 制限抗原認識は、C A R を発現する免疫細胞（例えば、T 細胞又はN K 細胞）に、抗原プロセッシングとは無関係に抗原を認識する能力を与え、このようにして腫瘍エスケープの主要なメカニズムを回避

40

50

する。

【0076】

現在、CARには3世代がある。「第1世代」のCARは、典型的には、T細胞受容体(TCR)複合体からの分子、すなわち、CD3 ζ 、TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、又はCD66dなどの抗原依存性のTCR会合T細胞活性化分子の一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む、細胞質／細胞内ドメインに融合した膜貫通ドメインに融合した抗原結合ドメインとしてのscFvから構成される単鎖ポリペプチドである。「第1世代」のCARは、典型的には、内因性TCRからのシグナルの主な伝達分子である、CD3 ζ 鎖からの細胞内ドメインを有する。「第1世代」のCARは、de novo抗原認識を提供し、HLA媒介抗原提示とは無関係に、単一融合分子内のそのCD3 ζ 鎖シグナル伝達ドメインを介してCD4⁺及びCD8⁺ T細胞の両方の活性化を引き起こすことができる。「第2世代」のCARは、T細胞に追加のシグナルを提供するために、様々な共刺激分子(例えば、CD28、4-1BB、ICOS、OX40)からの細胞内ドメインを、CARの一次免疫細胞シグナル伝達配列に追加する。「第2世代」のCARは、共刺激(例えば、CD28又は4-1BB)及び活性化(例えば、CD3 ζ)を提供する断片を含む。前臨床試験では、「第2世代」のCARがT細胞の抗腫瘍活性を改善できることを示している。例えば、「第2世代」のCAR修飾T細胞の強力な有効性は、慢性リンパ芽球性白血病(CLL)及び急性リンパ芽球性白血病(ALL)の患者を対象としたCD19分子を標的とした臨床試験において実証された。「第3世代」のCARは、複数の共刺激(例えば、CD28及び4-1BB)及び活性化(例えば、CD3 ζ)を提供するものを含む。

【0077】

本明細書で使用される場合、用語「キメラ抗体-T細胞受容体構築物」(又はcaTCR)は、1つは抗体重鎖可変領域(V_H)と抗体重鎖定常領域(C_H)を含み、他方は抗体軽鎖可変領域(V_L)と抗体軽鎖定常領域(C_L)を含む、2つの別個のポリペプチド鎖を含む機能的ポリペプチド複合体を指す。したがって、本明細書で定義されるcaTCRは、2-サブユニット構築物であり、各サブユニットは、膜貫通ドメイン(例えば、TCR膜貫通ドメイン)及び細胞内免疫細胞シグナル伝達ドメインに融合される細胞膜アンカー抗体重鎖又は軽鎖に実質的に類似している。いくつかの実施態様では、caTCRは、共刺激ドメイン(例えば、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、又はCD3 ζ の細胞内ドメインの一部)を含まない。いくつかの実施態様では、caTCRは、a)抗体部分を含む細胞外ドメイン、及びb)少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達モジュールを動員することができるT細胞受容体モジュール(TCRM)を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA caTCRは、a)PSMAの細胞外領域又はその一部(例えば、配列番号44又はその一部)に特異的に結合する抗PSMA抗体部分を含む細胞外ドメイン、及びb)少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達モジュールを動員することができるT細胞受容体モジュール(TCRM)を含む。

【0078】

本明細書で定義されるcaTCRは、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1のポリペプチド鎖は、膜貫通ドメイン及び細胞内免疫細胞シグナル伝達ドメインに融合された抗体C_Hに融合された抗体V_Hを含み、第2のポリペプチド鎖は、膜貫通ドメイン及び細胞内免疫細胞シグナル伝達ドメインに融合された抗体C_Lに融合された抗体V_Lを含む。いくつかの実施態様では、第1及び第2のポリペプチド鎖は、例えば、共有結合(例えば、ペプチド又は他の化学結合)又は非共有結合によって連結されている。いくつかの実施態様では、抗PSMA caTCRは、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖を含むヘテロ二量体である。いくつかの実施態様では、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖は、少なくとも1つのジスルフィド結合によって連結されている。抗PSMA caTCRの特異性は、PSMAの細胞外領域又はその一部(例えば、配列番号44又はその一部)への結合特異性を付与する抗体部分に由来する。

。

【0079】

用語「キメラ抗体-T細胞受容体(c a T C R)」及び「抗体-T C Rキメラ分子又は構築物(a b T C R又はA b T C R)」は、本明細書では交換可能に使用される。c a T C R及びa b T C Rのさらなる説明及び例は、例えば、国際公開第2017/070608号及びP C T/U S 2018/029217(現在は国際公開第2018/200582号として公開されている)に見出すことができ、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0080】

本明細書に記載される発明の実施態様は、実施態様「からなる」及び／又は「から本質的になる」ことを含む。

10

【0081】

本明細書における値又はパラメータについての「約(a b o u t)」への言及は、その値又はパラメータ自体に対する変動を含む(及び記載する)。例えば、「約X」との記載には「X」の記載が含まれる。

【0082】

本明細書で使用される場合、値又はパラメータについての「ない(n o t)」への言及は、一般に、値又はパラメータ「以外」を意味し、記載する。例えば、「本方法は、X型のがんを治療するために使用されない」とは、「本方法は、X型以外のがんを治療するために使用される」ことを意味する。

【0083】

抗P S M A構築物

本明細書で提供されるのは、P S M A(例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるP S M A)に特異的に結合する抗体部分を含む、前立腺特異的膜抗原(P S M A)に特異的に結合する構築物である。このような構築物は、本明細書では「抗P S M A構築物」とも呼ばれる。P S M Aに対する抗P S M A構築物の特異性は、細胞表面結合P S M Aに特異的に結合する抗P S M A抗体部分(完全長抗体又はその抗原結合断片など)に由来する。一実施態様では、P S M Aの細胞外ドメインは、配列番号44に記載のアミノ酸配列を含む。

20

【0084】

本出願の範囲内の抗P S M A構築物は、限定されないが、本明細書において記載されるように、例えば、完全長抗P S M A抗体、多重特異性抗P S M A構築物、抗P S M A C A R、抗P S M Aキメラ抗体-T細胞受容体構築物(c a T C R)、抗P S M Aキメラシグナル伝達受容体(C S R)、抗P S M Aイムノコンジュゲートなどが含まれる。

30

【0085】

例えば、いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物(単離された抗P S M A構築物など)は、P S M A(例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるP S M A)に特異的に結合する抗P S M A抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、E L I S A、蛍光活性化セルソーティング(F A C S)分析、又は放射性免疫沈降(R I A)などの当技術分野で知られている方法によって決定されるように、非標的ポリペプチドへの抗P S M A抗体の結合の程度は、P S M Aへの抗P S M A抗体部分の結合の約10%未満である。特異的結合は、例えば、一般に結合活性を有しない類似構造の分子である対照分子の結合と比較して、分子の結合を決定することによって測定することができる。例えば、特異的結合は、標的に類似している対照分子、例えば、過剰の非標識標的との競合によって決定することができる。この場合、特異的結合は、プローブとの標識標的の結合が、過剰な非標識標的により競合的に阻害される場合に示される。本明細書で使用される特定のポリペプチド又は特定のポリペプチド標的上のエピトープに対する「特異的結合」又は「特異的に結合する」又は「特異的」という用語は、例えば、少なくとも約 10^{-4} M、あるいは、少なくとも約 10^{-5} M、あるいは、少なくとも約 10^{-6} M、あるいは、少なくとも約 10^{-7} M、あるいは、少なくとも約 10^{-8} M、あるいは、少なくとも約 10^{-9} M、あるいは、少なくとも約 10^{-10} M、あるいは、少なくとも約 10^{-11} M、あるいは、

40

50

少なくとも約 10^{-12} M 又はそれ以下の、標的に対する K_D を有する分子によって示され得る。一実施態様では、用語「特異的結合」は、分子が特定のポリペプチド（例えば、PSMA）又は特定のポリペプチド（例えば、PSMA）上のエピトープに、他のポリペプチド若しくはポリペプチドエピトープに実質的に結合することなく結合する結合を指す。

【0086】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、PSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMA）に特異的に結合し、PSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMA）に特異的に結合する第2の抗PSMA抗体（又は抗体部分）とPSMAへの結合を競合する抗PSMA抗体部分を含み、かつ、（a）配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1；（b）配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2；（c）配列番号5又は6に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3；（d）配列番号7又は8に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L1；（e）アミノ酸配列GNS又はSNNを含むCDR-L2；及び（f）配列番号9又は10に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、PSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMA）に特異的に結合する第2の抗PSMA抗体（又は抗体部分）と、PSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMA）の同じエピトープに特異的に結合する抗PSMA抗体部分を含み、かつ、（a）配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1；（b）配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2；（c）配列番号5又は6に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3；（d）配列番号7又は8に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L1；（e）アミノ酸配列GNS又はSNNを含むCDR-L2；及び（f）配列番号9又は10に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む。

【0087】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）GYX₁FX₂SYW（配列番号11）に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1、[ここで、X₁はS又はNであり；X₂はT又はAである]；（b）IYPX₁DSDT（配列番号12）に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2、[ここで、X₁はG又はDである]；（c）ARX₁X₂X₃X₄X₅X₆YX₇X₈X₉DV（配列番号13）に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3、[ここで、X₁はS又はアミノ酸なしであり；X₂はM又はアミノ酸なしであり；X₃はG又はアミノ酸なしであり；X₄はS又はアミノ酸なしであり；X₅はS又はDであり；X₆はL又はSであり；X₇はA又はYであり；X₈はS又はGであり；X₉はS又はIである]；（d）SSNIGX₁X₂X₃X₄（配列番号14）に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L1、[ここで、X₁はA又はSであり；X₂はG又はNであり；X₃はY又はTであり；X₄はD又はアミノ酸なしである]；（e）アミノ酸配列X₁NX₂を含むCDR-L2、[ここで、X₁はG又はSであり；X₂はS又はNである]；及び（f）X₁X₂X₃DX₄SLX₅GYV（配列番号15）に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3、[ここで、X₁はQ又はAであり；X₂はS又はAであり；X₃はY又はWであり；X₄はS又はDであり；X₅はS又はNである] からなる群から選択される1、2、3、4、5、又は6つの相補性決定領域（CDR）配列を含む抗PSMA抗体部分を含む。

【0088】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（b）配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（c）配列番号5又は6に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（d）配列番号7又は8に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L

1、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（e）アミノ酸配列GNS又はSNNを含むCDR-L2、又は最大約3つ（約1、2、又は3つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；及び（f）配列番号9又は10に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体からなる群から選択される1、2、3、4、5、又は6つの相補性決定領域（CDR）配列を含む抗PSMA抗体部分を含む。

【0089】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（b）配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（c）配列番号5又は6に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（d）配列番号7又は8に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L1、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；（e）アミノ酸配列GNS又はSNNを含むCDR-L2、又は最大約3つ（約1、2、又は3つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体；及び（f）配列番号9又は10に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3、又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体を含む抗PSMA抗体部分を含む。

【0090】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1；（b）配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2；（c）配列番号5又は6に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3；（d）配列番号7又は8に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L1；（e）アミノ酸配列GNS又はSNNを含むCDR-L2；及び（f）配列番号9又は10に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3からなる群から選択される1、2、3、4、5、又は6つの相補性決定領域（CDR）配列を含む抗PSMA抗体部分を含む。

【0091】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、（a）配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H1；（b）配列番号3又は4に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H2；（c）配列番号5又は6に記載のアミノ酸配列を含むCDR-H3；（d）配列番号7又は8に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L1；（e）アミノ酸配列GNS又はSNNを含むCDR-L2；及び（f）配列番号9又は10に記載のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む抗PSMA抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、CDRはヒトCDRである。

【0092】

配列番号1-10のアミノ酸配列が以下の表2に提供される。

表2

GYSFTSYW (配列番号1)	IYPDDSDT (配列番号4)	SSNIGAGYD (配列番号7)	AAWDDSLNGYV (配列番号10)
GYNFASYW (配列番号2)	ARSMGSSLYASSDV (配列番号5)	SSNIGSNT (配列番号8)	
IYPGDSDT (配列番号3)	ARDSYYGIDV (配列番号6)	QSYDSSLSGYV (配列番号9)	

10

20

30

40

50

【0093】

いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号16又は17に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも約95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む抗体重鎖可変ドメイン（V_H）の1つ、2つ、又は3つのC D Rを含む抗P S M A抗体部分を含む。追加的又は代替的に、いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号18又は19に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも約95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）の1つ、2つ、又は3つのC D Rを含む抗P S M A抗体部分を含む。

【0094】

いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号16又は17に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも約95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン（V_H）及び／又は配列番号18又は19に記載のアミノ酸配列に対して少なくとも約95%、96%、97%、98%、99%、又は100%同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む抗P S M A抗体部分を含む。配列番号16－19のアミノ酸配列が以下の表3に提供される。C D Rの配列は下線付き太字で示される。

【0095】

表3

EVQLVQSGAE VKKPGESLKI SCKGS <u>GYST SYW</u> IGWVRQM PGKGLEWMGI <u>IYPGSDTRY</u> SPSFQGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYIC <u>ARSM GSSLYASSDV</u> WGQGTLVTVS S （配列番号16）
EVQLVQSGAE MKKPGESLKI SCKGS <u>GYNFA SYW</u> VGWVRQM PGKGLEWMGT <u>IYPDSDTRY</u> GPAFQGQVTI SADKSISTAY LQWSSLKASD TAMYIC <u>ARDS YYGIDV</u> WGQG TLVTVSS （配列番号17）
QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGS <u>SSNIG AGYD</u> VHWYQQ LPGTAPKLLI <u>YGNS</u> NRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QAEDADYYC <u>QSYDSSLGY V</u> FGTGTKVTV LG （配列番号18）
QAVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSGS <u>SSNIG SNT</u> VNWWYQQL PGTAPKLLMY <u>SNNQ</u> RPSGVP DRFSGSKSGT SASLAISGLQ SEDEADYYC <u>A AWDDSLNGYV</u> FGTGTKVTVL G （配列番号19）

【0096】

重鎖及び軽鎖可変ドメインを対の組み合わせで組み合わせて、本開示の抗P S M A構築物に組み込むことができる、かつ／又は使用することができる追加の抗P S M A抗体部分を生成することができる。

【0097】

いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、（a）G Y S F T S Y W（配列番号1）を含むC D R－H 1又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（b）I Y P G D S D T（配列番号3）を含むC D R－H 2又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（c）A R S M G S S L Y A S S D V（配列番号5）を含むC D R－H 3又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（d）S S N I G A G Y D（配列番号7）を含むC D R－L 1又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（e）G N Sを含むC D R－L 2又は最大約3つ（約1、2、又は3つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、及び（f）Q S Y D S S L S G Y V（配列番号9）を含む

C D R－L 3又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体を含む抗P S M A抗体部分を含む。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、（a）G Y S F T S Y W（配列番号1）を含むC D R－H 1、（b）I Y P G D S D T（配列番号3）を含むC D R－H 2、（c）A R S M G S S L Y A S S D V（配列番号5）を含むC D R－H 3；（d）S S N I G A G Y D（配列番号7）を含むC D R－L 1、（e）G N Sを含むC D R－L 2、及び（f）Q S Y D S S L S G Y V（配列番号9）を含むC D R－L 3を含む抗P S M A抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、C D RはヒトC D Rである。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号16を含むV_Hドメインの1つ、2つ、又は3つのC D R、及び配列番号18を含むV_Lドメインの1つ、2つ、又は3つのC D Rを含む抗P S M A抗体部分を含む。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号16に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%のいずれか1つ）同一であるアミノ酸配列を含むV_Hドメイン及び／又は配列番号18に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%のいずれか1つ）同一であるアミノ酸配列を含むV_Lドメインを含む抗P S M A抗体部分を含む。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号16を含むV_Hドメイン及び配列番号18を含むV_Lドメインを含む抗P S M A抗体部分を含む。配列番号16及び配列番号18を含む抗P S M A抗体部分は、本明細書では「クローンA抗P S M A抗体部分」と代替的に呼ばれる。

10

20

【0098】

いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、（a）G Y N F A S Y W（配列番号2）を含むC D R－H 1又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（b）I Y P D D S D T（配列番号4）を含むC D R－H 2又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（c）A R D S Y Y G I D V（配列番号6）を含むC D R－H 3又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（d）S S N I G S N T（配列番号8）を含むC D R－L 1又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、（e）S N Nを含むC D R－L 2又は最大約3つ（約1、2、又は3つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体、及び（f）A A W D D S L N G Y V（配列番号10）を含むC D R－L 3又は最大約5つ（約1、2、3、4、又は5つのいずれかなど）のアミノ酸置換を含むその変異体を含む抗P S M A抗体部分を含む。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、（a）G Y N F A S Y W（配列番号2）を含むC D R－H 1、（b）I Y P D D S D T（配列番号4）を含むC D R－H 2、（c）A R D S Y Y G I D V（配列番号6）を含むC D R－H 3；（d）S S N I G S N T（配列番号8）を含むC D R－L 1、（e）S N Nを含むC D R－L 2、及び（f）A A W D D S L N G Y V（配列番号10）を含むC D R－L 3を含む抗P S M A抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、C D RはヒトC D Rである。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号17を含むV_Hドメインの1つ、2つ、又は3つのC D R、及び配列番号19を含むV_Lドメインの1つ、2つ、又は3つのC D Rを含む抗P S M A抗体部分を含む。特定の実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号17に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%のいずれか1つ）同一であるアミノ酸配列を含むV_Hドメイン及び／又は配列番号19に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%又は100%のいずれか1つ）同一であるアミノ酸配列を含むV_Lドメインを含む抗P S M A抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、配列番号17を含むV_Hドメイン及び配列番号19を含む

30

40

50

V_Lドメインを含む抗PSMA抗体部分を含む。配列番号17及び配列番号19を含む抗PSMA抗体部分は、本明細書では「クローンB抗PSMA抗体部分」と代替的に呼ばれる。

【0099】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物の抗PSMA抗体部分は、完全長抗体である。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物の抗PSMA抗体部分は、抗PSMA抗体の抗原結合断片、例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv断片、ジスルフィド安定化Fv断片(dsfv)、及び単鎖抗体分子(scFv)からなる群から選択される抗原結合断片である。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物の抗PSMA抗体部分は、scFvである。いくつかの実施態様では、抗PSMA抗体部分は、ヒトである、

10

【0100】

2つの例示的な抗PSMA scFvのアミノ酸配列が以下の表4に提供される。各scFvのV_Lはプレーンテキスト（すなわち、下線なし）であり、各scFvのV_Hには下線が引かれ、リンカーはイタリック体である。CDRは太字で、下線付きの太字である。

【0101】

表4

<u>クローンA 抗PSMA scFv</u> QSVLTQPPSV SGAPGQRVTI SCTGSSSNIG AGYDVHWYQQ LPGTAPKLLI YGNSNRPSGV PDRFSGSKSG TSASLAITGL QAEDADYYC QSYDSSLGY VFGTGKVTV LGSRGGGSG GGS~~GGG~~SL EMA<u>EVQLVQ</u>S GAEVKKPGES LKISCKGSGY SFTSYWIGWV RQMPGKGLEW MGI<u>Y</u>P<u>GDSD</u> TRY<u>SPSFQ</u>Q VTISADKSIS TAYLQWSSLK ASDTAMYYCA R<u>SMGSSLYAS</u> S<u>DVWGQ</u><u>GLTV</u> TVSS (配列番号20)	20
<u>クローンB 抗PSMA scFv</u> QAVLTQPPSA SGTPGQRVTI SCSGSSSNIG SNTVNWYQQL PGTAPKLLMY SNNQRPSGVP DRFSGSKSGT SASLAISGLQ SEDEADYYCA AWDDSLNGYV FGTGKVTVL GSRGGGGSG GGS~~GGG~~SL MA<u>EVQLVQ</u>SG AEMKKPGESL KISCKGSGYN FASYWVGWVR QMPGKGLEWM GTI<u>Y</u>P<u>DDSD</u> RYG<u>PAFQ</u>QV TISADKSIS AYL<u>QWSSLKA</u> SDTAMYYCAR DS<u>Y</u><u>YGIDVWG</u> <u>Q</u><u>GLTV</u><u>TVSS</u> (配列番号21)	30

【0102】

いくつかの実施態様では、抗PSMA scFvは、配列番号20又は配列番号21に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

40

【0103】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、ヒトPSMA、マウスPSMA、ラットPSMA、カニクイザルPSMA、及び／又はアカゲザルPSMAに結合する抗PSMA抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、ヒトPSMAに特異的に結合する抗PSMA抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、細胞の表面上に存在する、又は細胞の表面上に発現するPSMAに特異的に結合する抗PSMA抗体部分を含む。いくつかの実施態様では、細胞はがん細胞である。いくつかの実施態様では、細胞は、参照細胞と比較して、異常に高レベルのPSMAを発現する。い

50

いくつかの実施態様では、参照細胞は、非罹患性（非がん性など）組織から得られた、又はそれに由来する細胞である。いくつかの実施態様では、異常に高レベルの P S M A を発現する細胞は、がん細胞である。いくつかの実施態様では、がん細胞は固形腫瘍にある。いくつかの実施態様では、がん細胞は、前立腺がん細胞、腎細胞がん細胞、子宮がん細胞、又は肝臓がん細胞である。いくつかの実施態様では、がん細胞は、転移性がん細胞である。

【0104】

抗 P S M A 抗体部分配列変異体を含む抗 P S M A 構築物

いくつかの実施態様では、本出願の抗 P S M A 構築物は、本明細書に記載の抗 P S M A 抗体部分の変異体（アミノ酸配列変異体など）を含む。例えば、抗 P S M A 構築物の抗 P S M A 抗体部分の結合親和性及び／又は他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗 P S M A 抗体部分のアミノ酸配列変異体は、抗体部分をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入することによって、又はペプチド合成によって調製することができる。そのような修飾には、例えば、抗 P S M A 抗体部分のアミノ酸配列内の残基からの欠失、残基への挿入、及び／又は残基の置換が含まれる。最終抗体部分が所望の特性、例えば、P S M A（細胞、例えばがん細胞の表面上に発現する P S M A など）への結合を有することを条件として、欠失（単数又は複数）、挿入（単数又は複数）、及び置換（単数又は複数）の任意の組み合わせを、最終的な抗 P S M A 抗体部分に到達させることができる。

10

【0105】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗体部分配列変異体は、1つ又は複数のアミノ酸置換を含む。置換突然変異誘発の対象となる部位には、C D R 及び／又はフレームワーク領域（F R）が含まれる。アミノ酸置換を目的の抗 P S M A 抗体部分に導入することができ、その産物は、所望の活性、例えば、P S M A（例えば、細胞表面結合 P S M A）への結合の保持／改善、免疫原性の低下、又は A D C C 若しくは C D C の改善などについてスクリーニングすることができる。アミノ酸配列の挿入には、1残基から100以上の残基を含むポリペプチドまでの長さの範囲のアミノ末端及び／又はカルボキシル末端融合、並びに単一又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入の例には、N末端メチオニル残基を有する抗 P S M A 抗体部分が含まれる。抗 P S M A 抗体部分の他の挿入変異体には、抗 P S M A 抗体部分の血清半減期を増加させる酵素（例えば A D E P T のため）又はポリペプチドへの、抗体部分の N 末端又は C 末端への融合が含まれる。

20

30

【0106】

いくつかの実施態様では、以下の表5に示されるように、抗 P S M A 抗体部分配列変異体は、1つ又は複数の保存的アミノ酸置換を含む。

【0107】

表5: 保存的置換

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala(A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg(R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn(N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp(D)	Glu; Asn	Glu
Cys(C)	Ser; Ala	Ser
Gln(Q)	Asn; Glu	Asn
Glu(E)	Asp; Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile(I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu(L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys(K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met(M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe(F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro(P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Val; Ser	Ser
Trp(W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val(V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

10

20

30

40

50

【0108】

アミノ酸は、共通の側鎖特性に応じて異なるクラスに分類することができる。

- a) 疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- b) 中性の親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- c) 酸性：Asp、Glu；
- d) 塩基性：His、Lys、Arg；
- e) 鎖の向きに影響を与える残基：Gly、Pro；
- f) 芳香性：Trp、Tyr、Phe。

【0109】

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と交換することを必然的に伴う。

【0110】

例示的な置換変異体は、親和性成熟抗体部分であり、これは、例えば、ファージディスプレイに基づく親和性成熟技術を使用して簡便に作成することができる。簡潔には、1つ又は複数のCDR残基が変異され、変異体抗体部分がファージ上に提示され、特定の生物学的活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングされる。改変（例えば、置換）は、例えば、抗体部分の親和性を改善するために、CDRにおいて行うことができる。この

ような改変は、C D Rの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程に高頻度で変異を受けるコドンによりコードされた残基（例えば、Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)を参照）、及び／又は特異性決定残基（S D R）において行うことができ、得られた変異体V_H又はV_Lが結合親和性について試験される。二次ライブラリーを構築し、再選択することによる親和性成熟は、例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。

【0111】

いくつかの実施態様では、本明細書で提供される1つ又は複数のC D R配列は、改変されていないか、あるいは1、2、3、4、又は5つ未満のアミノ酸置換を含むかのいずれかである。いくつかの実施態様では、本明細書で提供されるV_H及び／又はV_L配列は、改変されていないか、あるいは1、2、3、4、又は5つ未満のアミノ酸置換を含むかのいずれかである。いくつかの実施態様では、本明細書で提供されるV_H及び／又はV_L配列内の1つ又は複数のC D R配列は、改変されていないか、あるいは1、2、3、4、又は5つ未満のアミノ酸置換を含むかのいずれかである。

【0112】

多様性が、様々な方法（例えば、エラーが発生しやすいP C R、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発）のいずれかによって、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入され得る。次いで、二次ライブラリーが作製される。次いで、このライブラリーは、所望の親和性を持つ任意の抗体部分変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法は、いくつかのC D R残基（例えば、一度に4－6残基）がランダム化されるC D Rを対象とするアプローチを含む。抗原結合に参与するC D R残基は、例えばアラニンスキャニング突然変異誘発又はモデリングを用いて、特異的に同定することができる。特に、C D R－H 3及びC D R－L 3が多くの場合標的とされる。

【0113】

抗P S M A抗体又は抗P S M A抗体部分はまた、所望の活性（1つ又は複数）を有する抗体について、コンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。例えば、ポリペプチドディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてそのようなライブラリーをスクリーニングするための様々な方法が当技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al., *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001)に総説され、さらに例えば、McCafferty et al., *Nature*348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.*338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*101(34): 12467-12472 (2004); 及びLee et al., *J. Immunol. Methods*284(1-2): 119-132(2004)に記載される。

【0114】

特定のファージディスプレイ法では、V_H及びV_L遺伝子のレパートリーが、ポリメラーゼ連鎖反応（P C R）によって別々にクローニングされ、ファージライブラリーでランダムに再結合され、次いで、Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)に記載されているように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、典型的には、単鎖F v（s c F v）断片として、又はF a b断片として、抗体断片を提示する。免疫化された供給源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。あるいは、Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993)により記述されるように、ナイーブレパートリーをクローニングして（例えば、ヒトから）、免疫化することなく、広範囲の非自己及び自己抗原に対する抗体の単一の供給源を提供することができる。最後に、ナイーブライブラリーは、幹

細胞由来の再配列されていないV遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用して非常に可変性の高いCDR3領域をコード化し、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載されるように、*in vitro*で再配列を達成することによって合成的に作成することもできる。ヒト抗体ファージライブラリーを記述する特許公報は、例えば、米国特許第5750373号、及び米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号及び同第2009/0002360号を含む。

【0115】

抗PSMA抗体部分配列変異体は、PSMA（例えば、細胞表面結合PSMA）に対して特異的な抗体についてライブラリーをスクリーニングするために、ファージディスプレイを使用して調製することができる。ライブラリーは、少なくとも 1×10^9 （少なくとも 1×10^9 、 2.5×10^9 、 5×10^9 、 7.5×10^9 、 1×10^{10} 、 2.5×10^{10} 、 5×10^{10} 、 7.5×10^{10} 、又は 1×10^{11} のいずれか1つなど）個の固有のヒト抗体断片の多様性を有するヒトscFvファージディスプレイライブラリーであり得る。いくつかの実施態様では、ライブラリーは、健常ドナーからのヒトPMBC及び脾臓から抽出されたDNAから構築されたナীবヒトライブラリーであり、全てのヒト重鎖及び軽鎖サブファミリーを包含する。いくつかの実施態様では、ライブラリーは、自己免疫疾患の患者、がん患者、及び感染症の患者などの様々な疾患の患者から単離されたPBMCから抽出されたDNAから構築されたナীবなヒトライブラリーである。いくつかの実施態様では、ライブラリーは半合成ヒトライブラリーであり、ここで、重鎖CDR3は完全にランダム化されており、（システインを除く）全てのアミノ酸は、任意の所与の位置に等しく存在する可能性が高い（例えば、Hoet, R.M. et al., Nat. Biotechnol. 23(3):344-348, 2005を参照）。いくつかの実施態様では、半合成ヒトライブラリーの重鎖CDR3は、約5から約24アミノ酸（約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、又は24アミノ酸のいずれかなど）の長さを有する。いくつかの実施態様では、ライブラリーは、非ヒトファージディスプレイライブラリーである。

【0116】

PSMA（例えば、細胞表面上に結合したヒトPSMA）に高い親和性で結合するファージクローンは、固体支持体（例えば、溶液パニング用のビーズ又は細胞パニング用の哺乳動物細胞など）に結合しているPSMAへのファージの反復性の結合と、その後の非結合ファージの除去及び特異的に結合したファージの溶出とによって選択することができる。溶液パニングの例では、PSMAは、固体支持体への固定化のためにビオチン化され得る。ビオチン化PSMAは、ファージライブラリーと、ストレプトアビジンコンジュゲートDynabeads M-280などの固体支持体と混合され、次いで、PSMA-ファージビーズ複合体が単離される。次いで、結合したファージクローンが溶出され、発現及び精製のために、大腸菌XL1-Blueなどの適切な宿主細胞に感染させるために使用される。

【0117】

細胞パニングの別の例では、細胞表面結合PSMAを発現する哺乳動物細胞（ヒトPSMAを発現するJurkat細胞など）はファージライブラリーと混合され、その後、細胞が収集され、結合したクローンが溶出され、発現及び精製のために適切な宿主細胞を感染させるために使用される。パニングは、溶液パニング、細胞パニング、又は両方の組み合わせを用いて、複数の（約2、3、4、5、6又はそれ以上のいずれかなど）ラウンドで実行して、PSMAに特異的に結合するファージクローンを濃縮することができる。濃縮されたファージクローンは、例えばELISA及びFACSを含む、当技術分野で知られている任意の方法によって、PSMAへの特異的結合について試験することができる。

【0118】

突然変異誘発の標的となり得る抗 P S M A 抗体部分の残基又は領域の同定の有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085に記載されているように「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基又はグループ（例えば、A r g、A s p、H i s、L y s 及び G l u などの荷電残基）が同定されて、抗体部分と抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを判断するために、中性又は負に帯電したアミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）により置換される。さらなる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入され得る。あるいは、又はさらに、抗原－抗体部分複合体の結晶構造を決定して、抗体部分と抗原との間の接触点を同定することができる。そのような接触残基及び隣接残基は、置換の候補として標的とされてもよいし、又は排除されてもよい。変異体は、所望の特性を含むかどうかを判定するためにスクリーニングされ得る。

10

【0119】

本明細書で提供される抗 P S M A 抗体部分は、1つ又は複数のペプチドタグ配列、ペプチドリinker配列（自己切断リンカーを含む）、切断部位、又は他のペプチド配列（例えば、シグナルペプチド）をさらに含み得る。例示的なシグナルペプチド配列は、M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G（配列番号128）である。例示的なペプチドリinker配列、切断部位、及びペプチドタグ配列を、以下の表6A及び6Bに示す。

【0120】

表6A. 例示的なペプチドリinker及び切断部位

20

SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA (配列番号24)	GGGGS (配列番号140)	SGGG (配列番号147)	GGSGGSGGSGGS (配列番号154)
RAKRS (配列番号129)	GGGSGGGGS (配列番号141)	GSGS (配列番号148)	GGSG (配列番号155)
GSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (配列番号130)	GGGSGGGGSGGGGS (配列番号142)	GSGSGS (配列番号149)	GGSGGGSG (配列番号156)
RAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (配列番号131)	AAATG (配列番号143)	GSGSGSGS (配列番号150)	GGSGGGSGGGSG (配列番号157)
GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (配列番号132)	TPLGDTTHTSG (配列番号144)	GSGSGSGSGS (配列番号151)	
RAKRSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (配列番号133)	AAA (配列番号145)	GGSGGS (配列番号152)	
GSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA (配列番号139)	GGSG (配列番号146)	GGSGGSGGS (配列番号153)	

30

40

【0121】

表6B. 例示的なペプチドタグ

EQKLISEEDL (配列番号136)	HHHHHH (配列番号158)
DYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK (配列番号137)	YPYDVPDYA (配列番号159)
DYKDDDDK (配列番号138)	YPYDVPDYAS (配列番号160)

10

【0122】

完全長抗P S M A抗体

いくつかの実施態様では、本明細書で提供される抗P S M A構築物は、完全長抗体、例えば、本明細書で「完全長抗P S M A抗体」とも呼ばれる抗P S M A抗体部分を含む完全長抗体であるか、又はそれを含む。いくつかの実施態様では、完全長抗体は、本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されるように、モノクローナル抗体である。

【0123】

いくつかの実施態様では、完全長抗P S M A抗体は、免疫グロブリン、例えば、I g A、I g D、I g E、I g G、又はI g Mなどのヒト免疫グロブリンからのF c配列を含む。いくつかの実施態様では、完全長抗P S M A抗体は、I g G、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、又はI g G 4のいずれかなどのヒトI g GのF c配列を含む。いくつかの実施態様では、完全長抗P S M A抗体は、ウサギ、ラット、又はマウスの免疫グロブリンのF c配列を含む。いくつかの実施態様では、完全長抗P S M A抗体は、非ヒト霊長類（例えば、アカゲザル又はカニクイザル）のF c配列を含む。いくつかの実施態様では、完全長抗P S M A抗体は、本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されるように、抗体依存性細胞傷害（A D C C）機能及び／又は補体依存性細胞傷害（C D C）エフェクター機能が增強されるように、改変された、又は他の方法で変更されたF c配列を含む。

20

【0124】

ヒトI g G 1 F c領域を含む例示的な完全長抗P S M A抗体のアミノ酸配列が以下の表7に提供される。各軽鎖のV_Lには下線が引かれ、各重鎖のV_Hには下線が引かれている。C D Rは太字で示されている。

30

【0125】

表7

ヒト I g G 1 F c 領域を含む例示的な完全長クローンA抗P SMA抗体：

重鎖：

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSSDTRYSPSFQQVTISADKSISTAYL
QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号39)

10

軽鎖：

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKA
 GVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号40)

20

ヒト I g G 1 F c 領域を含む例示的な完全長クローンB抗P SMA抗体：

重鎖：

EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQVTISADKSISTAYL
QWSSLKASDTAMYYCARDSSYGIDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSVWNSGA
 LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
 NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号41)

30

軽鎖：

QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKA
 VETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号42)

40

【0126】

いくつかの実施態様では、完全長抗P SMA I g G 1 抗体は、本明細書に記載の V_H を含む重鎖と、本明細書に記載の V_L を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施態様では、完全長抗P SMA I g G 1 抗体は、配列番号39に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号40に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列

50

同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。いくつかの実施態様では、完全長抗 P S M A I g G 1 抗体は、配列番号 4 1 に対して少なくとも約 8 5 %（例えば、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のいずれか 1 つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号 4 2 に対して少なくとも約 8 5 %（例えば、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のいずれか 1 つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

【0127】

ヒト抗 P S M A 抗体及びヒト化抗 P S M A 抗体及び抗体部分

いくつかの実施態様では、抗 P S M A 構築物は、ヒト又はヒト化された抗 P S M A 抗体部分を含む。非ヒト（例えば、マウス）抗体部分のヒト化形態は、キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、又はそれらの断片（例えば、F v、F a b、F a b'、F（a b'）₂、s c F v、又は非ヒト免疫グロブリンに由来する最小限の配列を通常含む完全長抗体の他の抗原結合サブ配列など）である。ヒト化抗体部分には、レシピエントの 1 つ又は複数の C D R からの残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有する、マウス、ラット、又はウサギ抗体などの非ヒト種（ドナー抗体）の C D R からの残基（移入残基）によって置換されているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）が含まれる。いくつかの例においては、ヒト免疫グロブリンの F v フレームワーク残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられている。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体にも、移入された C D R 又はフレームワーク配列にも見出されない残基を含み得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも 1 つ、典型的には 2 つの可変ドメインの実質的に全てを含むことができ、ここで、C D R 領域の全て又は実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンのものに対応し、F R 領域の全て又は実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。いくつかの実施態様では、ヒト化抗体は、免疫グロブリン、典型的にはヒト免疫グロブリンの、定常領域（F c）の少なくとも一部を含むであろう。例えば、Jones et al., Nature, 321: 522-525 (1986); Riechmann et al., Nature, 332: 323-329 (1988); Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2:593-596 (1992), Verhoeven et al., Science, 239: 1534-1536 (1988)、及び米国特許第 4 8 1 6 5 6 7 号を参照。

【0128】

ヒト化の代替として、ヒト抗体を生成することができる。例えば、内因性免疫グロブリン産生の非存在下で、免疫化に際して、ヒト抗体の完全なレパートリーを産生することが可能なトランスジェニック動物（例えば、マウス）を生産することが現在では可能である。例えば、キメラマウス及び生殖系列変異マウスにおける抗体重鎖結合領域（J H）遺伝子のホモ接合性欠失は、内因性抗体産生の完全な阻害をもたらすことが記載されている。ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子アレイをそのような生殖系列変異マウスに移入すると、抗原チャレンジの際にヒト抗体が産生される。例えば、Jakobovits et al., PNAS USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immunol., 7:33 (1993); 米国特許第 5 5 4 5 8 0 6 号、第 5 5 6 9 8 2 5 号、第 5 5 9 1 6 6 9 号；第 5 5 4 5 8 0 7 号；及び国際公開第 9 7 / 1 7 8 5 2 号を参照。あるいは、ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的に又は完全に不活性化されているトランスジェニック動物、例えば、マウスに導入することによって作製することができる。チャレンジの際に、遺伝子再構成、組み立て、抗体レパートリーを含む全ての点において、ヒトで見られるものと非常によく似たヒト抗体の産生が観察される。このアプローチは、例えば、米国特許第 5 5 4 5 8 0 7 号；第 5 5 4 5 8 0 6 号；第 5 5 6 9 8 2 5 号；第 5 6 2 5 1 2 6 号；第 5 6 3 3 4 2 5 号；及び第 5 6 6 1 0 1 6 号、Marks et al., Bio/Technology, 10: 779-783 (1992); Lonberg et al., Nature, 368: 856-859 (1994); Morrison, Nature, 368: 812-813 (1994); Fishwild et al., Nature Biotechnology, 14: 845-851 (1996); Neuberger, Nature Biotechnology, 14: 826 (1996); Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol., 13: 65-93 (199

5)に記載される。

【0129】

ヒト抗体はまた、*in vitro*で活性化されたB細胞（米国特許第5567610号及び第5229275号を参照）によって、又はファージディスプレイライブラリーを含む当技術分野で知られている様々な技術を使用することによって生成され得る。Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。Coleら、及びBoernerらの技術も、ヒトモノクローナル抗体の調製のために利用可能である。Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)及びBoerner et al., J. Immunol., 147(1): 86-95 (1991)。

10

【0130】

モノクローナル抗PSMA抗体及び抗体部分

いくつかの実施態様では、本開示の抗PSMA構築物は、モノクローナル抗PSMA抗体又はモノクローナル抗PSMA抗体部分を含む。モノクローナル抗体は、例えば、Kohler and Milstein, Nature, 256:495 (1975)及びSergeeva et al., Blood, 117(16):4262-4272によって記載されているようなハイブリドーマ法を使用して、本明細書及び以下の実施例に記載のファージディスプレイ法を使用して、あるいは組換えDNA法を使用して（例えば、米国特許第4816567号を参照）調製することができる。

【0131】

ハイブリドーマ法において、ハムスター、マウス、又は他の適切な宿主動物は、典型的には、免疫化剤で免疫化され、免疫化剤に特異的に結合するであろう抗体を産生する、又は産生することができるリンパ球を誘発する。あるいは、リンパ球は*in vitro*で免疫化することができる。免疫化剤は、目的のタンパク質のポリペプチド又は融合タンパク質、あるいは少なくとも2つの分子を含む複合体を含むことができる。一般に、末梢血リンパ球（「PBL」）は、ヒト由来の細胞が望まれる場合に使用され、脾臓細胞又はリンパ節細胞は、非ヒト哺乳動物源が望まれる場合に使用される。次いで、リンパ球は、ポリエチレングリコールなどの適切な融剤を使用して不死化細胞株と融合され、ハイブリドーマ細胞を形成する。例えば、Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice (New York: Academic Press, 1986), pp. 59-103を参照。不死化細胞株は、通常、形質転換された哺乳動物細胞、特にげっ歯類、ウシ、及びヒト由来の骨髓腫細胞である。通常、ラット又はマウスの骨髓腫細胞株が使用される。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは、融合していない不死化細胞の増殖又は生存を阻害する1つ又は複数の物質を含む適切な培地中で培養することができる。例えば、親細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPR T又はHPR T）を欠いている場合、ハイブリドーマのための培地は、典型的には、HGPR T欠損細胞の増殖を防止するヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジン（「HAT培地」）を含むであろう。

20

30

【0132】

いくつかの実施態様では、不死化細胞株は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベルの発現をサポートし、かつHAT培地のような培地に対して感受性を有する。いくつかの実施態様では、不死化細胞株は、例えば、カリフォルニア州サンディエゴのソーック研究所細胞流通センターとバージニア州マナッサスのアメリカンタイプカルチャーコレクションから入手することができるマウス骨髓腫株である。ヒト骨髓腫及びマウス-ヒト異種骨髓腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている。Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al. Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) pp. 51-63。

40

【0133】

次に、ハイブリドーマ細胞が培養された培地を、ポリペプチドに対するモノクローナル抗体の存在についてアッセイすることができる。ハイブリドーマ細胞によって産生されるモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって、又はラジオイムノアッセイ（R

50

I A) 又は酵素結合免疫吸収アッセイ (E L I S A) などの *i n v i t r o* 結合アッセイによって決定することができる。そのような技術及びアッセイは当技術分野で知られている。モノクローナル抗体の結合親和性は、例えば、Munson and Pollard, Anal. Biochem., 107:220 (1980) のスキッチャード分析によって決定することができる。

【0134】

所望のハイブリドーマ細胞が同定された後、そのクローンは、限界希釈手順によってサブクロニングされ、標準的な方法によって増殖させることができる。Goding、上記。この目的に適した培地には、例えば、ダルベッコ改変イーグル培地及びRPMI-1640培地が含まれる。あるいは、ハイブリドーマ細胞は、哺乳動物の腹水として *i n v i v o* で増殖させることができる。

10

【0135】

サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、例えば、プロテインA-セファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、又はアフィニティークロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製手順によって、培地又は腹水から単離又は精製することができる。

【0136】

特定の実施態様では、抗PSMA抗体又は抗体部分は一価である。一価抗体を調製するための方法は当技術分野で知られている。1つの例示的な方法は、免疫グロブリン軽鎖及び修飾重鎖の組換え発現を含む。重鎖は、重鎖の架橋を防止するように、一般にFc領域の任意の点で切断される。あるいは、関連するシステイン残基が別のアミノ酸残基で置換されるか、又は架橋を防止するために欠失される。

20

【0137】

一価抗体の調製には、*i n v i t r o* での方法も適している。抗体の断片、特にFab断片を生成するための抗体の消化は、当技術分野で知られている任意の方法を使用して達成することができる。

【0138】

所望の結合特異性を有する抗体可変ドメイン (抗体-抗原結合部位) を免疫グロブリン定常ドメイン配列に融合させることができる。好ましくは、融合は、ヒンジ領域、CH2領域、及びCH3領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。いくつかの実施態様では、軽鎖結合に必要な部位を含む第1の重鎖定常領域 (CH1) は、融合体の少なくとも1つに存在する。免疫グロブリン重鎖融合体、及び所望により免疫グロブリン軽鎖をコードするDNAは、別々の発現ベクターに挿入され、適切な宿主生物に同時導入される。二重特異性抗体の生成の詳細については、例えば、Sureshet al., Methods in Enzymology, 121: 210 (1986) を参照のこと。

30

【0139】

モノクローナル抗体はまた、米国特許第4816567号に記載されるものなど、組換えDNA法によって作製することができる。モノクローナル抗PSMA抗体をコードするDNAは、容易に単離することができ、一般的な手順を使用して (例えば、マウス抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって) 配列決定することができる。上記のようなハイブリドーマ細胞又はPSMA特異的ファージクローンは、そのようなDNAの供給源として機能し得る。分離されると、DNAは発現ベクター内に配置され、次いで、シミアンCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、又は免疫グロブリンタンパク質を産生しない骨髓腫細胞などの宿主細胞にトランスフェクトされ、組換え宿主細胞におけるモノクローナル抗体の合成を得ることができる。DNAは、例えば、相同な非ヒト配列の代わりに、ヒト重鎖及び軽鎖定常ドメイン並びに／又はフレームワーク領域のコード配列を置換することによって (米国特許第4816567号; Morrisonら、上記)、あるいは非免疫グロブリンポリペプチドのコード配列の全部若しくは一部を免疫グロブリンコード配列に共有結合させることによって修飾することもできる。このような非免疫グロブリンポリペプチドは、抗PSMA抗体の定常ドメインと置換することができ、又はキメラ二価抗体を作製

40

50

するために、抗 P S M A 抗体の一方の抗原結合部位の可変ドメインと置換することができる。

【0140】

多重特異性抗 P S M A 構築物

いくつかの実施態様では、抗 P S M A 構築物は、多重特異性である。本明細書で提供される多重特異性抗 P S M A 構築物は、少なくとも2つの異なる抗原又は2つの異なるエピトープ（例えば、同じ抗原上の2つの異なるエピトープ）に対する結合特異性を示す。2価を超える原子価及び／又は抗原特異性を含む多重特異性構築物もまた企図される。例えば、三重特異性抗体を調製することができる。例えば、Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)を参照。したがって、いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 構築物は、抗 P S M A 抗体部分と、抗原結合部分、例えば、抗体部分などの少なくとも1つの追加の結合部分とを含む。

10

【0141】

いくつかの実施態様では、多重特異性（例えば、二重特異性）抗 P S M A 構築物は、a) P S M A（例えば、細胞表面結合 P S M A）に特異的に結合する抗 P S M A 抗体部分（本明細書に記載されているものなど）、及びb) 第2の結合部分（抗原結合部分など）を含む。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、抗 P S M A 抗体部分によって結合されるエピトープと重複しない P S M A（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現される P S M A）上のエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、異なる抗原（すなわち、P S M A 以外の抗原）に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、がん細胞又は免疫細胞などの細胞の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、T細胞、NK細胞、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、細胞傷害性T細胞（細胞傷害性Tリンパ球（CTL）又はTキラー細胞としても知られる）などのエフェクターT細胞に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は抗体部分である。

20

【0142】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 構築物は、a) P S M A（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現される P S M A）に特異的に結合する抗 P S M A 抗体部分（本明細書に記載されているものなど）、及びb) C D 3 に特異的に結合する第2の結合部分を含む。いくつかの実施態様では、第2の結合部分はC D 3 に結合する抗体部分である。いくつかの実施態様では、第2の抗原結合部分は、ヒト、ヒト化、又は半合成抗体部分である。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、C D 3 ε に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、C D 3 ε のアゴニストエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施態様では、用語「アゴニストエピトープ」は、多重特異性分子の結合時に、任意選択で同じ細胞上での複数の多重特異性分子の結合時に、前記多重特異性分子がT C R シグナル伝達を活性化し、T細胞活性化を誘導することを可能にするエピトープを指す。いくつかの実施態様では、用語「アゴニストエピトープ」は、C D 3 のイプシロン鎖のアミノ酸残基のみで構成され、T細胞上にその自然な状況で提示された場合（すなわち、T C R、C D 3 γ 鎖などに囲まれている場合）、多重特異性分子による結合のためにアクセス可能であるエピトープを指す。いくつかの実施態様では、用語「アゴニストエピトープ」は、多重特異性分子の結合時に、C D 3 γ に対するC D 3 ε の空間的位置の安定化をもたらさないエピトープを指す。いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 構築物は、少なくとも1つ（少なくとも約2つ、3つ、4つ、5つ、又はそれ以上のいずれかなど）の追加の抗原結合部分をさらに含む。

30

40

【0143】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 構築物は、a) P S M A（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現される P S M A）に特異的に結合する抗 P S M A 抗体部分（本明細書に記載されているものなど）、及びb) 例えば、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 3 ζ、C D 2 8、C D 1 6 a、C D 5 6、C D 6 8、及びG D S 2 Dを含むエ

50

フェクター細胞の表面上の抗原に特異的に結合する第2の結合部分を含む。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は抗体部分である。いくつかの実施態様では、第2の抗原結合部分は、ヒト、ヒト化、又は半合成抗体部分である。いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、少なくとも1つ（少なくとも約2つ、3つ、4つ、5つ、又はそれ以上のいずれかなど）の追加の抗原結合部分をさらに含む。

【0144】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、a) PSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMA）に特異的に結合する抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）、及びb) C1qなどの補体系の成分に特異的に結合する第2の結合部分を含む。C1qは、血清補体系を活性化するC1酵素複合体のサブユニットである。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は抗体部分である。いくつかの実施態様では、第2の抗原結合部分は、ヒト、ヒト化、又は半合成抗体部分である。いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、少なくとも1つ（少なくとも約2つ、3つ、4つ、5つ、又はそれ以上のいずれかなど）の追加の抗原結合部分をさらに含む。

【0145】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、a) PSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMA）に特異的に結合する抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）、及びb) Fc受容体、例えばFcγ受容体（FcγR）に特異的に結合する第2の結合部分を含む。FcγRは、ナチュラルキラー（NK）細胞の表面上に存在するFcγRII、又は、マクロファージ、単球、好中球、及び／又は樹状細胞の表面上に存在するFcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB1、FcγRIIB2、及びFcγRIIIBのいずれかであり得る。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は抗体部分である。いくつかの実施態様では、第2の抗原結合部分は、ヒト、ヒト化、又は半合成抗体部分である。いくつかの実施態様では、第2の結合部分は、Fc領域又はその機能的断片である。いくつかの実施態様では、「機能的断片」は、FcγRを有するエフェクター細胞、特に、マクロファージ、単球、好中球及び／又は樹状細胞が、細胞傷害性溶解又は食作用によって標的細胞を死滅させることを可能にするのに十分な特異性及び親和性で、FcR、特にFcγRに結合することが依然として可能である抗体Fc領域の断片を指す。機能的なFc断片は、元の完全長Fc部分のFcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB1、FcγRIIB2、又はFcγRIIIBなどのFcRへの結合を競合的に阻害することができる。いくつかの実施態様では、機能的Fc断片は、活性化FcγRなどのFcγRに対するその親和性の少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又は95%を保持する。いくつかの実施態様では、Fc領域又はその機能的断片は、増強されたFc領域又はその機能的断片である。本明細書で使用される場合、「増強されたFc領域」とは、Fc受容体媒介エフェクター機能、特に抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）、補体依存性細胞傷害（CDC）、及び抗体媒介食作用を増強するように改変されたFc領域を指す。例えば、Fc領域は、活性化受容体（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞上で発現するFcγRIIA（CD16A））に対する親和性の増加及び／又は抑制性受容体（例えば、FcγRIIB1/B2（CD32B））への結合の減少につながるように改変することができる。いくつかの実施態様では、第2の抗原結合部分は、FcγRを有するエフェクター細胞、特に、マクロファージ、単球、好中球及び／又は樹状細胞が、細胞傷害性溶解又は食作用によって標的細胞を死滅させることを可能にするのに十分な特異性及び親和性で、FcR、特にFcγRに特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、少なくとも1つ（少なくとも約2つ、3つ、4つ、5つ、又はそれ以上のいずれかなど）の追加の抗原結合部分をさらに含む。

【0146】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、表面上にPSMAを発現する標的細胞（がん細胞など）の死滅を可能にする。いくつかの実施態様では、多重特異性

10

20

30

40

50

抗 P S M A 構築物は、細胞傷害性 T リンパ球 (C T L) を効果的にリダイレクトして、表面上に P S M A を発現している (例えば過剰発現している) 標的細胞 (がん細胞など) を溶解する。いくつかの実施態様では、多重特異性 (例えば、二重特異性) 抗 P S M A 構築物は、10 から 500 ng / ml の範囲の *in vitro* での E C ₅₀ 値を有する。いくつかの実施態様では、多重特異性 (例えば、二重特異性) 抗 P S M A 構築物は、C T L : 標的細胞の比率が約 1 : 1 から約 50 : 1 (約 1 : 1 から約 15 : 1、又は約 2 : 1 から約 10 : 1 など) で、C T L を通じて標的細胞の約 50 % のリダイレクトされた溶解を誘導することができる。

【0147】

いくつかの実施態様では、多重特異性 (例えば、二重特異性) 抗 P S M A 構築物は、標的細胞が溶解されるように、刺激された又は刺激されていない C T L と標的細胞 (がん細胞など) とを架橋することができる。これは、多重特異性抗 P S M A 構築物がその所望の活性を発揮するために、標的特異的 T 細胞クローンの生成又は樹状細胞による共通の抗原提示を必要としないという利点を提供する。いくつかの実施態様では、本明細書で提供される多重特異性抗 P S M A 構築物は、他の活性化シグナルの非存在下で、C T L をリダイレクトして標的細胞 (がん細胞など) を溶解することができる。いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 構築物の第 2 の抗原結合部分は、C D 3 (例えば、C D 3 ϵ) に特異的に結合し、C D 28 及び / 又は I L - 2 を介したシグナル伝達は、C T L をリダイレクトして標的細胞 (例えば、がん細胞) を溶解するために必要ではない。

【0148】

2 つの抗原 (例えば、2 つの異なる細胞上の 2 つの異なる抗原、あるいは同じ細胞の 2 つの異なる抗原) に同時に結合する多重特異性抗 P S M A 構築物の優先度を測定するための方法は、当業者の能力の範囲内にある。例えば、多重特異性抗 P S M A 構築物の第 2 の結合部分が C D 3 に特異的に結合する場合、多重特異性抗 P S M A 構築物は、C D 3 ⁺ / P S M A ⁻ 細胞及び C D 3 ⁻ / P S M A ⁺ 細胞の混合物と接触され得る。次いで、多重特異性抗 P S M A 構築物によって結合された単一細胞の数及び多重特異性抗 P S M A 構築物によって結合された架橋細胞の数を、蛍光顕微鏡法、蛍光活性化セルソーティング (F A C S)、及び / 又は当技術分野で知られている他の方法によって評価することができる。

【0149】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 構築物は、例えば、二重特異性抗体、ダイアボディ (D b)、単鎖ダイアボディ (s c D b)、タンデム s c D b (T a n d a b)、直鎖状二量体 s c D b (L D - s c D b)、環状二量体 s c D b (C D - s c D b)、d i - ダイアボディ、タンデム s c F v、タンデム d i - s c F v、タンデム t r i - s c F v、トリアボディ (t r i (a) b o d y)、二重特異性 F a b 2、d i - ミニ抗体、テトラボディ、s c F v - F c - s c F v 融合体、二重親和性リターゲティング (D A R T) 抗体、二重可変ドメイン (D V D) 抗体、I g G - s c F a b、s c F a b - d s - s c F v、F v 2 - F c、I g G - s c F v 融合体、ドックアンドロック (D N L) 抗体、ノブイントゥホール (K i H) 抗体 (K i H 技術によって調製された二重特異性 I g G)、D u o B o d y (D u o b o d y 技術によって調製された二重特異性 I g G)、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である。いくつかの実施態様では、多重特異性抗 P S M A 分子は、タンデム s c F v (例えば、タンデム d i - s c F v) である。当業者は、当業者が当技術分野で知られている様々な多重特異性構築物の適切な特徴を選択し、それらを互いに組み合わせて、本開示の範囲内でさらなる多重特異性抗 P S M A 構築物を形成することができることを理解されたい。

【0150】

多重特異性構築物 (例えば、二重特異性抗体) を作製するための適切な方法は、当技術分野で周知である。例えば、二重特異性抗体の産生は、2 つの免疫グロブリン重鎖 / 軽鎖対の共発現に基づくことができ、ここでは 2 つの対はそれぞれ異なる特異性を有し、会合するとヘテロ二量体抗体をもたらす (例えば、Milstein and Cuello, Nature, 305: 537-539 (1983); 国際公開第 93 / 08829 号、及び Traunecker et al., EMBO J. 10: 365

10

20

30

40

50

5 (1991)を参照)。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖のランダムな組み合わせのため、これらのハイブリドーマ(クアドロマ)は10種類の抗体分子の潜在的な混合物を生成し、そのうち1つだけが正しい二重特異性構造を有する。正しい分子の精製は、通常、アフィニティークロマトグラフィー工程によって達成される。同様の手順が、国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al., EMBO, 10: 3655-3659 (1991)に開示されている。あるいは、重鎖と軽鎖の組み合わせは、種の制限された対形成を利用して方向づけることができ(例えば、Lindhofer et al., J. Immunol., 155:219-225 (1995)を参照)、重鎖の対形成は、CH3ドメインの「ノブイントゥホール」工学を使用して方向づけることができる(例えば、米国特許第5731168号; Ridgway et al., Protein Eng., 9(7):617-621 (1996)を参照)。多重特異性抗体はまた、抗体Fcヘテロ二量体分子を作製するための静電ステアリング効果を操作することによって作製され得る(例えば、国際公開第2009/089004号(A1)を参照のこと)。さらなる別の方法では、安定した二重特異性抗体は、制御されたFabアーム交換によって生成することができ、ここでは、異なる抗原特異性を有しかつCH3ドメインにおいて一致する点突然変異を有する2つの親抗体が、分離、再構築及び再酸化を可能にする還元状態で混合され、高純度の二重特異性抗体を形成する。Labrigin et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 110(13):5145-5150 (2013)。重鎖/軽鎖対の混合物を含むそのような抗体は、本明細書では「ヘテロ多量体抗体」とも呼ばれる。

【0151】

異なる特異性を有する抗体又はその抗原結合断片はまた、化学的に架橋されて、多重特異性ヘテロコンジュゲート抗体を生成することができる。例えば、それぞれが異なる抗原に対する特異性を有する2つのF(ab')₂分子を化学的に連結することができる。Pullarkat et al., Trends Biotechnol., 48:9-21 (1999)。このような抗体は、例えば、免疫系細胞を不要な細胞に標的化するために(米国特許第4676980号)、及びHIV感染症の治療のために提案されている。国際公開第91/00360号; 国際公開第92/200373号; 欧州特許第03089号。抗体は、架橋剤を含むものを含む合成タンパク質化学における既知の方法を使用して、*in vitro*で調製することができることが企図される。例えば、免疫毒素は、ジスルフィド交換反応を使用して、又はチオエーテル結合を形成することによって構築することができる。この目的のための好適な試薬の例としては、イミノチオレート及びメチルー4-メルカプトブチリミデート、並びに例えば米国特許第4676980号に開示されているものが挙げられる。

【0152】

いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、組換えDNA技術を使用して調製することができる。例えば、二重特異性抗体は、2つのscFvを融合させることによって、例えば、ペプチドリinkerを介して2つのscFvを融合させて、タンデムscFvを生じさせることによって、操作され得る。用語「抗PSMAタンデムdiscFv」及び「二重特異性抗PSMA抗体」は、本明細書では交換可能に使用される。いくつかの実施態様では、タンデムscFvは、本明細書に記載の抗PSMA結合部分を含むscFvに対する抗CD3 scFvを含み、PSMAを発現する(例えば、過剰発現する)標的細胞へのT細胞のリダイレクションをもたらす。タンデムscFvの構築及び発現に関するさらなる詳細は、例えば、Mack et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 92:7021-7025 (1995); Brischwein et al., Mol. Immunol., 43(8):1129-1143 (2006)に提供される。本開示のタンデムscFvに関するさらなる詳細は、本明細書の他の場所で提供される。

【0153】

2つの可変ドメイン間のペプチドリinkerの長さを短くすることによって、可変ドメインが自己会合するのを防ぎ、第2のポリペプチド上のドメインと強制的に対形成させることができ、その結果、ダイアボディ(Db)と呼ばれるコンパクトな二重特異性抗体が得られる。Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 90:6444-6448 (1993)。Dbの2つのポリペプチドはそれぞれ、同一鎖上の2つのドメイン間の対形成を可能にするには短す

ぎるリンカーによって V_L に連結された V_H を含む。したがって、1つポリペプチドの V_H 及び V_L ドメインは、別のポリペプチドの相補的な V_L 及び V_H ドメインと強制的に対形成され、それによって2つの抗原結合部位を形成する。このフォーマットの改変では、2つのポリペプチドは、別のペプチドリinkerによって連結され、その結果単鎖ダイアボディ (scDb) が得られる。Dbフォーマットのさらなる別の改変では、二重親和性リターゲティング (DART) 二重特異的抗体は、任意選択で、所望のヘテロ二量体構造の組み立てを駆動するC末端システイン残基の前にドメインを含む、各ポリペプチドのC末端におけるシステイン残基間にジスルフィド結合を導入することによって生成され得る。Veri et al., Arthritis Rheum., 62(7):1933-1943 (2010)。四価の二重特異性抗体を得るために、2つのモノクローナル抗体の標的結合可変ドメインが、天然に存在するリンカーを介して組み合わされた、二重可変ドメイン免疫グロブリン (DVD-IgTM) もまた、当技術分野で知られている。Gu and Ghayur, Methods Enzymol., 502:25-41 (2012)。さらに別のフォーマットでは、ドックアンドロック (DNL)、二重特異性抗体は、ヒト cAMP 依存性タンパク質キナーゼ (PKA) の調節サブユニットに由来するペプチド (DDD2) と、ヒト A キナーゼアンカータンパク質 (AKAP) のアンカリングドメインに由来するペプチド (AD2) との二量体化を利用することによって調製される。Rossi et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 103:6841-6846 (2006)。

10

【0154】

組換え細胞培養物から直接二重特異性抗体断片を作製及び単離するための様々な技術も記載されている。例えば、二重特異的抗体は、ロイシンジッパーを使用して産生されている。Veri et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992)。この方法は、抗体ホモ二量体の作製にも利用することができる。

20

【0155】

タンデム scFv 構築物

いくつかの実施態様では、多重特異性抗PSMA構築物は、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）を含む第1のscFv及び第2の標的に結合する第2のscFvを含むタンデムscFv構築物（「抗PSMAタンデムscFv」）である。いくつかの実施態様では、タンデムscFvは、di-scFv（2つのscFvを含む）又はタンデムtri-scFv（3つのscFvを含む）である。いくつかの実施態様では、抗PSMAタンデムscFvは、少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、又はそれ以上のscFvをさらに含む。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、PSMA（第1のscFvの抗PSMA抗体部分によって結合されるエピトープと重複しないエピトープなど）に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、別の抗原（すなわち、PSMA以外の抗原）に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、PSMAを発現する細胞（例えば、がん細胞）などの細胞の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、PSMAを発現しない細胞表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、細胞傷害性細胞の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、T細胞、NK細胞、好中球、単球、マクロファージ、又は樹状細胞などのリンパ球の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、細胞傷害性T細胞などのエフェクターT細胞の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、例えば、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、CD16a、CD56、CD68、及びGDS2Dを含む、エフェクター細胞の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第1のscFv及び／又は第2のscFvは、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

30

40

【0156】

いくつかの実施態様では、抗PSMAタンデムscFvは、a) PSMA（例えば、細胞表面結合PSMA）に特異的に結合する抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）を含む第1のscFv、及びb) T細胞の表面上の抗原に特異的に結合する第2のscFvを含む。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、細胞傷害性T細胞

50

などのエフェクターT細胞の表面上の抗原に特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のs c F vは、例えば、CD 3 γ 、CD 3 δ 、CD 3 ϵ 、CD 3 ζ 、CD 2 8、OX 4 0、G I T R、CD 1 3 7、CD 2 7、CD 4 0 L、又はH V E Mに特異的に結合する。いくつかの実施態様では、第2のs c F vは、T細胞の表面上の抗原上のアゴニストエピトープに特異的に結合し、ここで、アゴニストエピトープへの第2のs c F vの結合は、T細胞活性化を増強する。いくつかの実施態様では、第1のs c F v及び／又は第2のs c F vは、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

【0157】

いくつかの実施態様では、抗P S M Aタンデムs c F vは、a) P S M A（例えば、細胞表面結合P S M A）に特異的に結合する抗P S M A抗体部分（本明細書に記載されているものなど）を含む第1のs c F v、及びb) CD 3 ϵ に特異的に結合する第2のs c F vを含む。いくつかの実施態様では、第1のs c F vは、ペプチドリinkerを介して第2のs c F vに融合される。いくつかの実施態様では、ペプチドリinkerは、約5から約20アミノ酸長である（約5、10、15、又は20のいずれかなど、これらの値の間の任意の範囲を含む）。いくつかの実施態様では、ペプチドリinkerは、アミノ酸配列G G G G S（配列番号140）を含む（例えば、からなるか、又は本質的になる）が、代替のリinker（表6Aのものなど）を使用することができる。いくつかの実施態様では、第1のs c F v及び／又は第2のs c F vは、ヒトである、ヒト化されている、又は半合成である。

10

【0158】

いくつかの実施態様では、本明細書で提供される抗P S M Aタンデムs c F vのP S M A結合s c F vは、約0.1 pMから約500 nMの間の K_d （約0.1 pM、2.5 pM、1.0 pM、5 pM、10 pM、25 pM、50 pM、75 pM、100 pM、250 pM、500 pM、750 pM、1 nM、5 nM、10 nM、25 nM、50 nM、75 nM、100 nM、250 nM、又は500 nMのいずれか1つなど、これらの値の間の任意の範囲を含む）でP S M A（例えば、細胞表面結合P S M A）に結合する。いくつかの実施態様では、本明細書で提供される抗P S M Aタンデムs c F vのP S M A結合s c F vは、約1 nMから約500 nMの間の K_d （約1、5、10、25、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、又は500 nMのいずれかなど、これらの値の間の任意の範囲を含む）でP S M A（例えば、細胞表面結合P S M A）に結合する。

20

30

【0159】

例示的な抗P S M A抗CD 3タンデムd i - s c F vのアミノ酸配列が、以下の表8に提供される。各タンデムd i - s c F vの抗P S M A s c F vはプレーンテキストである（つまり、下線は引かれていない）。各タンデムd i - s c F vの抗CD 3 s c F vには下線が引かれている。抗P S M A s c F vと抗CD 3 s c F vを連結するリinkerは太字のイタリック体である。

【0160】

クローンA 抗PSMA抗CD3タンデムDI-SCFV (HISタグ付き) :

10

20

30

40

クローンB 抗PSMA抗CD3タンデムDI-SCFV:

QAVLTQPPSASGTPGQVRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGSGGGGSLEMAEVOLVOSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA

SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT
 LVTVSS **TSGGGGS** DVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYTMHWVRQAPGGLEWIGYINPSRGYTNYADSVKGRF
TITTDKSTSTAYMELSSLRSEDTATYYCARYYDDHYCLDYWGQGT TTVTVSSGEGTSTGSGGSGGSGGADDIVLTQSPATLS
LSPGERATLSCRASQSVSYMNWYQQKPGKAPKRWIYDTSKVASGVPARFSGSGSGTDYSLTINSLEAEDAATYYCQQWSSN
PLTFTGGGTKVEIK (配列番号 28)

【0161】

10

表 8 の配列は、特定のペプチドリンカー及びペプチドタグを含むが、任意のリンカー又はタグ（例えば、表 6 A 及び 6 B を参照）を使用することができる。

【0162】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、配列番号 25、26、27、又は 28 に対して少なくとも約 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99% のいずれか 1 つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0163】

抗 P S M A キメラ抗原受容体（抗 P S M A C A R）

20

いくつかの実施態様では、本明細書で提供される抗 P S M A 構築物は、抗 P S M A 抗体部分（本明細書に記載の抗 P S M A 抗体部分など）を含むキメラ抗原受容体（C A R）（本明細書では「抗 P S M A C A R」とも呼ばれる）である。本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されるように、本開示はまた、抗 P S M A C A R を含む、発現する、又はそれと会合した C A R エフェクター細胞（T 細胞など）を提供する。そのようなエフェクター細胞はまた、本明細書では「抗 P S M A C A R エフェクター細胞」、例えば、「抗 P S M A C A R 免疫細胞」又は「抗 P S M A C A R T 細胞」とも呼ばれる。

【0164】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R は、a) P S M A（例えば、細胞表面結合 P S M A）に特異的に結合する抗 P S M A 抗体部分（本明細書に記載されているものなど）を含む細胞外ドメイン、及び b) 細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R は、細胞外ドメインと細胞内ドメインとの間に膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R は、スパーサーをさらに含む。いくつかの実施態様では、スパーサーは、抗 P S M A C A R の細胞外ドメインと膜貫通ドメインを連結する。いくつかの実施態様では、スパーサーは、抗 P S M A C A R の細胞内ドメインと膜貫通ドメインを連結する。いくつかの実施態様では、スパーサードメインは、ポリペプチド鎖の細胞外ドメイン又は細胞内ドメインに膜貫通ドメインを連結するように機能する任意のオリゴ又はポリペプチドである。例えば、スパーサードメインは、例えば、約 10 から約 100 アミノ酸の間、又は約 25 から約 50 アミノ酸の間を含む、最大約 300 アミノ酸を含み得る。

30

40

【0165】

抗 P S M A C A R の膜貫通ドメインは、天然の供給源するものであっても、合成の供給源に由来するものであってもよい。供給源が天然である場合、ドメインは、任意の膜結合タンパク質又は膜貫通タンパク質に由来し得る。例えば、いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R は、限定されないが、T 細胞受容体の α 、 β 、 δ 、又は γ 鎖、C D 28、C D 3 ϵ 、C D 3 ζ 、C D 45、C D 4、C D 5、C D 8、C D 9、C D 16、C D 22、C D 33、C D 37、C D 64、C D 80、C D 86、C D 134、C D 137、又は C D 154 から由来する膜貫通ドメイン（例えば、少なくとも 1 つの膜貫通ドメイン又は少なくとも 1 つの膜貫通領域）を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R は、合成膜貫通ドメインを含み、その場合、膜貫通ドメインは、ロイシン及びバリンなど

50

の主に疎水性残基を含み得る。いくつかの実施態様では、フェニルアラニン、トリプトファン及びバリンの三つ組が、合成膜貫通ドメインの各末端に見出され得る。いくつかの実施態様では、例えば、約2から約10アミノ酸長（長さが約2、3、4、5、6、7、8、9、又は10アミノ酸のいずれかなど）を有する短いオリゴ又はポリペプチドリinkerは、膜貫通ドメインと抗PSMA CARの細胞内シグナル伝達ドメインとの間に結合を形成し得る。いくつかの実施態様では、リンカーは、グリシン-セリンダブレットである。

【0166】

いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、抗PSMA CARの細胞内ドメイン中の配列のうちの1つと天然に会合する膜貫通ドメインを含む。例えば、抗PSMA CAR細胞内ドメインがCD28共刺激配列を含む場合、抗PSMA CARの膜貫通ドメインは、CD28膜貫通ドメインに由来する。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、受容体複合体の他のメンバーとの相互作用を最小限に抑えるため、及び／又は同じ若しくは異なる表面膜タンパク質の膜貫通ドメインへの結合を回避するために、選択され、又はアミノ酸置換によって改変された膜貫通ドメインを含む。

【0167】

抗PSMA CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、抗PSMA CARが発現される免疫細胞の正常なエフェクター機能の少なくとも1つの活性化に関与している。例えば、T細胞のエフェクター機能は、サイトカインの分泌を含む細胞溶解活性又はヘルパー活性であり得る。したがって、いくつかの実施態様では、用語「細胞内シグナル伝達ドメイン」は、エフェクター機能シグナルを伝達し、細胞に特殊機能を実行するように指示する抗PSMA CARの部分を指す。通常、細胞内シグナル伝達ドメイン全体が使用され得るが、多くの場合、鎖全体を使用する必要はない。細胞内シグナル伝達ドメインのランケットされた部分を使用される範囲で、そのようなランケットされた部分は、それがエフェクター機能シグナルを伝達する限り、インタクトな鎖の代わりに使用され得る。いくつかの実施態様では、用語「細胞内シグナル伝達配列」は、エフェクター機能シグナルを伝達するのに十分な、細胞内シグナル伝達ドメインの任意のランケットされた部分を指す。

【0168】

いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、抗原受容体の会合に続くシグナル伝達を開始するために協働して作用するT細胞受容体（TCR）及び共受容体の細胞質配列を含む細胞内シグナル伝達を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、T細胞受容体（TCR）及び共受容体の誘導体又は変異体、及び／又は同じ機能的能力を有する任意の合成配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。

【0169】

TCR単独を介して生成されたシグナルは、T細胞の完全な活性化には不十分であること、及び二次又は共刺激シグナルも必要であることが知られている。したがって、T細胞活性化は、2つの異なるクラスの細胞内シグナル伝達配列：TCRを介して抗原依存性の一次活性化を開始させる配列（一次シグナル伝達配列又は一次免疫細胞シグナル伝達配列）及び二次又は共刺激シグナルを提供するように抗原非依存性の様式で作用する配列（共刺激シグナル伝達配列）によって媒介されることができる。

【0170】

一次シグナル伝達配列、又は一次免疫細胞シグナル伝達配列は、刺激的様式で、又は抑制的様式で、TCR複合体の一次活性化を調節する。刺激的様式で作用する一次シグナル伝達配列は、免疫受容体活性化チロシンモチーフ（又はITAM）として知られているシグナル伝達モチーフを含み得る。したがって、いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、1つ又は複数のITAMを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、限定されないが、TCR ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b、及びCD66dに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、共刺激シグナル

伝達配列をさらに含む。いくつかの実施態様では、共刺激シグナル伝達配列は、例えば、CD 27、CD 28、4-1BB (CD 137)、OX 40、CD 30、CD 40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1)、CD 2、CD 7、LIGHT、NKG 2C、B7-H3、CD 83と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの一部である。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、1つを超える共刺激シグナル伝達配列を含む。

【0171】

いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、CD 3ζに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、それ自体で、又は本明細書で提供される抗PSMA CARの文脈で有用な他の任意の所望の細胞内シグナル伝達配列と組み合わせて、CD 3ζに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む。例えば、いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、CD 3ζに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含む細胞内ドメインを含む。いくつかの実施態様では、共刺激シグナル伝達配列は、例えば、CD 27、CD 28、4-1BB (CD 137)、OX 40、CD 30、CD 40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1)、CD 2、CD 7、LIGHT、NKG 2C、B7-H3、CD 83と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの一部である。いくつかの実施態様では、共刺激シグナル伝達配列は、例えば、CD 27、CD 28、4-1BB (CD 137)、OX 40、CD 30、CD 40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1 (LFA-1)、CD 2、CD 7、LIGHT、NKG 2C、B7-H3、CD 83と特異的に結合するリガンドなどから誘導される。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、1つを超える共刺激シグナル伝達配列を含む。

【0172】

いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、CD 3ζに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列及びCD 28に由来する共刺激シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、CD 3ζに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列及び4-1BBに由来する共刺激シグナル伝達配列を含む細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARの細胞内シグナル伝達ドメインは、CD 3ζに由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列と、CD 28及び4-1BBに由来する共刺激シグナル伝達配列とを含む。

【0173】

いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、a) PSMA (例えば、細胞表面結合PSMA) に特異的に結合する抗PSMA抗体部分 (本明細書に記載されているものなど) を含む細胞外ドメイン、b) 膜貫通ドメイン、及びc) 免疫細胞を活性化することができる細胞内シグナル伝達ドメインを含む。いくつかの実施態様では、細胞内シグナル伝達ドメインは、一次免疫細胞シグナル伝達配列及び共刺激シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施態様では、一次免疫細胞シグナル伝達配列は、CD 3ζ細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施態様では、共刺激シグナル伝達配列は、CD 28又は4-1BB細胞内シグナル伝達配列を含む。いくつかの実施態様では、細胞内ドメインは、CD 3ζ細胞内シグナル伝達配列と、CD 28又は4-1BB細胞内シグナル伝達配列とを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、CD 3ζ細胞内シグナル伝達配列とCD 28細胞内シグナル伝達配列とを含む配列番号22 (以下を参照) のアミノ酸配列に融合された抗PSMA抗体部分 (本明細書に記載されているものなど) を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARは、CD 3ζ細胞内シグナル伝達配列と4-1BB細胞内シグナル伝達配列とを含む配列番号23 (以下を参照) のアミノ酸配列に融合された抗PSMA抗体部分 (本明細書に記載されているものなど) を含む。

AAAIEVMYPP PYLDNEKSNG TIIHVKGKHL CPSPLFPGPS KPFWVLVVVG GVLACYSLIV TVAFIIFWVR
 SKRSRLHSD YNMTPTRRPG PTRKHYQPYA PPRDFAAYRS RVKFSRSADA PAYQQGQNQL YNELNLGRRE
 EYDVLDKRRG RDPEMGGKPR RKNPQEGLYN ELQKDKMAEA YSEIGMKGER RRGKGHDGLY QGLSTATKDT
 YDALHMQALP PR (配列番号22)
 TGTTTPAPRP PTPAPTASQ PLSLRPEACR PAAGGAVHTR GLDFACDIYI WAPLAGTCGV LLLSLVITLY
 CKRGRKKLLY IFKQPFMRPV QTTQEEDGCS CRFPEEEEGG CELRVKFSRS ADAPAYQQGQ NQLYNELNLG
 RREEYDVLDK RRGDRPEMGG KPRRKNPQEG LYNELQKDKM AEAYSEIGMK GERRRGKGHD GLYQGLSTAT
 KDTYDALHMQ ALPPR (配列番号23)

10

【0174】

いくつかの実施態様では、抗PSMA抗体部分は、scFv（多重特異性抗PSMA
 scFvなど、例えば、抗PSMAタンデムdi-scFv）である。いくつかの実施態
 様では、scFvは、SRGGGSGGGGSGGGGSLEMA（配列番号24）の
 アミノ酸配列を含むペプチドリンカーを含むがこれらに限定されない、ペプチドリンカー
 によって連結された重鎖及び軽鎖可変領域を含む。

【0175】

例示的な抗PSMA CARのアミノ酸配列が以下の表9に提供される。各CARは（
 順に、N末端からC末端まで）、抗PSMA scFv（プレーンテキスト、すなわち下線
 なし）、mycタグ（太い下線付き）、リンカー（太字のイタリック体）、CD28に由
 来する配列（下線付き）、及びCD3ζに由来する配列（太字で下線付き）を含む。

20

【0176】

表9

クローンA 抗P S M A C A R :	10
QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARSMGSSSLYASSDV WGQGTILVTVSSEOKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEPGPSKPFWVLVVVGGVLAACYSLLV TVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (配列番号29)	
クローンB 抗P S M A C A R :	20
QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSEOKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEPGPSKPFWVLVVVGGVLAACYSLLVTVAFI IFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPGEMGGKPRRKNPQEGLYNELQDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (配 列番号30)	

【0177】

表9の配列は、特定のペプチドリンカー及びペプチドタグを含むが、任意のリンカー又はタグ（例えば、表6A及び6Bを参照）を使用することができる。

30

【0178】

いくつかの実施態様では、抗P S M A C A Rは、配列番号29又は30に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0179】

抗P S M A キメラ抗体-T細胞受容体(T C R)構築物(c a T C R)

いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、抗P S M A抗体部分（本明細書に記載の抗P S M A抗体部分など）を含むキメラ抗体-T細胞受容体構築物(c a T C R)である。そのような構築物は、本明細書では「抗P S M A c a T C R」とも呼ばれる。例示的なc a T C Rは、P C T / U S 2 0 1 6 / 0 5 8 3 0 5（現在は国際公開第2017/070608号として公開されている）で議論されており、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施態様では、抗P S M A c a T C Rは、P S M A（細胞、例えば、がん細胞の表面上に発現されるP S M Aなど）に特異的に結合し、少なくとも1つのT C R会合シグナル伝達分子(C D 3 δ ε、C D 3 γ ε、及び/又はC D 3 ζ ζなど)を動員することができる。

40

【0180】

以下でさらに詳細に説明するように、本開示はまた、抗P S M A-c a T C Rを含む、発現する、又はそれと会合したエフェクター細胞（T細胞など）を提供する。このようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗P S M A c a T C Rエフェクター細胞」、例え

50

ば「抗 P S M A c a T C R T 細胞」とも呼ばれる。

【0181】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、a) P S M A (例えば、細胞表面結合ヒト P S M A) を特異的に認識する抗 P S M A 抗体部分 (本明細書に記載されているものなど) を含む抗原結合モジュール、及び b) 天然に存在する T C R (α β T C R 又は γ δ T C R など) の膜貫通ドメインの 1 つに由来する第 1 の T C R 膜貫通ドメイン (T C R - T M) を含む第 1 の T C R ドメイン (T C R D) と、天然に存在する T C R (α β T C R 又は γ δ T C R など) の他の膜貫通ドメインに由来する第 2 の T C R - T M を含む第 2 の T C R D とを含む T 細胞受容体モジュール (T C R M) を含み、ここで、T C R M は、少なくとも 1 つの T C R 会合シグナル伝達分子 (C D 3 δ ε、C D 3 γ ε、及び / 又は C D 3 ζ ζ など) の動員を促進し、ここで、抗体部分は、第 1 及び / 又は第 2 の T C R D に連結されている。いくつかの実施態様では、第 1 の T C R - T M 及び第 2 の T C R - T M は、γ / δ T C R に由来する。いくつかの実施態様では、第 1 の T C R - T M は T C R γ 鎖に由来し、第 2 の T C R - T M は T C R δ 鎖に由来する。いくつかの実施態様では、第 1 の T C R - T M は T C R δ 鎖に由来し、第 2 の T C R - T M は T C R γ 鎖に由来する。いくつかの実施態様では、第 1 の T C R - T M 及び第 2 の T C R - T M は、α / β T C R に由来する。いくつかの実施態様では、第 1 の T C R - T M は T C R α 鎖に由来し、第 2 の T C R - T M は T C R β 鎖に由来する。いくつかの実施態様では、第 1 の T C R - T M は T C R β 鎖に由来し、第 2 の T C R - T M は T C R α 鎖に由来する。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、天然に存在する T C R D ドメインを含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、少なくとも 1 つの天然には存在しない T C R D ドメインを含む。例えば、γ / δ T C R、α / β T C R、T C R γ 鎖、T C R δ 鎖、T C R α 鎖、及び / 又は T C R β 鎖は、天然に存在する場合もあれば、天然には存在しない場合もある。抗 P S M A c a T C R の抗原結合モジュールは、抗原特異性と、C D 3 の動員及びシグナル伝達を可能にする T C R M とを提供する。いくつかの実施態様では、抗原結合モジュールは、天然に存在する T 細胞受容体抗原結合部分ではない。いくつかの実施態様では、抗原結合モジュールは、T C R M 中のポリペプチド鎖の N 末端に連結されている。いくつかの実施態様では、抗原結合モジュールは、F a b、F a b'、F (a b')₂、F v、又は s c F v からなる群から選択される抗 P S M A 抗体部分である。T C R M は、α β 及び / 又は γ δ T C R などの 1 つ又は複数の T C R (T C R - T M) の膜貫通ドメインに由来する膜貫通モジュールを含み、任意選択で T C R の連結ペプチド又はその断片、及び / 又は 1 つ又は複数の T C R 細胞内ドメイン又はその断片のうちの 1 つ又は両方をさらに含む。いくつかの実施態様では、T C R M は、2 つのポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、N 末端から C 末端に、連結ペプチド、膜貫通ドメイン、及び任意選択で T C R 細胞内ドメインを含む。いくつかの実施態様では、T C R M は、1 つ又は複数の天然には存在しない T C R D ドメインを含む。例えば、いくつかの実施態様では、T C R M は、1 つ又は 2 つの天然には存在しない T C R 膜貫通ドメインを含む。天然には存在しない T C R D ドメインは、1 つ又は複数のアミノ酸の置換によって、及び / 又は対応するドメインの一部を別の T C R からの類似のドメインの一部で置き換えることによって修飾された、天然に存在する T C R の対応するドメインであり得る。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、第 1 のポリペプチド鎖及び第 2 のポリペプチド鎖を含み、ここで、第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖は一緒になって抗原結合モジュール及び T C R M を形成する。いくつかの実施態様では、第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖は別個のポリペプチド鎖であり、c a T C R は二量体などの多量体である。いくつかの実施態様では、第 1 及び第 2 のポリペプチド鎖は、例えばペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結されている。いくつかの実施態様では、第 1 のポリペプチド鎖及び第 2 のポリペプチド鎖は、少なくとも 1 つのジスルフィド結合によって連結されている。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、1 つ又は複数の T 細胞共刺激シグナル伝達配列をさらに含む。1 つ又は複数の共刺激シグナル配列は、個々に、例えば、C D 27、C D 28、4-1 B B (C D 137)、O X 40、C D 30、

10

20

30

40

50

CD27、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、CD83と特異的に結合するリガンドなどを含む共刺激分子の細胞内ドメインの全部又は一部であり得る。いくつかの実施態様では、1つ又は複数の共刺激シグナル伝達配列は、第1のTCR-TMと第1のTCR細胞内ドメインとの間、及び／又は第2のTCR-TMと第2のTCR細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施態様では、1つ又は複数の共刺激シグナル伝達配列は、第1のTCRD及び／又は第2のTCRDに対してC末端側である。いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、T細胞共刺激シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施態様では、cαTCRは、機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている。いくつかの実施態様では、cαTCRは、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、第1の安定化ドメイン及び第2の安定化ドメインを含む安定化モジュールをさらに含み、ここで、第1及び第2の安定化ドメインは、抗PSMA cαTCRを安定化する互いに対する結合親和性を有する。いくつかの実施態様では、安定化モジュールは、抗原結合モジュールとTCR-Mとの間に配置される。いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、任意の2つのcαTCRモジュール又はドメインの間にスペーサーモジュールをさらに含む。いくつかの実施態様では、スペーサーモジュールは、2つのcαTCRモジュール又はドメインを連結する1つ又は複数のペプチドリンカーを含む。

【0182】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、a) V_H 及びC_H1抗体ドメインを含む第1の抗原結合ドメインと、第1のTCRサブユニットの第1の膜貫通ドメインを含む第1のT細胞受容体ドメイン（TCRD）とを含む第1のポリペプチド鎖；及びb) V_L 及びC_L抗体ドメインを含む第2の抗原結合ドメインと、第2のTCRサブユニットの第2の膜貫通ドメインを含む第2のTCRDとを含む第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1の抗原結合ドメインのV_H 及びC_H1ドメイン、並びに第2の抗原結合ドメインのV_L 及びC_Lドメインは、PSMAに特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、ここで、第1のTCRD及び第2のTCRDは、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達モジュールを動員することができるT細胞受容体モジュール（TCRM）を形成する。いくつかの実施態様では、抗原結合モジュールは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む。

【0183】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、a) V_H 抗体ドメインを含む第1の抗原結合ドメインと、第1のTCRサブユニットの第1の膜貫通ドメインを含む第1のTCRDとを含む第1のポリペプチド鎖；及びb) V_L 抗体ドメインを含む第2の抗原結合ドメインと、第2のTCRサブユニットの第2の膜貫通ドメインを含む第2のTCRDとを含む第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1の抗原結合ドメインのV_Hドメイン、及び第2の抗原結合ドメインのV_Lドメインは、PSMAに特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、ここで、第1のTCRD及び第2のTCRDは、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達モジュールを動員することができるT細胞受容体モジュール（TCRM）を形成する。

【0184】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、a) 第1のTCR膜貫通ドメイン（TCR-TM）を含む第1のT細胞受容体ドメイン（TCRD）及びb) 第2のTCR-TMを含む第2のTCRDを含むTCRMを含み、ここで、TCRMは少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達分子の動員を促進する。いくつかの実施態様では、TCR-TMの両方が天然に存在する。いくつかの実施態様では、TCR-TMの少なくとも一方は、天然には存在しない。いくつかの実施態様では、TCR-TMの両方が天然には存在しない。いくつかの実施態様では、第1のTCR-TMはT細胞受容体の膜貫通ドメインの1つ（αβTCR又はγδTCRなど）に由来し、第2のTCR-TMはT細胞受容体の他方の膜貫通ドメインに由来する。いくつかの実施態様では、TCRMは、T細胞受容

10

20

30

40

50

体の膜貫通ドメインを含むTCRMと比較して、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達分子の増強された動員を可能にする。TCR会合シグナル伝達分子の動員は、TCR-CD3複合体表面発現のためのFACS分析、又はCD3サブユニットとcαTCRとの共免疫沈降法などの当技術分野で知られている方法によって決定することができる。

【0185】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、V_H抗体ドメイン（例えば、本明細書に記載のV_H抗体ドメイン）を含む第1の抗原結合ドメイン及びV_L抗体ドメイン（例えば、本明細書に記載のV_L抗体ドメイン）を含む第2の抗原結合ドメインを含む抗原結合モジュールを含む。いくつかの実施態様では、V_H抗体ドメイン及びV_L抗体ドメインのCDRは、同じ抗PSMA抗体部分に由来する。いくつかの実施態様では、一部のV_H抗体ドメイン及びV_L抗体ドメインのCDRは、異なる抗PSMA抗体部分に由来する。いくつかの実施態様では、V_H抗体ドメイン及び／又はV_L抗体ドメインは、ヒトである、ヒト化されている、キメラである、半合成である、又は完全合成である。

【0186】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、任意選択で安定化モジュールを含む、本明細書に記載のTCRMに連結された本明細書に記載の抗原結合モジュールを含む。例えば、いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、一方又は両方のTCRDのN末端に連結された抗原結合モジュールを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、TCRMと抗原結合モジュールとの間に安定化モジュールを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、任意の2つの抗PSMA cαTCRモジュール又はドメインの間にスペーサーモジュールをさらに含む。いくつかの実施態様では、スペーサーモジュールは、約5から約70（約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、又は70のいずれかなど、これらの値の間の任意の範囲を含む）アミノ酸長の1つ又は複数のペプチドリinkerを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、1つ又は複数のアクセサリ細胞内ドメインをさらに含む。いくつかの実施態様では、1つ又は複数のアクセサリ細胞内ドメインは、第1及び／又は第2のTCRDに対してカルボキシ末端側である。いくつかの実施態様では、1つ又は複数のアクセサリ細胞内ドメインは、第1のTCR-TMと第1のTCR細胞内ドメインとの間、及び／又は第2のTCR-TMと第2のTCR細胞内ドメインとの間に存在する。いくつかの実施態様では、1つ又は複数のアクセサリ細胞内ドメインは、個別に、TCR共刺激ドメインを含む。いくつかの実施態様では、TCR共刺激ドメインは、免疫共刺激分子（例えば、CD27、CD28、4-1BB（CD137）、OX40、CD30、CD40、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1（LFA-1）、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、CD83と特異的に結合するリガンドなど）の細胞内ドメインの全部又は一部を含む。

【0187】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、a)細胞表面結合PSMAを認識する抗体部分（本明細書に記載されているものなど）を含む抗原結合モジュール、及びb)天然に存在するTCR（αβTCR又はγδTCRなど）の膜貫通ドメインの1つに由来する第1のTCR膜貫通ドメイン（TCR-TM）を含む第1のTCRDドメイン（TCRD）と、天然に存在するTCR（αβTCR又はγδTCRなど）の他の膜貫通ドメインに由来する第2のTCR-TMを含む第2のTCRDとを含むT細胞受容体モジュール（TCRM）を含み、ここで、TCRMは、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達分子（CD3δε、CD3γε、及び／又はCD3ζζなど）の動員を促進し、ここで、抗体部分は、第1及び／又は第2のTCRDに連結されている。

【0188】

いくつかの実施態様では、抗PSMA cαTCRは、a) V_H及びC_H1抗体ドメインを含む第1の抗原結合ドメインと、第1のTCRサブユニットの第1の膜貫通ドメインを含む第1のT細胞受容体ドメイン（TCRD）とを含む第1のポリペプチド鎖；及びb) V_L及びC_L抗体ドメインを含む第2の抗原結合ドメインと、第2のTCRサブユニッ

トの第2の膜貫通ドメインを含む第2のTCRDとを含む第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1の抗原結合ドメインのV_H及びC_H1ドメイン、並びに第2の抗原結合ドメインのV_L及びC_Lドメインは、PSMA（例えば、細胞表面結合PSMA）に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、ここで、第1のTCRD及び第2のTCRDは、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達モジュールを動員することができるT細胞受容体モジュール（TCRM）を形成する。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a TCRは、C_H1ドメイン内の残基とC_Lドメイン内の残基との間にジスルフィド結合を含む抗原結合モジュールを含む。

【0189】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a TCRは、a) V_H抗体ドメインを含む第1の抗原結合ドメインと、第1のTCRサブユニットの第1の膜貫通ドメインを含む第1のTCRDとを含む第1のポリペプチド鎖；及びb) V_L抗体ドメインを含む第2の抗原結合ドメインと、第2のTCRサブユニットの第2の膜貫通ドメインを含む第2のTCRDとを含む第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1の抗原結合ドメインのV_Hドメイン、及び第2の抗原結合ドメインのV_Lドメインは、PSMA（例えば、細胞表面結合PSMA）に特異的に結合する抗原結合モジュールを形成し、ここで、第1のTCRD及び第2のTCRDは、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達モジュールを動員することができるT細胞受容体モジュール（TCRM）を形成する。

【0190】

例示的な抗PSMA c a TCRのアミノ酸配列が以下の表10Aに提供される。各鎖1において、抗PSMA V_H/C_H配列は、プレーンテキスト（すなわち、下線なし）である。各鎖1において、TCRデルタ鎖の配列には下線が引かれている。各鎖2において、抗PSMA V_L/C_L配列は、太い下線が引かれている。各鎖2において、TCRガンマ鎖の配列はイタリック体である。

【0191】

10

20

表10A

<u>クローンA 抗P S M A c a T C R クローンA</u> 鎖 1 : EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTK <u>QPSK SCHKPKAIVHTEKVNMSLTVLGLRMLFAKTAVNFLTAKLFFL</u> (配列番号 3 1) 鎖 2 : <u>OSVLTQPPSVSGAPGORVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLO AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGOPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKA GVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNC SKDANDTLLLQ LTNTSAYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS</u> (配列番号 3 2)	10
<u>クローンB 抗P S M A c a T C R</u> 鎖 1 : EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARSDSYGIDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSK <u>SCHKPKAIVHTEKVNMSLTVLGLRMLFAKTAVNFLTAKLFFL</u> (配列番号 3 4) 鎖 2 : <u>OAVLTQPPSASGTPGORVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGOPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG VETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNC SKDANDTLLLQL TNTSAYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS</u> (配列番号 3 5)	20

【 0 1 9 2 】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 3 1 に対して少なくとも約 8 5 % (例えば、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有する鎖 1、及び配列番号 3 2 に対して少なくとも約 8 5 % (例えば、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有する鎖 2 を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 3 4 に対して少なくとも約 8 5 % (例えば、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % のいずれか 1 つ) の配列同一性を有する鎖 1、及び配列番号 3 5

40

50

に対して少なくとも約 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は 99%のいずれか 1 つ）の配列同一性を有する鎖 2 を含む。

【0193】

いくつかの実施態様では、例示的な抗 P S M A c a T C R クローン A をコードする核酸は、以下のアミノ酸配列（表 9 に示されるものに対応するマーキングを有する）を含むポリペプチドを発現する：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWV
RQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY 10
YCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKSCEVKT DSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMM
SLTVLGLRMLFAKT VAVN FLLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNP
GPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDV
HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS
YDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT 20
VAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFA
IITCCLLRRTAFCCNGEKS(配列番号 33)

【0194】

いくつかの実施態様では、例示的な抗 P S M A c a T C R クローン B をコードする核酸は、以下のアミノ酸配列（表 9 に示されるものに対応するマーキングを有する）を含むポリペプチドを発現する：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGW 30
VRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
YYCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKRVEPKSCEVKT DSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT
VLGLRMLFAKT VAVN FLLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWY
QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD 40
DSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA
WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE
KTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIIT
CCLLRRTAFCCNGEKS(配列番号 36)

【0195】

配列番号 33 及び 36 における太字の配列は、シグナルペプチド及び／又は自己切断ペプチドに対応する。配列番号 33 及び 36 は特定のペプチドリンカーを含むが、任意の切

断可能なリンカー（例えば、表 6 A を参照）を使用することができる。

【0196】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R をコードする核酸は、配列番号 33 又は配列番号 36 に対して少なくとも約 85 %（例えば、少なくとも約 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のいずれか 1 つ）の配列同一性を有するポリペプチドを発現する。

【0197】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、二価 c a T C R である。いくつかの実施態様では、二価抗 P S M A c a T C R は、同一の V_H 配列及び同一の V_L 配列を含む 2 つの抗 P S M A 抗体部分を含むホモ二価抗 P S M A c a T C R である。例示的なホモ二価抗 P S M A c a T C R のアミノ酸配列が以下の表 10 B に提供される。配列番号 165 は、クローン A s c F v 及びクローン A V_H-C H 1 を含み、配列番号 166 は、クローン A V_L-C L を含む。配列番号 167 は、クローン A V_H 及びクローン A V_H-C H 1 を含み、配列番号 168 は、クローン A V_L 及びクローン A V_L-C L を含む。配列番号 169 は、クローン B s c F v 及びクローン B V_H-C H 1 を含み、配列番号 170 は、クローン A V_L-C L を含む。配列番号 171 は、クローン B V_H 及びクローン B V_H-C H 1 を含み、配列番号 168 は、クローン B V_L 及びクローン B V_L-C L を含む。

【0198】

10

20

表10B.

例示的なホモ二価クローンA 抗P SMA c a T C R # 1

鎖 1 :

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLGGYVFGTGKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGT LVT VSSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQ
 GGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
 GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVK
 TDSTDHV KPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVN FLLTAKLFFL (配列番号 1 6 5)

10

鎖 2 :

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLGGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKA
 GVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQ
 LTNTSAYMYLLLLLKS VVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号 1 6 6)

20

例示的なホモ二価クローンA 抗P SMA c a T C R # 2

鎖 1 :

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYL
 QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTS
 YWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWG
 QGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
 SSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHV KPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRML
 FAKTVAVN FLLTAKLFFL (配列番号 1 6 7)

30

鎖 2 :

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLGGYVFGTGKVTVLGGGGSGGGGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQ
 LPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVT
 LFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTH
 EGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLKS VVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEK
 S (配列番号 1 6 8)

40

例示的なホモ二価クローンB 抗PSMA c a T C R # 1

鎖 1 :

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
 EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGSRGGGSGGGGSGGGGSEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA
 SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT
 LVTVSSGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTI
 SADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCEVKTDSTDHVKP
 KETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVNFLTAKLFFL (配列番号 1 6 9)

10

鎖 2 :

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
 EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
 VETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSDANDTLLLQL
 TNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号 1 7 0)

20

例示的なホモ二価クローンB 抗PSMA c a T C R # 2

鎖 1 :

EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYL
 QWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVG
 WVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT LVTVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT
 YICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVN
 FLTAKLFFL (配列番号 1 7 1)

30

鎖 2 :

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
 EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGGGGSGGGGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLP
 GTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLF
 PPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG
 STVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
 (配列番号 1 7 2)

40

【 0 1 9 9 】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号 1 6 5 に対して少なく
 とも約 8 5 % (例えば、少なくとも約 8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %

50

、 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号166に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖2を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号167に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号168に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖2を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号169に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号170に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖2を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号171に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号172に対して少なくとも約85% (例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ)の配列同一性を有する鎖2を含む。

【0200】

いくつかの実施態様では、例示的なホモ二価クローンA 抗PSMA c a T C R #1をコードする核酸は、配列番号47を含むポリペプチドを発現する。

```

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I
S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V
P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y
V F G T G T K V T V L G S R G G G S G G G S G G G S L E M A E V Q L V Q S
G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W
M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K
A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S E
V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P
G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L
Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S
A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T
Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N
T K Q P S K S C H K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V
N F L L T A K L F F L R A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N
P G P M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R
V T I S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P
S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L
S G Y V F G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L
V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y
A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S
P I K T D V I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L
L K S V V Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S (配列番号47)

```

【0201】

いくつかの実施態様では、例示的なホモ二価クローンA 抗PSMA caTCR #2をコードする核酸は、配列番号48を含むポリペプチドを発現する。

METD T L L L W V L L L W V P G S T G E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I
S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y
S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M
G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S E V Q L V Q S G A
E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W M G
I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S
D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V
F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S
G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K
P S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C
H K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L
F F L R A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T
L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S
S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V P D R F S
G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y V F G T G
T K V T V L G G G G G S G G G G S Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T
G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V P D R
F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y V F G
T G T K V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D
F Y P G A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L
S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D V
I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V Y
F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S (配列番号48)

10

20

【0202】

いくつかの実施態様では、例示的なホモ二価クローンB 抗PSMA caTCR #1をコードする核酸は、配列番号49を含むポリペプチドを発現する。

METD T L L L W V L L L W V P G S T G Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I
S C S G S S S N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P
D R F S G S K S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V
F G T G T K V T V L G S R G G G G S G G G G S G G G G S L E M A E V Q L V Q S G
A E M K K P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E W M
G T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A
S D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S G G G G S E V Q L V Q
S G A E M K K P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E
W M G T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L
K A S D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F
P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G
V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P
S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H
K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F
F L R A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L
L L W V L L L W V P G S T G Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S
S N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D R F S G S
K S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F G T G T K
V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G
A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P
E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D V I T M D

30

40

50

PKDNC SKDANDTLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAII
TCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号49)

【0203】

いくつかの実施態様では、例示的なホモ二価クローンB 抗PSMA caTCR #1をコードする核酸は、配列番号50を含むポリペプチドを発現する。

METDTLLLLWVLLLVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKIS
SCKGSGYNFAS YWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRY
GPAFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMY YCARDS
YYGIDVWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSEVQLVQSGAEMKK
PGESLKISCKGSGYNFAS YWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYP
DDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAM
YYCARDSYYGIDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK
STSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVTSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
RVEPKSCAEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVH
TEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFFLRAKRS
GSGAPVKQTLNFDLLKL AGDVE SNPGPMETDTLLLLWVLLLV
WVPGSTGQAVLTQPPPSASGTPGQRVTI SCSSGSSSSNIGSNT
VNWYQQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA
SLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGT KVTVLGGG
GGSGGGGSGQAVLTQPPPSASGTPGQRVTI SCSSGSSSSNIGS
NTVNWYQQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSA
SLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGT KVTVLGGQ
PKANPTVTLFPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW
KADGSPVKAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSH
RSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCS
KDANDTLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIIITCCLLR
RTAFCCNGEKS (配列番号50)

【0204】

配列番号47-50は特定のペプチドリンカーを含むが、任意のリンカー（例えば、表6Aを参照）を使用することができる。

【0205】

いくつかの実施態様では、ホモ二価抗PSMA caTCRをコードする核酸は、配列番号47-50のいずれか1つに対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するポリペプチドを発現する。

【0206】

いくつかの実施態様では、二価抗PSMA caTCRは、2つの抗PSMA抗体部分を含むヘテロ二価抗PSMA caTCRであり、各抗PSMA抗体部分は、異なるVH配列及び／又は異なるVL配列を含む。例示的なヘテロ二価抗PSMA caTCRのアミノ酸配列が以下の表10Cに提供される。配列番号173は、クローンA scFv及びクローンB VH-CH1を含み、配列番号174は、クローンB VL-CLを含む。配列番号175は、クローンB VL-CLを含み、配列番号176は、クローンA scFv及びクローンB VH-CH1を含む。配列番号177は、クローンA VH及びクローンB VH-CH1を含み、配列番号178は、クローンA VL及びクローンB VL-CLを含む。配列番号179は、クローンA VL及びクローンB VL-CLを含み、配列番号178は、クローンA VH及びクローンB VH-CH1を含む。

【0207】

例示的なヘテロ二価クローンA/クローンB 抗PSMA caTCR #1

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTI SCTGSSSNIGAGYDVHWYQQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSGLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSSLYASSDV
WGQGT LVTVSSGGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQ
GQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDST
DHVKKPETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVN FLLTAKLFFL (配列番号 173)

QAVLTQPPSASGTPGQRVTTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
VETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSDKDANDTLLLQL
TNTSAYMYLLLLLLSKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号 1 7 4)

例示的なヘテロ二価クローンB/クローンA 抗PSMA caTCR #1

QAVLTQPPSASGTPGQRVTTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSPGVDPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
VETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHK
PKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL (配列番号 175)

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTIISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSGLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
TSYIWGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDFRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSSLYASSDV
WGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQ
GQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCPIKTDVI
TMDPKDNCSKDANDTLLQLTNTSAYMYLLLLLKSVMYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号 176)

20

30

40

例示的なヘテロ二価クローンA／クローンB 抗PSMA c a T C R # 2

鎖 1 :

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYL
 QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFAS
 YWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGT L
 VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
 GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMSLTVLGLRMLFAKT
 VAVNFLTAKLFFL (配列番号 1 7 7)

10

鎖 2 :

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLGYSYVFGTGKVTVLGGGGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGSNTVNWYQQ L
 PGTAPKLLMYNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTL
 FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE
 GSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLQLTNTSAYMYLLLLLKSVMYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
 (配列番号 1 7 8)

20

例示的なヘテロ二価クローンB／クローンA 抗PSMA c a T C R # 2

鎖 1 :

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLGYSYVFGTGKVTVLGGGGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGSNTVNWYQQ L
 PGTAPKLLMYNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTL
 FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE
 GSTVEKTVAPTECSEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMSLTVLGLRMLFAKT VAVNFLTAKLFF
 L (配列番号 1 7 9)

30

鎖 2 :

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTTISADKSISTAYL
 QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFAS
 YWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGVTTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGT L
 VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL
 GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLQLTNTSAYMYLLLLLKSVMYFAIITCCL
 LRRTAFCCNGEKS (配列番号 1 8 0)

40

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号173に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号174に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖2を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号175に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号176に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖2を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号177に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号178に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖2を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号179に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖1、及び配列番号180に対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有する鎖2を含む。

【0209】

いくつかの実施態様では、例示的なヘテロ二価クローンA／クローンB 抗PSMA c a T C R #1をコードする核酸は、配列番号91を含むポリペプチドを発現する。

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I
S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V
P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y
V F G T G T K V T V L G S R G G G G S G G G G S G G G G S L E M A E V Q L V Q S
G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W
M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K
A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S E
V Q L V Q S G A E M K K P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P
G K G L E W M G T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L
Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K
G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G
A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N
V N H K P S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P
S K S C H K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L
T A K L F F L R A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M
E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S
C S G S S S N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D
R F S G S K S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F
G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S
D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y
L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D

V I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V
Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S (配列番号 91)

【0210】

いくつかの実施態様では、例示的なヘテロ二価クローン B / クローン A 抗 P S M A
c a T C R # 1 をコードする核酸は、配列番号 181 を含むポリペプチドを発現する。

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I
S C S G S S S N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P
D R F S G S K S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V
F G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I
S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S
Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T
D V I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V
V Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S R A K R S G S G A P V K Q T L N F
D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T
Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A
P K L L I Y G N S N R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E
A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y V F G T G T K V T V L G S R G G G G S G G G G S G
G G G S L E M A E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y
W I G W V R Q M P G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A
D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G
Q G T L V T V S S G G G G S E V Q L V Q S G A E M K K P G E S L K I S C K G S G
Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E W M G T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G
Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V
W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V
K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V
T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S
T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G
L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F F L (配列番号 181)

【0211】

いくつかの実施態様では、例示的なヘテロ二価クローン A / クローン B 抗 P S M A
c a T C R # 2 をコードする核酸は、アミノ酸配列の配列番号 92 を含むポリペプチド
を発現する。

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I
S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y
S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M
G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S E V Q L V Q S G A
E M K K P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E W M G
T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S
D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A
P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T
F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T
K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H K P K
A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F F L R
A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L L L W
V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S S S N I
G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V P D R F S G S K S
G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y V F G T G T K V T
V L G G G G G S G G G G S Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S
N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D R F S G S K
S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F G T G T K V

TVLGQPKANPTVTTLFPSPSEELQANKATLVCLISDFYPGA
 VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE
 QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDP
 KDNCSKDNANDTLLQLTNTSAYYMYLLLLLLKSVVYFAIIT
 CCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号 92)

【0212】

いくつかの実施態様では、例示的なヘテロ二価クローン B / クローン A 抗 P S M A c a T C R # 2 をコードする核酸は、アミノ酸配列の配列番号 182 を含むポリペプチドを発現する。

METDTLLLLWVLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRVTI 10
 SCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV
 PDRFSGSKSGTSSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGY
 VFGTGTGKVTVLGGGGGSGGGGSGQAVLTQPPSASGTPGQRV
 TISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSG
 VPDRFSGSKSGTSSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNG
 YVFGTGTGKVTVLGQPKANPTVTTLFPSPSEELQANKATLVCL
 LISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAA
 SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSP
 IKTDVITMDPKDNCSKDNANDTLLQLTNTSAYYMYLLLLLLK
 SVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKSRAKRSGSGAPVKQTL 20
 NFDLLKLKLAGDVESNPGPMEETDTLLWVLLWVPGSTGEVQ
 LVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGK
 GLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQW
 SSLKASDTAMY YCARSMGSSLYASSD VWGQGT LVT VSSGG
 GSGGGGGSEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASY
 WVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISA
 DKSI STAYLQWSS LKASDTAMY YCARD SYYG IDVWGQGT L
 VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPS
 SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC EVKTDST DHVKP 30
 KETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFA
 KTVAVNFLLTAKLFFL (配列番号 182)

【0213】

配列番号 91-92 及び 181-182 は特定のペプチドリンカーを含むが、任意のリンカー (例えば、表 6A を参照) を使用することができる。

【0214】

いくつかの実施態様では、ヘテロ二価抗 P S M A c a T C R をコードする核酸は、配列番号 91-92 及び 181-182 のいずれか 1 つに対して少なくとも約 85 % (例えば、少なくとも約 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、又は 99 % のいずれか 1 つ) の配列 40
 同一性を有するポリペプチドを発現する。

【0215】

CH1 配列を含む上記の例示的な c a T C R は、A S T K G P S V F P L A P S S K S
 T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L
 Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R
 V E P K S C (配列番号 122) に記載の CH1 配列を含むが、代替の CH1 配列を使用
 することができる。例えば、S64E 及び S66V 変異 (EU 番号付け) を含む A S T K
 G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G
 A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y E L V S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N
 V N H K P S N T K V D K R V E P K S C (配列番号 123) を使用することができる。 50

CL配列を含む上記の例示的なcαTCRは、GQPKANPTVTTLFPSSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS（配列番号124）に記載のCL配列、すなわち、λ軽鎖の定常領域を含むが、代替のCL配列を使用することができる。例えば、TVAAPSVFIFPPSDDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号125）、すなわち、κ軽鎖の定常領域、又はTVAAPSVFIFPPSDDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSLSSLTTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号126）、S69L及びT71S変異（EU番号付け）を含むκ軽鎖の定常領域を使用することができる。

10

【0216】

抗PSMAキメラ共刺激受容体構築物（CSR）

また、本明細書に提供されるのは、PSMA特異的キメラ共刺激受容体構築物であり、これは、本明細書では代替的にキメラシグナル伝達受容体構築物（すなわち、「抗PSMA CSR」と呼ばれる。例示的なCSRは、PCT/US2018/029218（現在は国際公開第2018/200583号として公開されている）で議論されており、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、免疫細胞（T細胞など）の表面上に発現される。抗PSMA CSRは、細胞（がん細胞など）の表面上に発現しているか、又は細胞の表面と会合しているPSMAに結合し、PSMAに結合すると、抗PSMA CSRが発現している免疫細胞を刺激することができる。抗PSMA CSRは、PSMA結合モジュール（例えば、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分を含む）、膜貫通（TM）モジュール、及び抗PSMA CSRが発現している免疫細胞を刺激することを可能にする共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、機能的な一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、PSMA結合モジュール（例えば、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分を含む）、膜貫通モジュール、及び共刺激シグナル伝達モジュールを含む単一のポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、第1のポリペプチド鎖と第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1及び第2のポリペプチド鎖は一緒になって、PSMA結合モジュール（例えば、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分を含む）、膜貫通モジュール、及び共刺激シグナル伝達モジュールを形成する。いくつかの実施態様では、第1及び第2のポリペプチド鎖は別個のポリペプチド鎖であり、抗PSMA CSRは二量体などの多量体である。いくつかの実施態様では、第1及び第2のポリペプチド鎖は、例えばペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結されている。いくつかの実施態様では、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖は、少なくとも1つのジスルフィド結合によって連結されている。

20

30

CSRは、PSMA結合モジュール（例えば、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分を含む）、膜貫通モジュール、及び共刺激シグナル伝達モジュールを含む単一のポリペプチド鎖を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、第1のポリペプチド鎖と第2のポリペプチド鎖を含み、ここで、第1及び第2のポリペプチド鎖は一緒になって、PSMA結合モジュール（例えば、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分を含む）、膜貫通モジュール、及び共刺激シグナル伝達モジュールを形成する。いくつかの実施態様では、第1及び第2のポリペプチド鎖は別個のポリペプチド鎖であり、抗PSMA CSRは二量体などの多量体である。いくつかの実施態様では、第1及び第2のポリペプチド鎖は、例えばペプチド結合によって、又はジスルフィド結合などの別の化学結合によって共有結合的に連結されている。いくつかの実施態様では、第1のポリペプチド鎖及び第2のポリペプチド鎖は、少なくとも1つのジスルフィド結合によって連結されている。

【0217】

本開示の抗PSMA CSRを発現するエフェクター細胞（T細胞など）も提供される。そのようなエフェクター細胞（T細胞など）は、本明細書に記載の抗PSMA CSRをコードする核酸（又はそのような核酸を含むベクター）をエフェクター細胞（例えば、T細胞）に導入（例えば、形質導入又はトランスフェクト）することによって生成される。

40

【0218】

抗PSMA CSRにおける使用のための共刺激免疫細胞シグナル伝達ドメインの例には、限定されないが、cαTCRと協調して機能し、cαTCRの会合に続いてシグナル伝達を開始することができる、T細胞受容体（TCR）の共受容体の細胞質配列、並びに、これらの配列の任意の誘導体又は変異体、及び同じ機能的能力を有する任意の合成配列

50

が挙げられる。したがって、いくつかの実施態様では、c a T C R 及び抗 P S M A C S R を発現するエフェクター細胞（T 細胞など）が提供される。c a T C R 及び抗 P S M A C S R を発現するエフェクター細胞（T 細胞など）（すなわち、「c a T C R プラス抗 P S M A C S R エフェクター細胞」）について、以下にさらに詳細に記載する。

【0219】

T C R 単独を介して生成されたシグナルは、T 細胞の完全な活性化には不十分であること、及び二次又は共刺激シグナルも必要であることが知られている。したがって、T 細胞活性化は、2つの異なるクラスの細胞内（I C）シグナル伝達配列：T C R を介して抗原依存性の一次活性化を開始させる配列（本明細書では「一次T 細胞シグナル伝達配列」と呼ばれる）及び二次又は共刺激シグナルを提供するために抗原非依存性の様式で作用する配列（本明細書では「共刺激T 細胞シグナル伝達配列」と呼ばれる）によって媒介されることができる。

10

【0220】

刺激的様式で作用する一次免疫細胞シグナル伝達配列は、免疫受容活性化チロシンモチーフ又は I T A M として知られているシグナル伝達モチーフを含み得る。I T A M を含む一次免疫細胞シグナル伝達配列の例としては、C D 3 ζ、T C R ζ、F c R γ、F c R β、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 5、C D 2 2、C D 7 9 a、C D 7 9 b、及び C D 6 6 d に由来するものが挙げられる。「機能的」一次免疫細胞シグナル伝達配列は、適切な受容体に作動可能に結合されたときに、免疫細胞活性化シグナルを伝達することができる配列である。一次免疫細胞シグナル伝達配列の断片又は変異体を含み得る「非機能的」一次免疫細胞シグナル伝達配列は、免疫細胞活性化シグナルを伝達することができない。したがって、いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗 P S M A C S R は、I T A M を含む機能的シグナル伝達配列などの機能的一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗 P S M A C S R は、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている。

20

【0221】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A C S R は、例えば、C D 2 7、C D 2 8、4-1 B B（C D 1 3 7）、O X 4 0、C D 3 0、C D 4 0、I C O S、リンパ球機能関連抗原-1（L F A-1）、C D 2、C D 7、L I G H T、N K G 2 C、B 7-H 3、C D 8 3 と特異的に結合するリガンドなどの細胞内（I C）ドメインの全部又は一部を含む（例えば、それからなる、又は本質的にそれからなる）共刺激シグナル伝達モジュールを含む。いくつかの実施態様では、C S R は、免疫細胞共刺激分子（f C S M）の断片を含み、ここで、f C S M は、C S R 膜貫通（T M）ドメイン及び C S R 細胞内（I C）共刺激シグナル伝達ドメインを含む。例示的な I C 共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュール配列を以下に提供する：

30

4-1 B B I C シグナル伝達配列：

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL(配列番号100)

C D 2 7 I C シグナル伝達配列：

QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号10

40

1)

C D 2 8 I C シグナル伝達配列：

RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(配列番号102)

C D 3 0 I C シグナル伝達配列：

HRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGL
MSQPLMETCHSVGAAYLESPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKNIEKIYIMK
ADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLS
VEEEGKEDPLPTAASGK(配列番号183)

O X 4 0 I C シグナル伝達配列:

ALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号103)

m y c タグ + トランケートされた C D 2 8 配列:

10

EQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVV
GGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA
AYRS(配列番号104)

トランケートされた C D 2 8 配列:

IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVT
VAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(配列番号10
5)

20

m y c タグ + トランケートされた 4 - 1 B B 配列:

EQKLISEEDLAAATGPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFL
TLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL(配列番号10
6)

トランケートされた 4 - 1 B B 配列:

AAATGPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKR
GRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEEGGCEL(配列番号107)

30

m y c タグ + トランケートされた C D 2 7 配列:

EQKLISEEDLAAATGPHTLPYVSEMLEARAGHMQLADFRQLPARTLSTHWPPQRS
LCSSDFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEG
STIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号108)

トランケートされた C D 2 7 配列:

AAATGPHTLPYVSEMLEARAGHMQLADFRQLPARTLSTHWPPQRS LCSSDFIRILV
IFSGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYR
KPEPACSP(配列番号109)

40

m y c タグ + トランケートされた C D 3 0 配列:

EQKLISEEDLAAATGAPPLGTQPDCNPTPENGEAPASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPT
SAPVALSSTGKPVLDAGPVLFVWILVLVVVVGSSAFLLCHRRACRKRIRQKLHLCYPV
QTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLES
LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLA
GPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK(配
列番号110)

トランケートされたC D 3 0 配列：

10

AAATGAPPLGTQPDCNPTPENGEAPASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTG
KPVLDAGPVLFVWILVLVVVVGSSAFLLCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELV
DSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLES
LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEE
LEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK(配列番号111)

m y c タグ + トランケートされたO X 4 0 配列：

20

EQKLISEEDLAAATGDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEV
PGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQA
DAHSTLAKI(配列番号112)

トランケートされたO X 4 0 配列：

AAATGDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAIL
GLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI
(配列番号113)

30

m y c タグ + C D 8 T M 配列及びC D 2 7 I C シグナル伝達配列：

EQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC
DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPI
QEDYRKPEPACSP(配列番号114)

C D 8 T M 配列及びC D 2 7 I C シグナル伝達配列：

AAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
TCGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEP
ACSP(配列番号115)

40

m y c タグ + C D 8 T M 配列及びC D 3 0 I C シグナル伝達配列：

EQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC
 DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPR
 RSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESPLQDASPAGGPSSP
 RDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADH
 TPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK(配列番号116)

C D 8 T M配列及びC D 3 0 I Cシグナル伝達配列：

AAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
 TCGVLLLSLVITLYCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSG
 ASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVS
 TEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQET
 EPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK(配列番号117)

10

m y c タグ + C D 8 T M配列及びO X 4 0 I Cシグナル伝達配列：

EQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC
 DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQAD
 AHSTLAKI(配列番号118)

20

C D 8 T M配列及びO X 4 0 I Cシグナル伝達配列：

AAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
 TCGVLLLSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配
 列番号119)

m y c タグ + C D 8 T M配列及び4 - 1 B B I Cシグナル伝達配列：

EQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFAC
 DIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPE
 EEEGGCEL(配列番号120)

30

C D 8 T M配列及び4 - 1 B B I Cシグナル伝達配列：

AAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG
 TCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
 (配列番号121)

40

【 0 2 2 2 】

いくつかの実施態様では、本開示の抗 P S M A C S R の P S M A 結合モジュールは、
 抗 P S M A 抗体部分である。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗体部分は、F a b、
 F a b'、(F a b')₂、F v、又は単鎖 F v (s c F v) である。いくつかの実施態
 様では、抗 P S M A 抗体部分は、P S M A (例えば、細胞、例えば、がん細胞の表面上に
 発現しているか又はその表面と会合している P S M A) に特異的な抗体部分、例えば、本
 明細書の他の場所に記載されている抗 P S M A 抗体部分のうちのいずれかの C D R 又は可
 変ドメイン (V_H 及び/又は V_L ドメイン) を含む、

【 0 2 2 3 】

50

いくつかの実施態様では、本開示の抗 P S M A C S R の膜貫通モジュールは、例えば、C D 2 8、C D 3 ε、C D 3 ζ、C D 4 5、C D 4、C D 5、C D 8、C D 9、C D 1 6、C D 2 2、C D 3 3、C D 3 7、C D 6 4、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 4、C D 1 3 7、又は C D 1 5 4 に由来する 1 つ又は複数の膜貫通ドメインを含む。いくつかの実施態様では、C S R は、膜貫通タンパク質 (f T M P) の断片を含み、ここで、f T M P は、C S R 膜貫通ドメインを含む。例示的な膜貫通ドメイン (T M) 配列を以下に提供する：

C D 8 T M 配列：I Y I W A P L A G T C G V L L L S L V I T (配列番号 9 4)

4-1 B B T M 配列：I I S F F L A L T S T A L L F L L F F L T L R F S V V (配列番号 9 5)

C D 2 7 T M 配列：I L V I F S G M F L V F T L A G A L F L H (配列番号 9 6)

C D 2 8 T M 配列：F W V L V V V G G V L A C Y S L L V T V A F I I F W V (配列番号 9 7)

C D 3 0 T M 配列：P V L D A G P V L F W V I L V L V V V V G S S A F L L C (配列番号 9 8)

O X 4 0 T M 配列：V A A I L G L G L V L G L L G P L A I L L (配列番号 9 9)

【0224】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A C S R は、リガンド結合モジュール、膜貫通モジュール、及び共刺激シグナル伝達モジュールのいずれかの間にスペーサーモジュールをさらに含む。いくつかの実施態様では、スペーサーモジュールは、2 つの C S R モジュールを連結する 1 つ又は複数のペプチドリンカーを含む。いくつかの実施態様では、スペーサーモジュールは、約 5 から約 7 0 (約 5、1 0、1 5、2 0、2 5、3 0、3 5、4 0、4 5、5 0、5 5、6 0、6 5、又は 7 0 のいずれかなど、これらの値の間の任意の範囲を含む) アミノ酸長の 1 つ又は複数のペプチドリンカーを含む。

【0225】

例示的な抗 P S M A C S R のアミノ酸配列が以下の表 1 1 に提供される。抗 P S M A 配列はプレーンテキスト (すなわち、下線なし) であり、C D 2 8 (配列番号 3 7-3 8、5 1-5 5、及び 7 0 を参照)、4-1 B B (配列番号 5 6、5 7、7 1、及び 7 2 を参照)、C D 2 7 (配列番号 5 8、5 9、7 3、及び 7 4 を参照)、C D 3 0 (配列番号 6 0、6 1、7 5、及び 7 6 を参照)、O X 4 0 (配列番号 6 2、6 3、7 7、及び 7 8 を参照)、C D 8 及び C D 2 7 (配列番号 6 4、6 5、7 9、及び 8 0 を参照)、C D 8 及び C D 3 0 (配列番号 6 6、6 7、8 1、及び 8 2 を参照)、C D 8 及び O X 4 0 (配列番号 6 8、6 9、8 3、及び 8 4 を参照) に由来する配列には下線が引かれている。

【0226】

10

20

30

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSSLYASSDV WGQGT LVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 3 7)
QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQT LVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSR LLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 3 8)
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGA EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASD TAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPS KPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 5 1)
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVP DRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGA EVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS TRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASD TAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 5 2)
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPD RFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAE MKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDT AMYYCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWV LVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 5 3)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPD
 RFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAE
 MKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDT
 AMYYCARDSYYGIDVWGQGTTLTVTVSS**AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEFPGPSKPFWVLVVVGVLAC**
YSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 5 4)

10

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGTIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGTTLTVTVSS**EQKLISEEDL**AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLEFPGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLV
TVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 5 5)

20

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGTIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGTTLTVTVSS**EQKLISEEDL**AAATGPADLSPGASSVTPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRG
RKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (配列番号 5 6)

30

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGTIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGTTLTVTVSS**AAATGPADLSPGASSVTPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQ**
PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (配列番号 5 7)

40

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGTIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGTTLTVTVSS**EQKLISEEDL**AAATGPHTLPYVSEMLEARTAGHMOTLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLCSDFIRILVIF
SGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRSNKGESPVPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号 5 8)

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGTIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV

40

TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGT LVT VSS EQKLISEEDL AAATGTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT
CGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGESPV EPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号 6 4)

QSVLTQPPSVSGAPGQRTV TISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLGSRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGT LVT VSS AAATGTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVI
TLYCQRRKYRSNKGESPV EPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号 6 5)

10

QSVLTQPPSVSGAPGQRTV TISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLGSRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGT LVT VSS EQKLISEEDL AAATGTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT
CGVLLLSLVITLYCHRRACRKRI RQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHS
VGAAYLES LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGT VKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEAD
HTPHYEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK (配列番号 6 6)

20

QSVLTQPPSVSGAPGQRTV TISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLGSRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGT LVT VSS AAATGTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT CGVLLLSLVI
TLYCHRRACRKRI RQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLES LPL
LQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGT VKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYEQET
EPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK (配列番号 6 7)

30

QSVLTQPPSVSGAPGQRTV TISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
 AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLGSRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSF
 TSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDV
 WGQGT LVT VSS EQKLISEEDL AAATGTTTPAPRPPTPAPT IASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGT
CGVLLLSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAH KPPGGGSGFRTPIQEEQADAHSTLAKI (配列番号 6 8)

40

QSVLTQPPSVSGAPGQRTV TISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ

(配列番号 6 9)

(配列番号 7 0)

(配列番号 7 1)

(配列番号 7 2)

(配列番号 7 3)

LVTVSSAAATGPTHLPPYVSEMLEARTAGHMOTLADFRQLPARTLSTHWPPQRS LCSSDFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFL

[illegible]

LSLVITLYCQRRKYRSNKGESPVPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号 7 9)

QAVLTQPPSASGTPGQRTVITISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA
SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT
LVTVSSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQ
RRKYRSNKGESPVPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号 8 0)

10

QAVLTQPPSASGTPGQRTVITISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA
SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT
LVTVSSEQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYCHRRACRKRIQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAY
LESPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHY
PEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK (配列番号 8 1)

20

QAVLTQPPSASGTPGQRTVITISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA
SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT
LVTVSSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCH
RRACRKRIQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESPLQDAS
PAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLG
SCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK (配列番号 8 2)

30

QAVLTQPPSASGTPGQRTVITISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA
SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT
LVTVSSEQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (配列番号 8 3)

40

QAVLTQPPSASGTPGQRTVITISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFA
SYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYICARDSYYGIDVWGQGT

LVTVSSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCA
LYLLRRDQRLPPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (配列番号 84)

【0227】

表11の太字の配列は、m y c タグ E Q K L I S E E D L (配列番号136)に対応する。表11の太字のイタリック体の配列は、シグナルペプチド M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G (配列番号128)に対応する。

【0228】

いくつかの実施態様では、C S R は、2つの抗 P S M A 抗体部分を含む二価抗 P S M A C S R である。いくつかの実施態様では、二価抗 P S M A C S R は、例えば、同一の V_H 配列及び同一の V_L 配列を含む2つの抗 P S M A 抗体部分を含む、ホモ二価である。いくつかの実施態様では、二価抗 P S M A C S R は、ヘテロ二価であり、例えば、2つの異なる抗 P S M A 抗体部分を含み、ここで、各抗 P S M A 抗体部分は、異なる V_H 配列及び／又は異なる V_L 配列を含む。4つの例示的なヘテロ二価抗 P S M A C S R のアミノ酸配列を以下に示す(すなわち、配列番号93及び配列番号183-185)。クローン A 抗 P S M A s c F v 配列はプレーンテキストであり(すなわち、下線なし)、クローン B 抗 P S M A s c F v には下線が引かれ、リンカー配列は太字であり、m y c タグ配列(存在する場合)は太字で下線が引かれ、C D 28 に由来する配列はイタリック体である。

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRTI
 SC SGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNQRP SGVPDRFSGSKSGTSASLAIS
 GLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA
 EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDD
 SDTRYGPAFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARD SYYGIDVWGQGT L V
 TVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWW
 LVVVGGVLACYSL LVTVAFIIFWVR SKRSRL LHS DYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP
 R D F A A Y R S (配列番号93)

10

20

30

40

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVSS GGGGSGGGGSQAVLTQPPSASGTPGQRTI
SCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIS
GLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA
EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDD
SDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGT L
TVSS AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVL VVGGLA
CYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
(配列番号185)

10

QAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARDSYYGIDVWGQGT LTVSS GGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTG
SSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQA
EDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLV
QSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSP
SFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LTV
SSE QKLISEEDL AAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVL V
VVGGLACYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRD
FAAYRS(配列番号184)

20

30

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSEYIDVWGGGTLVTVSSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSGAPGQRTVISC TG
 SSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQA
 EDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLGSRGGGGSGGGGSLEMAEVQLV
 QSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGTIYPGDS DTRYSP
 SFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGGGTLVTV
 SSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFWVLVVVGGVLACY
 SLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS(配列
 番号186)

10

【0229】

いくつかの実施態様では、配列番号37-38、55-84及び93のいずれか1つは、N末端シグナルペプチド、例えば、配列番号128のシグナルペプチドをさらに含む。いくつかの実施態様では、配列番号37-38、51-84、及び93のいずれか1つは、ペプチドリンカー及び／又はペプチドタグをさらに含む（例えば、表6A及び6Bを参照のこと）。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRは、配列番号37-38、51-84、及び93のいずれか1つに対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

20

【0230】

本開示はまた、c a T C R又はC A Rを発現するエフェクター細胞（T細胞など）及び抗PSMA CSR（本明細書に記載の抗PSMA CSRなど）を提供する。そのようなエフェクター細胞は、本明細書では「c a T C Rプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞」とも呼ばれる。いくつかの実施態様では、c a T C Rプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞（T細胞など）は、本明細書に記載の誘導性プロモーターのいずれかを含む誘導性プロモーターに作動可能に連結された抗PSMA CSRをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施態様では、c a T C Rプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞（T細胞など）における抗PSMA CSRの発現は、c a T C Rを介したシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかのそのような実施態様では、c a T C Rプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞（T細胞など）は、c a T C Rを介したシグナル伝達にตอบสนองするプロモーター又は調節エレメントに作動可能に連結された抗PSMA CSRをコードする核酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CSRをコードする核酸配列は、活性化T細胞（N F A T）由来のプロモーターの核因子に作動可能に連結されている。いくつかの実施態様では、N F A T由来のプロモーターは、N F A T由来の最小プロモーターである（例えば、Durand, D. et. al., Molec. Cell. Biol. 8, 1715-1724 (1988); Clipstone, NA, Crabtree, GR. Nature. 1992 357(6380): 695-7; Chmielewski, M., et al. Cancer research71.17 (2011): 5697-5706; 及びZhang, L., et al. Molecular therapy 19.4 (2011): 751-759を参照のこと）。いくつかの実施態様では、c a T C Rプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞（T細胞など）によって発現されるc a T C Rは、抗PSMA c a T C Rである。いくつかの実施態様では、c a T C Rプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞（T細胞など）によって発現されるc a T C Rは、抗

30

40

50

P S M A c a T C Rではなく、異なる抗原を標的とする。C S Rのさらなる記述は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる2017年4月26日に出願された米国出願第62/490578号に見出すことができる。

【0231】

構築物の組み合わせ

また、本明細書に記載の少なくとも2つの異なる抗P S M A構築物を含む構築物の組み合わせも提供される。いくつかの実施態様では、少なくとも2つの異なる抗P S M A構築物は、同じフォーマット、例えば、少なくとも2つの異なる抗体（例えば、2つの異なる完全長I g G抗体又は2つの異なる二重特異性抗体）、少なくとも2つの異なるC A R、少なくとも2つの異なるc a T C R、又は少なくとも2つの異なるC S Rである。いくつかの実施態様では、少なくとも2つの異なる抗P S M A構築物は、異なるフォーマット、例えば、抗体及びC A R；抗体及びc a T C R；C A R及びC S R；c a T C R及びC S Rなどである。

10

【0232】

いくつかの実施態様では、構築物の組み合わせは、抗P S M A c a T C R及び抗P S M A C S R（すなわち、「抗P S M A c a T C R+抗P S M A C S R構築物の組み合わせ」）を含み、抗P S M A c a T C Rは、

配列番号31に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号32に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

20

配列番号34に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号35に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

30

配列番号165に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号166に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

配列番号167に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号168に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

40

配列番号169に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号170に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

50

5 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

配列番号171に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号172に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

配列番号173に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号174に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

配列番号175に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号176に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

配列番号177に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号178に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2；

配列番号179に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号180に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2を含み；

ここで、抗PSMA CSRは、配列番号37-38、55-84、及び93のいずれか1つに対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0233】

いくつかの実施態様では、抗PSMA caTCRは、配列番号31に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号32に対して少なくとも85 % (例えば、少なくとも約85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、又は100 %のいずれか1つ)の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2を含み

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

50

50

【 0 2 3 7 】

とも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 1、及び配列番号 166 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 2 を含むホモ二価抗 P S M A c a T C R であり、抗 P S M A C S R は、配列番号 70 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 165 を含む鎖 1 及び配列番号 166 を含む鎖 2 を含み、抗 P S M A C S R は、配列番号 70 のアミノ酸配列を含む。

10

【0238】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 165 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 1、及び配列番号 166 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 2 を含むホモ二価抗 P S M A c a T C R であり、抗 P S M A C S R は、配列番号 38 及び 70-84 のいずれか 1つに対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 165 を含む鎖 1 及び配列番号 166 を含む鎖 2 を含み、抗 P S M A C S R は、配列番号 38 及び 70-84 のいずれか 1つのアミノ酸配列を含む。

20

【0239】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 169 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 1、及び配列番号 170 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 2 を含むホモ二価抗 P S M A c a T C R であり、抗 P S M A C S R は、配列番号 55 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 169 を含む鎖 1 及び配列番号 170 を含む鎖 2 を含み、抗 P S M A C S R は、配列番号 55 のアミノ酸配列を含む。

30

40

【0240】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R は、配列番号 169 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 1、及び配列番号 170 に対して少なくとも 85%（例えば、少なくとも約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は 100%のいずれか 1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖 2 を含むホモ二価抗 P S M A c a T C R であり、抗 P S M A C S R は、配列番号 37 及び

50

55-69のいずれか1つに対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号169を含む鎖1及び配列番号170を含む鎖2を含み、抗PSMA C S Rは、配列番号37及び55-69のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0241】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号167に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号168に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2を含むホモ二価抗PSMA c a T C Rであり、抗PSMA C S Rは、配列番号38及び70-84のいずれか1つに対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号167を含む鎖1及び配列番号168を含む鎖2を含み、抗PSMA C S Rは、配列番号38及び70-84のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0242】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号171に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖1、及び配列番号172に対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む鎖2を含むホモ二価抗PSMA c a T C Rであり、抗PSMA C S Rは、配列番号37及び55-69のいずれか1つに対して少なくとも85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%のいずれか1つ）の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C Rは、配列番号171を含む鎖1及び配列番号172を含む鎖2を含み、抗PSMA C S Rは、配列番号37及び55-69のいずれか1つのアミノ酸配列を含む。

【0243】

いくつかの実施態様では、本明細書で提供される構築物の組み合わせの抗PSMA c a T C R及び抗PSMA C S Rは、別個の核酸にコードされている。いくつかの実施態様では、別個の核酸は、細胞（本明細書の他の場所でさらに詳細に記載される抗PSMA エフェクター細胞など）においてそれぞれ発現され（例えば、別個に）、翻訳される（例えば、別個に）。いくつかの実施態様では、本明細書で提供される構築物の組み合わせの抗PSMA c a T C R及び抗PSMA C S Rは、同じ核酸（例えば、単一の核酸）にコードされている。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C R及び抗PSMA C S R構築物の組み合わせをコードする単一の核酸が発現され、翻訳されて、単一のポリペプチドを生成し、これは続いて、別個のポリペプチド、例えば、抗PSMA c a T C Rポリペプチド及び抗PSMA C S Rポリペプチドにプロセッシングされる（例えば、翻訳中又は翻訳後に切断されるなど）。

【0244】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C R+抗PSMA C S R構築物の組み

合わせをコードする単一の核酸は、配列番号 85-90 のいずれか 1 つを含むポリペプチドを発現し、そのアミノ酸配列は以下に提供される：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWV
RQMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHV KPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMM
SLTVLGLRMLFAKT VAVNFLTAKLFFLR AKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNP
GPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDV
HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS
YDSSLSGYVFGTGT KVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT
VAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFA
IITCCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPG
STGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN
RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGT KVTVLG
SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIG
WVRQMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA
MYYCARS MGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKS
NGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLL
HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号85)

10

20

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWV
RQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
KD YFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKV DKRVEPKSCEVKTDSTDHV KPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMM
SLTVLGLRMLFAKT VAVN FLLTAKLFFLR AKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNP
GPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDV 10
HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS
YDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT
VAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFA
IITCCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPG
STGQAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQ
RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLG 20
SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWV
GWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDT
AMYYCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTII
HVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVR SKRSRLLHSDY
MNMTPRRPGPTRKH YQPYAPPRDFAAYRS (配列番号86)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGW
VRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
YYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLT
VLGLRMLFAKTAVVNFLLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWY
10
QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
DSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA
WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE
KTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIIT
CCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGS
TGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR
20
PSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGS
RGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW
VRQMPGKGLEWMGIYPGDS TRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
YYCARSMGSSLYASSDVWGQGTTLVTVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSN
GTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLH
SDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号87)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGW
VRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
YYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLT
VLGLRMLFAKTAVAVNFLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWY 10
QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
DSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA
WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE
KTVAPTECS *PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIIT*
CCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGS
TGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQR
PSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGS 20
RGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVG
WVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA
MYYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIH
VKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYM
NMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号88)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHW
YQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDS
SLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESL
KISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSGGGGSEVQLV
QSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSP
SFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT V
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKT DSTDH
VKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLF
FLRAKRS GSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQS
VLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV
PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKAN
PTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDN
CSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKGSGGATN
FSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTIS
CSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIS
GLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSLEMA
EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDD
SDTRYGPAFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSDSYGIDVWGQGT LVT
TVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWV
LVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP
RDFAAYRS (配列番号89)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWY
QQLPGTAPKLLMYSSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
DSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGE
SLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISA
DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGTTLTVSSGGGGSEVQLVQS
GAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGP
AFQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGTTLTVSSAST 10
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTSTDHVKPKE
TENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFLRK
RSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQP
PSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSSNNQRPSGVPDRFS
GSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTL
FPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAA 20
SSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDA
NDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLK
QAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSTGS
SSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAE
DEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQ
SGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIYPGDSDTRYSPS
FQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGTTLTVS 30
SEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLV
VGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDF
AAYRS(配列番号90)

【0245】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C R + 抗PSMA C S R構築物の組み合わせをコードする単一の核酸は、配列番号91-92及び181-182のいずれか1つに対して少なくとも約85%（例えば、少なくとも約85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%のいずれか1つ）の配列同一性を有するポリペプチドを発現する。 40

【0246】

いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C R + 抗PSMA C S R構築物の組み合わせをコードする単一の核酸は、（N末端からC末端まで）抗PSMA c a T C R構築物のアミノ酸配列（複数可）と、ペプチドリンカーと、抗PSMA C S R構築物のアミノ酸配列とを含むポリペプチドを発現する。いくつかの実施態様では、抗PSMA c a T C R + 抗PSMA C S R構築物の組み合わせをコードする単一の核酸は、（N末端からC末端まで）抗PSMA C S R構築物のアミノ酸配列と、ペプチドリンカーと、抗PSMA c a T C R構築物のアミノ酸配列（複数可）とを含むポリペプチドを発現する。いくつかの実施態様では、核酸は、例えば、1つ又は複数のペプチドリンカー、ペプチ 50

ドスペーサー、ペプチドタグ、シグナルペプチド及び／又は他のアミノ酸配列をさらにコードする（例示的なリンカー配列及びタグ配列については、例えば、表 6 A 及び 6 B を参照のこと）。

【0247】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R + 抗 P S M A C S R 構築物の組み合わせをコードする単一の核酸は、以下の表 1 2 の行 1 - 1 2 8 のそれぞれに記載された配列を含むポリペプチドを発現する。

【0248】

表12

核酸によってコードされるcaTCR+CSRの組み合わせ		核酸によってコードされるポリペプチド中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
1	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR (例えば、配列番号 89を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1A (配列番号70)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
2	B-CSR-1A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR (例えば、パラグラフ [0445]を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1A (配列番号70)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
3	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR (例えば、パラグラフ [0446]を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1B (配列番号38)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
4	B-CSR-1B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR (例えば、パラグラフ [0447]を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1B (配列番号38)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
5	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2A (配列番号71)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
6	B-CSR-2A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2A (配列番号71)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
7	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2B (配列番号72)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
8	B-CSR-2B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2B (配列番号72)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
					(配列番号133)
9	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3A (配列番号73)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
10	B-CSR-3A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3A (配列番号73)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
11	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3B (配列番号74)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
12	B-CSR-3B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3B (配列番号74)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
13	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4A (配列番号75)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
14	B-CSR-4A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4A (配列番号75)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
15	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4B (配列番号76)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
16	B-CSR-4B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4B (配列番号76)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
17	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-5A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5A (配列番号77)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
18	B-CSR-5A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5A (配列番号77)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
19	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5B (配列番号78)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
20	B-CSR-5B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5B (配列番号78)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
21	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6A (配列番号79)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
22	B-CSR-6A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6A (配列番号79)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
23	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6B (配列番号80)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
24	B-CSR-6B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6B (配列番号80)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
25	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-7A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7A (配列番号81)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
26	B-CSR-7A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7A (配列番号81)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
27	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7B (配列番号82)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
28	B-CSR-7B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7B (配列番号82)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
29	Ax2-caTCR-1	caTCR-リンカー-	Ax2-caTCR-1	B-CSR-8A	P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	+ B-CSR-8A	CSR	(配列番号47)	(配列番号83)	(配列番号132)
30	B-CSR-8A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-8A (配列番号83)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
31	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-8B (配列番号84)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
32	B-CSR-8B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-8B (配列番号84)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
33	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR (例えば、配列番号 90)	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1A (配列番号55)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
34	A-CSR-1A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1A (配列番号55)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
35	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1B (配列番号37)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
36	A-CSR-1B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1B (配列番号37)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
37	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2A (配列番号56)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
38	A-CSR-2A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2A (配列番号56)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
39	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2B (配列番号57)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
40	A-CSR-2B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2B (配列番号57)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
41	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3A (配列番号58)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
42	A-CSR-3A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3A (配列番号58)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
43	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3B (配列番号59)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
44	A-CSR-3B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3B (配列番号59)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
45	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4A (配列番号60)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
46	A-CSR-4A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4A (配列番号60)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
47	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4B (配列番号61)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
48	A-CSR-4B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4B (配列番号61)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
49	Bx2-caTCR-1	caTCR-リンカー-	Bx2-caTCR-1	A-CSR-5A	P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	+ A-CSR-5A	CSR	(配列番号49)	(配列番号62)	(配列番号132)
50	A-CSR-5A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-5A (配列番号62)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
51	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-5B (配列番号63)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
52	A-CSR-5B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-5B (配列番号63)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
53	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6A (配列番号64)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
54	A-CSR-6A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6A (配列番号64)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
55	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6B (配列番号65)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
56	A-CSR-6B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6B (配列番号65)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
57	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-7A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7A (配列番号66)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
58	A-CSR-7A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7A (配列番号66)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
59	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7B (配列番号67)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
60	A-CSR-7B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7B (配列番号67)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
61	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-8A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8A (配列番号68)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
62	A-CSR-8A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8A (配列番号68)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
63	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8B (配列番号69)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
64	A-CSR-8B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8B (配列番号69)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
65	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1A (配列番号70)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
66	B-CSR-1A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1A (配列番号70)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
67	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1B (配列番号38)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
68	B-CSR-1B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1B (配列番号38)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
69	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2A (配列番号71)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
70	B-CSR-2A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2A (配列番号71)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
71	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2B (配列番号72)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
72	B-CSR-2B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2B (配列番号72)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
73	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3A (配列番号73)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
74	B-CSR-3A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3A (配列番号73)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
75	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3B (配列番号74)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
76	B-CSR-3B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3B (配列番号74)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
77	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-4A (配列番号75)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
78	B-CSR-4A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-4A (配列番号75)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
79	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-4B (配列番号76)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
80	B-CSR-4B +	CSR-リンカー-	Ax2-caTCR-2	B-CSR-4B	フューリン切断部位

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	Ax2-caTCR-2	caTCR	(配列番号48)	(配列番号76)	+P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
81	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-5A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5A (配列番号77)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
82	B-CSR-5A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5A (配列番号77)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
83	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5B (配列番号78)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
84	B-CSR-5B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5B (配列番号78)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
85	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6A (配列番号79)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
86	B-CSR-6A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6A (配列番号79)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
87	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6B (配列番号80)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
88	B-CSR-6B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6B (配列番号80)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
89	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-7A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7A (配列番号81)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
90	B-CSR-7A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7A (配列番号81)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
					(配列番号133)
91	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7B (配列番号82)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
92	B-CSR-7B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7B (配列番号82)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
93	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-8A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8A (配列番号83)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
94	B-CSR-8A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8A (配列番号83)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
95	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8B (配列番号84)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
96	B-CSR-8B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8B (配列番号84)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
97	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1A (配列番号55)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
98	A-CSR-1A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1A (配列番号55)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
99	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1B (配列番号37)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
100	A-CSR-1B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1B (配列番号37)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
101	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2A (配列番号56)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
102	A-CSR-2A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2A (配列番号56)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
103	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2B (配列番号57)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
104	A-CSR-2B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2B (配列番号57)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
105	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3A (配列番号58)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
106	A-CSR-3A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3A (配列番号58)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
107	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3B (配列番号59)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
108	A-CSR-3B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3B (配列番号59)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
109	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4A (配列番号60)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
110	A-CSR-4A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4A (配列番号60)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

核酸によってコード されるcaTCR+CSRの組 み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
111	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4B (配列番号61)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
112	A-CSR-4B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4B (配列番号61)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
113	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-5A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5A (配列番号62)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
114	A-CSR-5A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5A (配列番号62)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
115	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5B (配列番号63)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
116	A-CSR-5B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5B (配列番号63)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
117	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6A (配列番号64)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
118	A-CSR-6A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6A (配列番号64)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
119	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6B (配列番号65)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
120	A-CSR-6B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6B (配列番号65)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
121	Bx2-caTCR-2	caTCR-リンカー-	Bx2-caTCR-2	A-CSR-7A	P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

核酸によってコードされるcaTCR+CSRの組み合わせ		核酸によってコードされるポリペプチド中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	+ A-CSR-7A	CSR	(配列番号50)	(配列番号66)	(配列番号132)
122	A-CSR-7A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-7A (配列番号66)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
123	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-7B (配列番号67)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
124	A-CSR-7B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-7B (配列番号67)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
125	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-8A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8A (配列番号68)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
126	A-CSR-8A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8A (配列番号68)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
127	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8B (配列番号69)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
128	A-CSR-8B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8B (配列番号69)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

【0249】

いくつかの実施態様では、表12の行1-128のいずれか1つの抗PSMA caTCR+抗PSMA CSRをコードする単一の核酸は、（例えば、caTCRの鎖1及び／又は鎖2をコードする配列の上流及び／又は抗PSMA CSRをコードする配列の上流に）シグナルペプチドをさらにコードする。一実施態様では、シグナルペプチドは、配列番号128のアミノ酸配列を含む。特定のリンカーは、表12の行1-128に記載されているが、代替リンカーが使用されてもよい（例えば、表6Aを参照）。いくつかの実施態様では、表12の行1-128のいずれか1つの抗PSMA caTCR+抗PSMA CSRをコードする単一の核酸は、1つ又は複数のペプチドリンカー（例えば、切断可能なリンカー）及び／又はペプチドタグをさらにコードする（例えば、表6A及び6Bを参照）。

40

【0250】

抗PSMAエフェクター細胞

本明細書で提供されるのは、抗PSMA CAR、抗PSMA caTCR、抗PSM

50

A 多重特異性構築物（例えば、タンデム d i - s c F v などのタンデム s c F v）、抗 P S M A C S R、若しくは本明細書に記載の抗 P S M A 構築物の組み合わせを含む、発現する、又はそれらと会合したエフェクター細胞（例えば、T 細胞などの免疫細胞、例えば、 $\alpha \beta$ T 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、細胞傷害性 T 細胞、ヘルパー T 細胞、又はナチュラルキラー T 細胞）である。そのようなエフェクター細胞は、「抗 P S M A エフェクター細胞」とも呼ばれる。

【0251】

いくつかの実施態様では、P S M A に関連する疾患（がん、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんなど）の持続的な制御につながる可能性のある長期的な持続性をもたらす、本開示の抗 P S M A エフェクター細胞（本明細書では「抗 P S M A 免疫細胞」又は「抗 P S M A T 細胞」とも呼ばれる）は、i n v i v o で複製することができる。

【0252】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A エフェクター細胞（リンパ球、例えば、T 細胞など）は、本明細書に記載の抗 P S M A C A R を含む、発現する、又はそれと会合した抗 P S M A C A R エフェクター細胞である。いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R エフェクター細胞は、多重特異性構築物をさらに含む（例えば、発現する）。そのようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗 P S M A C A R プラス多重特異性構築物エフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現が誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現は、抗 P S M A C A R によるシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデム s c F v、ダイアボディ（D b）、単鎖ダイアボディ（s c D b）、二重親和性リターゲティング（D A R T）抗体、及び二重可変ドメイン（D V D）抗体からなる群から選択される。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデム s c F v である。このようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗 P S M A C A R プラスタンデム s c F v エフェクター細胞」とも呼ばれる。いくつかの実施態様では、タンデム s c F v は、タンデム d i - s c F v、例えば、ペプチドリンカーによって任意選択で連結された、第 1 の s c F v 及び第 2 の s c F v を含むタンデム d i - s c F v である。いくつかの実施態様では、第 1 の s c F v は、T 細胞表面抗原（例えば、C D 3 又は C D 1 6 a）、可溶性免疫抑制剤（例えば、T G F - β 1 ~ 4、I L - 4、又は I L - 1 0）、又は免疫チェックポイント阻害剤を標的とする。いくつかの実施態様では、第 2 の s c F v は、疾患関連抗原を標的とする。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、P S M A 以外の抗原である。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、P S M A である。いくつかの実施態様では、タンデム d i - s c F v は、P S M A（がん細胞などの細胞の表面上に発現する P S M A など）に特異的に結合する抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及び C D 3 に特異的に結合する第 2 の結合部分を含む抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v である。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、配列番号 2 5 - 2 8 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、N F A T 由来のプロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。いくつかの実施態様では、N F A T 由来のプロモーターは、N F A T 由来の最小プロモーターである。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、I L - 2 プロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。

【0253】

いくつかの実施態様では、抗 P S M A C A R エフェクター細胞は、C S R をさらに含む（例えば、発現する）（例えば、2 0 1 7 年 4 月 2 6 日に出願された米国特許出願第 6 2 / 4 9 0 5 7 8 号を参照のこと。これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。そのようなエフェクター細胞は、「抗 P S M A C A R プラス C S R エフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、C S R は、例えば、本明細書に記載されるような、抗 P S M A C S R（すなわち、P S M A 結合モジュールを含む C S R）である

。いくつかの実施態様では、C S Rは、P S M A以外の標的リガンドに結合する。

【0254】

いくつかの実施態様では、抗P S M Aエフェクター細胞（リンパ球、例えば、T細胞など）は、本明細書に記載の抗P S M A c a T C Rを含む、発現する、又はそれと会合した抗P S M A c a T C Rエフェクター細胞である。いくつかの実施態様では、抗P S M A c a T C Rエフェクター細胞は、多重特異性構築物をさらに含む（例えば、発現する）。そのようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗P S M A c a T C Rプラス多重特異性構築物エフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現が誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現は、抗P S M A c a T C Rによるシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかの実施態様では、
10 多重特異性構築物は、タンデムs c F v、ダイアボディ（D b）、単鎖ダイアボディ（s c D b）、二重親和性リターゲティング（D A R T）抗体、及び二重可変ドメイン（D V D）抗体からなる群から選択される。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデムs c F vである。このようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗P S M A c a T C Rプラスタンデムs c F vエフェクター細胞」とも呼ばれる。いくつかの実施態様では、タンデムs c F vは、タンデムd i - s c F v、例えば、ペプチドリンカーによって任意選択で連結された、第1のs c F v及び第2のs c F vを含むタンデムd i - s c F vである。いくつかの実施態様では、第1のs c F vは、T細胞表面抗原（例えば、C D 3又はC D 1 6 a）、可溶性免疫抑制剤（例えば、T G F - β 1 ~ 4、I L - 4、又はI L - 10）、又は免疫チェックポイント阻害剤を標的とする。いくつかの実施態様では、
20 第2のs c F vは、疾患関連抗原を標的とする。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、P S M A以外の抗原である。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、P S M Aである。いくつかの実施態様では、タンデムd i - s c F vは、P S M A（がん細胞などの細胞の表面上に発現するP S M Aなど）に特異的に結合する抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びC D 3に特異的に結合する第2の結合部分を含む抗P S M A抗C D 3タンデムd i - s c F vである。いくつかの実施態様では、抗P S M A抗C D 3タンデムd i - s c F vは、配列番号2 5 - 2 8のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗P S M A抗C D 3タンデムd i - s c F vは、N F A T由来のプロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。いくつかの実施態様では、N F A T由来のプロモーターは、N F A T由来の最小プロモーターである。
30 いくつかの実施態様では、抗P S M A抗C D 3タンデムd i - s c F vは、I L - 2プロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。

【0255】

いくつかの実施態様では、抗P S M A c a T C Rエフェクター細胞は、C S Rを含む（例えば、発現する）（例えば、2 0 1 7年4月2 6日に出願された米国特許出願第6 2 / 4 9 0 5 7 8号を参照のこと。これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。そのようなエフェクター細胞は、「抗P S M A c a T C RプラスC S Rエフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、C S Rは、例えば、本明細書に記載されるような、抗P S M A C S R（すなわち、P S M A結合モジュールを含むC S R）である。いくつかの実施態様では、C S Rは、P S M A以外の標的リガンドに結合する。いくつかの実施態様では、抗P S M A c a T C RプラスC S Rエフェクター細胞は、本明細書の他の場所に記載される抗P S M A c a T C Rプラス抗P S M A C S R構築物の組み合わせのいずれかを含む（例えば、発現する）。
40

【0256】

いくつかの実施態様では、エフェクター細胞（リンパ球、例えば、T細胞など）は、例えば、本明細書に記載されているような、P S M A及び抗P S M A多重特異性構築物（すなわち、抗P S M Aタンデムs c F v、例えば、抗P S M Aタンデムd i - s c F v）を標的としないC A R又はc a T C Rを含む。いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は、「C A Rプラス抗P S M Aタンデムs c F vエフェクター細胞」又は「c a T C Rプラス抗P S M Aタンデムs c F vエフェクター細胞」と呼ばれる。
50

【0257】

いくつかの実施態様では、エフェクター細胞（リンパ球、例えば、T細胞など）は、例えば、本明細書に記載されているような、PSMA及び抗PSMA CSR（すなわち、PSMA結合モジュールを含むCSR）を標的としないCAR又はc a TCRを含む。いくつかの実施態様では、エフェクター細胞は、「CARプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞」又は「c a TCRプラス抗PSMA CSRエフェクター細胞」と呼ばれる。

【0258】

本明細書に記載のエフェクター細胞を生成する方法も本明細書に提供される。

【0259】

例えば、抗PSMA CARエフェクター細胞、例えば、抗PSMA CAR免疫細胞又は抗PSMA CAR T細胞を生成する方法であって、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を、抗PSMA CARをコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変する（すなわち、形質導入又はトランスフェクトする）ことを含む方法が提供される。

【0260】

いくつかの実施態様では、本方法は、抗PSMA CARエフェクター細胞を、多重特異性構築物をコードするさらなる核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARプラス多重特異性構築物エフェクター細胞（「抗PSMA CARプラスタンデムs c Fvエフェクター細胞」など）を生成する方法は、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を、抗PSMA c a TCR及び多重特異性構築物をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変する（すなわち、形質導入又はトランスフェクトする）ことを含む。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現が誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現は、抗PSMA CARによるシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデムs c Fv、ダイアボディ（Db）、単鎖ダイアボディ（s c Db）、二重親和性リターゲティング（DART）抗体、及び二重可変ドメイン（DVD）抗体からなる群から選択される。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデムs c Fvである。このようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗PSMA c a TCRプラスタンデムs c Fvエフェクター細胞」とも呼ばれる。いくつかの実施態様では、タンデムs c Fvは、タンデムd i - s c Fv、例えば、ペプチドリンカーによって任意選択で連結された、第1のs c Fv及び第2のs c Fvを含むタンデムd i - s c Fvである。いくつかの実施態様では、第1のs c Fvは、T細胞表面抗原（例えば、CD3又はCD16a）、可溶性免疫抑制剤（例えば、TGF- β 1~4、IL-4、又はIL-10）、又は免疫チェックポイント阻害剤を標的とする。いくつかの実施態様では、第2のs c Fvは、疾患関連抗原を標的とする。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、PSMA以外の抗原である。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、PSMAである。いくつかの実施態様では、タンデムd i - s c Fvは、PSMA（がん細胞などの細胞の表面上に発現するPSMAなど）に特異的に結合する抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びCD3に特異的に結合する第2の結合部分を含む抗PSMA抗CD3タンデムd i - s c Fvである。いくつかの実施態様では、抗PSMA抗CD3タンデムd i - s c Fvは、配列番号25-28のいずれか1つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA抗CD3タンデムd i - s c Fvは、NFAT由来のプロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。いくつかの実施態様では、NFAT由来のプロモーターは、NFAT由来の最小プロモーターである。いくつかの実施態様では、抗PSMA抗CD3タンデムd i - s c Fvは、IL-2プロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。

10

20

30

40

50

【0261】

いくつかの実施態様では、本方法は、抗PSMA CARエフェクター細胞を、標的リガンドに特異的に結合するリガンド結合ドメインと、免疫細胞に刺激シグナルを提供することができる共刺激シグナル伝達ドメインとを含むCSRをコードするさらなる核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA CARプラスCSRエフェクター細胞を生成する方法は、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を、抗PSMA CARとCSRをコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変する（すなわち、形質導入又はトランスフェクトする）ことを含む。CSRに関するさらなる記述は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる2017年4月26日に出願された米国出願第62/490578号に記載されている。いくつかの実施態様では、CSRの発現は、抗PSMA CARを介したシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかの実施態様では、CSRは、例えば、本明細書に記載されるような、抗PSMA CSR（すなわち、PSMA結合モジュールを含むCSR）である。いくつかの実施態様では、CSRは、PSMA以外の標的リガンドに結合する。

10

【0262】

抗PSMA c α T β CRエフェクター細胞、例えば、抗PSMA c α T β CR免疫細胞又は抗PSMA c α T β CR T細胞を生成する方法であって、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を、抗PSMA c α T β CRをコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変する（すなわち、形質導入又はトランスフェクトする）ことを含む方法も提供される。

20

【0263】

いくつかの実施態様では、本方法は、抗PSMA c α T β CRエフェクター細胞を、多重特異性構築物をコードするさらなる核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA c α T β CRプラス多重特異性構築物エフェクター細胞（「抗PSMA c α T β CRプラスタンデムscFvエフェクター細胞」など）を生成する方法は、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を、抗PSMA c α T β CR及び多重特異性構築物をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変する（すなわち、形質導入又はトランスフェクトする）ことを含む。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現が誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物の発現は、抗PSMA c α T β CRによるシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデムscFv、ダイアボディ（Db）、単鎖ダイアボディ（scDb）、二重親和性リターゲティング（DART）抗体、及び二重可変ドメイン（DVD）抗体からなる群から選択される。いくつかの実施態様では、多重特異性構築物は、タンデムscFvである。このようなエフェクター細胞は、本明細書では「抗PSMA c α T β CRプラスタンデムscFvエフェクター細胞」とも呼ばれる。いくつかの実施態様では、タンデムscFvは、タンデムdi-scFv、例えば、ペプチドリンカーによって任意選択で連結された、第1のscFv及び第2のscFvを含むタンデムdi-scFvである。いくつかの実施態様では、第1のscFvは、T細胞表面抗原（例えば、CD3又はCD16a）、可溶性免疫抑制剤（例えば、TGF- β 1~4、IL-4、又はIL-10）、又は免疫チェックポイント阻害剤を標的とする。いくつかの実施態様では、第2のscFvは、疾患関連抗原を標的とする。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、PSMA以外の抗原である。いくつかの実施態様では、疾患関連抗原は、PSMAである。いくつかの実施態様では、タンデムdi-scFvは、PSMA（がん細胞などの細胞の表面上に発現するPSMAなど）に特異的に結合する抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びCD3に特異的に結合する第2の結合部分を含む抗PSMA抗CD3タンデムdi-

30

40

50

s c F vである。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、配列番号 2 5 - 2 8 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列を含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、N F A T 由来のプロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。いくつかの実施態様では、N F A T 由来のプロモーターは、N F A T 由来の最小プロモーターである。いくつかの実施態様では、抗 P S M A 抗 C D 3 タンデム d i - s c F v は、I L - 2 プロモーターに作動可能に連結された核酸によってコードされる。

【0264】

いくつかの実施態様では、本方法は、抗 P S M A c a T C R エフェクター細胞を、標的リガンドに特異的に結合するリガンド結合ドメインと、免疫細胞に刺激シグナルを提供することができる共刺激シグナル伝達ドメインとを含む C S R をコードするさらなる核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。いくつかの実施態様では、抗 P S M A c a T C R プラス C S R エフェクター細胞を生成する方法は、細胞（例えば、 $\alpha \beta$ T 細胞、 $\gamma \delta$ T 細胞、細胞傷害性 T 細胞、ヘルパー T 細胞、又はナチュラルキラー T 細胞などの T 細胞）を、抗 P S M A c a T C R と C S R をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変する（すなわち、形質導入又はトランスフェクトする）ことを含む。C S R に関するさらなる記述は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる 2 0 1 7 年 4 月 2 6 日に出版された米国出願第 6 2 / 4 9 0 5 7 8 号に記載されている。いくつかの実施態様では、C S R の発現は、抗 P S M A c a T C R を介したシグナル伝達時に誘導可能である。いくつかの実施態様では、C S R は、例えば、本明細書に記載されるような、抗 P S M A C S R（すなわち、P S M A 結合モジュールを含む C S R）である。いくつかの実施態様では、C S R は、P S M A 以外の標的リガンドに結合する。

【0265】

いくつかの実施態様では、本方法は、P S M A を標的としない C A R 若しくは c a T C R をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットを含むエフェクター細胞（リンパ球、例えば、T 細胞など）を、例えば、本明細書に記載されるような、抗 P S M A 多重特異性構築物（すなわち、抗 P S M A タンデム s c F v、例えば、抗 P S M A タンデム d i - s c F v）をコードする追加の核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。いくつかの実施態様では、本方法は、エフェクター細胞を、P S M A 及び抗 P S M A 多重特異性構築物（すなわち、抗 P S M A タンデム s c F v、例えば、抗 P S M A タンデム d i - s c F v）を標的としない C A R 又は c a T C R をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。

【0266】

いくつかの実施態様では、本方法は、P S M A を標的としない C A R 若しくは c a T C R をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットを含むエフェクター細胞（リンパ球、例えば、T 細胞など）を、例えば、本明細書に記載されるような、抗 P S M A C S R（すなわち、P S M A 結合モジュールを含む C S R）をコードする追加の核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。いくつかの実施態様では、本方法は、エフェクター細胞を、P S M A 及び抗 P S M A C S R を標的としない C A R 又は c a T C R をコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変することを含む。

【0267】

簡潔には、細胞（T 細胞など）の増殖及び遺伝子改変の前に、細胞の供給源が対象から得られる。例えば、T 細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位の組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍を含む、多くの供給源から得ることができる。いくつかの実施態様では、当技術分野において利用可能な任意の数の T 細胞株を使用することができる。いくつかの実施態様では、T 細胞は、フィコール^{T M}分離などの当業者に知られている任意の数の技術を使用して、対象から採取された血液の単位から

得ることができる。いくつかの実施態様では、個体の循環血液からの細胞は、アフエレーシスによって得られる。アフエレーシス産物は、典型的には、T細胞を含むリンパ球、単球、顆粒球、B細胞、他の有核白血球、赤血球及び血小板を含有する。いくつかの実施態様では、アフエレーシスによって収集された細胞は、血漿画分を除去するため、及び後続の処理工程に適切な緩衝液又は培地中に細胞を配置するために、洗浄され得る。いくつかの実施態様では、細胞は、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）で洗浄される。いくつかの実施態様では、洗浄溶液は、カルシウムを欠いており、マグネシウムを欠いていてもよく、又は全てではないが、多くの二価のカチオンを欠いていてもよい。当業者は、製造業者の指示に従って、半自動化「フロースルー」遠心分離機（例えば、Cobe 2991細胞処理装置、Baxter Cytomate、又はHaemonetics Cell Saver 5）を使用するなどして、洗浄工程が当業者に知られている方法によって達成され得ることを容易に理解するであろう。洗浄後、細胞は、 Ca^{2+} フリー、 Mg^{2+} フリーPBS、PlasmaLyte A、又は緩衝液の有無にかかわらず他の生理食塩水などの様々な生体適合性緩衝液に再懸濁させてもよい。あるいは、アフエレーシス試料の望ましくない成分を除去し、細胞を培地に直接再懸濁させてもよい。

【0268】

いくつかの実施態様では、T細胞は、赤血球を溶解させ、例えば、PERCOLL™ 勾配による遠心分離又は対向流遠心分離溶出によって単球を枯渇させることによって、末梢血リンパ球から単離される。CD3⁺、CD28⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺、及びCD45RO⁺ T細胞などのT細胞の特定の亜集団を、正又は負の選択技術によってさらに分離することができる。例えば、いくつかの実施態様では、T細胞は、所望のT細胞の正の選択のために十分な期間にわたって、DYNABEADS（登録商標）M-450 CD3/CD28 Tなどの抗CD3/抗CD28（すなわち、3×28）コンジュゲートビーズとのインキュベーションによって単離される。いくつかの実施態様では、期間は約30分である。いくつかの実施態様では、期間は30分から36時間以上の範囲、及びこれらの間の全ての整数値である。いくつかの実施態様では、期間は、少なくとも1時間、2時間、3時間、4時間、5時間、又は6時間である。いくつかの実施態様では、期間は10から24時間である。いくつかの実施態様では、インキュベーション期間は24時間である。白血病患者からのT細胞の単離については、24時間など、より長いインキュベーション時間を使用することで、細胞収量を増加させることができる。例えば、腫瘍組織又は免疫不全の個体から腫瘍浸潤リンパ球（TIL）を単離する場合など、他の細胞型と比較してT細胞がわずかにしか存在しない任意の状況でT細胞を単離するために、より長いインキュベーション時間を使用することができる。さらに、より長いインキュベーション時間の使用は、CD8⁺ T細胞の捕捉効率を高めることができる。このように、T細胞をCD3/CD28ビーズに結合させる時間を単純に短縮又は延長することにより、及び/又はT細胞に対するビーズの比率を増加又は減少させることにより、T細胞の亜集団を、培養開始時又はプロセス中の他の時点で優先的に選択することができる。さらに、ビーズ又は他の表面上の抗CD3抗体及び/又は抗CD28抗体の比率を増加又は減少させることにより、T細胞の亜集団を、培養開始時又は他の所望の時点で優先的に選択することができる。当業者は、複数の選択ラウンドを使用することもできることを認識するであろう。いくつかの実施態様では、選択手順を実行し、活性化及び増殖プロセスにおいて「選択されていない」細胞を使用することが望ましい場合がある。「選択されていない」細胞は、さらに選択を行うこともできる。

【0269】

負の選択によるT細胞集団の濃縮は、負に選択された細胞に固有の表面マーカーに対する抗体の組み合わせを用いて達成することができる。1つの方法は、負に選択された細胞上に存在する細胞表面マーカーに対するモノクローナル抗体のカクテルを使用した、陰性磁気免疫付着（negative magnetic immunoadherence）又はフローサイトメトリーによる細胞選別及び/又は選択である。例えば、負の選択によってCD4⁺細胞を濃縮するために、モノクローナル抗体カクテルは、典型的には、C

D 1 4、C D 2 0、C D 1 1 b、C D 1 6、H L A－D R及びC D 8に対する抗体を含む。いくつかの実施態様では、典型的にはC D 4⁺、C D 2 5⁺、C D 6 2 L h i、G I T R⁺、及びF o x P 3⁺を発現する制御性T細胞を濃縮するか、又は正に選択することが望ましい場合がある。あるいは、いくつかの実施態様では、制御性T細胞は、抗C D 2 5コンジュゲートビーズ又は他の類似の選択方法によって枯渇される。

【0270】

正又は負の選択による所望の細胞集団の単離のために、細胞及び表面（例えば、ビーズなどの粒子）の濃度を変えることができる。いくつかの実施態様では、細胞とビーズとの最大の接触を確実にするために、ビーズと細胞と一緒に混合される体積を著しく減少させる（すなわち、細胞の濃度を増加させる）ことが望ましい場合がある。例えば、いくつかの実施態様では、約20億細胞／m lの濃度が使用される。いくつかの実施態様では、約10億細胞／m lの濃度が使用される。いくつかの実施態様では、約1億細胞／m l超が使用される。いくつかの実施態様では、約1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、又は5000万細胞／m lのいずれかの濃度の細胞が使用される。いくつかの実施態様では、約7500万、8000万、8500万、9000万、9500万、又は1億細胞／m lのいずれかの細胞濃度が使用される。いくつかの実施態様では、約1億2500万又は約1億5000万細胞／m lの濃度が使用される。高濃度を使用すると、細胞収量、細胞活性化、及び細胞増殖の増加をもたらすことができる。さらに、高濃度の細胞を使用することで、C D 2 8陰性T細胞などの目的の標的抗原を弱く発現する可能性のある細胞、又は多くの腫瘍細胞が存在する試料（すなわち、白血病の血液、腫瘍組織など）からの細胞を、より効率的に捕捉することができる。このような細胞の集団は、治療的価値を有する可能性があり、得られることが望ましい。例えば、高濃度の細胞を用いることで、通常はC D 2 8の発現が弱いC D 8⁺ T細胞をより効率的に選択することができる。

【0271】

いくつかの実施態様では、T細胞は、治療直後に患者から得られる。これに関して、特定のがん治療後、特に免疫系を損傷する薬物による治療後、患者が通常治療から回復している期間中の治療の直後に、得られたT細胞の品質は、e x v i v oで増殖するそれらの能力に対して最適であり得るか又は改善され得ることが観察されている。同様に、本明細書に記載の方法を使用したe x v i v o操作の後、これらの細胞は、増強された生着及びi n v i v o増殖のための好ましい状態にあり得る。したがって、本開示の文脈内で、この回復期の間に、T細胞、樹状細胞、又は造血系統の他の細胞を含む血液細胞を収集することが企図される。さらに、いくつかの実施態様では、動員（例えば、G M－C S Fによる動員）及びコンディショニングレジメンを使用して、対象において、特に治療後の規定の時間枠の間に、特定の細胞型の再増殖、再循環、再生、及び／又は増殖が好まれる状態を作り出すことができる。例示的な細胞型としては、T細胞、B細胞、樹状細胞、及び免疫系の他の細胞が挙げられる。

【0272】

例えば、抗P S M A C A R又は抗P S M A c a T C Rを、必要に応じてC S R（抗P S M A C S Rなど）又はタンデムs c F v（抗P S M Aタンデムs c F vなど）とともに発現するT細胞の遺伝子改変の前であれ後であれ、T細胞は、例えば、米国特許第6352694号；6534055号；6905680号；6692964号；5858358号；6887466号；6905681号；7144575号；7067318号；7172869号；7232566号；7175843号；5883223号；6905874号；6797514号；6867041号；及び米国特許出願公開第20060121005号に一般的に記載されている方法を使用して活性化及び増殖させることができる。

【0273】

一般に、本明細書に記載の遺伝子改変細胞（αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞など）は、C D 3／T C

R複合体関連シグナルを刺激する薬剤と、T細胞の表面上の共刺激分子を刺激するリガンドとが結合している表面との接触によって増殖される。特に、T細胞集団は、例えば、抗CD3抗体、若しくはその抗原結合断片、又は表面に固定化された抗CD2抗体との接触によって、あるいはカルシウムイオノフォアと組み合わせたプロテインキナーゼC活性化因子（例えば、ブリオスタチン）との接触によって刺激され得る。T細胞表面のアクセサリー分子の共刺激については、アクセサリー分子に結合するリガンドが使用される。例えば、T細胞の集団は、T細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、抗CD3抗体及び抗CD28抗体と接触させることができる。CD4⁺ T細胞又はCD8⁺ T細胞の増殖を刺激するために、抗CD3抗体及び抗CD28抗体。抗CD28抗体の例には、9.3、B-T3、XR-CD28（Diaclone, Besancon, France）が含まれ、当技術分野で一般に知られている他の方法と同様に使用することができる（Berg et al., Transplant Proc. 30(8):3975-3977, 1998; Haanen et al., J. Exp. Med. 190(9):1319-1328, 1999; Garland et al., J. Immunol. Meth. 227(1-2):53-63, 1999）。

【0274】

イムノコンジュゲート及びその調製

エフェクター分子に結合した抗PSMA構築物（本明細書に記載されているものなど）を含むイムノコンジュゲート（「抗PSMAイムノコンジュゲート」）も本明細書で提供される。いくつかの実施態様では、エフェクター分子は、がん治療剤（又は化学療法剤）などの治療剤、又は細胞毒性、細胞増殖抑制性、及び／又は他の方法で何らかの治療的利益を提供する毒素である。いくつかの実施態様では、エフェクター分子は、標識（例えば、直接又は間接的に検出可能なシグナルを生成する標識）である。

【0275】

治療剤を含む抗PSMAイムノコンジュゲート（「抗体薬物複合体」又は「ADC」とも呼ばれる）は、細胞傷害性剤又は細胞増殖抑制剤、すなわち、がんの治療中に増殖腫瘍細胞を死滅させるか又は阻害する薬物の局所送達のために使用することができる。PSMAを発現又は過剰発現する細胞（がん細胞など）への薬物部分の標的化された送達は、治療剤の細胞内蓄積を可能にする。例えば、Syrigos and Epenetos, Anticancer Research 19:605-614 (1999); Niculescu-Duvaz and Springer, Adv. Drg. Del. Rev. 26:151-172 (1997); 米国特許第4975278号を参照。対照的に、非コンジュゲート治療剤の全身投与は、正常細胞並びに排除しようとする標的細胞に対して許容できないレベルの毒性をもたらし得る（Baldwin et al., Lancet (Mar. 15, 1986):603-605 (1986); Thorpe, (1985) “Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review,” in Monoclonal Antibodies ‘84: Biological And Clinical Applications, A. Pinchera et al.(eds.), pp. 475-506)。それにより、最小の毒性で最大の有効性が求められる。

【0276】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及び、例えば、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、又はビンデシンなどの（ただしこれらに限定されない）化学療法剤を含む（Rowland et al., Cancer Immunol. Immunother. 21:183-187 (1986)）。いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートには、細菌毒素（ジフテリア毒素など）、植物毒素（リシンなど）、小分子毒素（ゲルダナマイシンなど（Mandler et al., J. Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581 (2000); Mandler et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 10:1025-1028 (2000); Mandler et al., Bioconjugate Chem. 13:786-791 (2002)）、メイタンシノイト（EP 1391213; Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996)）、カリケアマイシン（Lode et al., Cancer Res. 58:2928 (1998); Himmelman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)）、ドラスタチン、アウリスチン、トリコセシン、CC1065、又は毒素活性を示すその誘導体が含まれる。

【0277】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及び酵素的に活性な毒素（又は毒素活性を示すその

断片)を含む。そのような酵素毒素には、限定されないが、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖(緑膿菌由来)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、 α -サルシン、シナアブラギリタンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウタンパク質(P A P I、P A P I I、及びP A P-Sなど)、ツルレイシ阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、又はトリコテセンが挙げられる。例えば、1993年10月28日公開の国際公開第93/21232号を参照のこと。

【0278】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分(本明細書に記載されているものなど)及び細胞内活性を有する治療剤を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは内部移行され、細胞内活性を有する治療剤は、細胞内のタンパク質合成を遮断し、したがって細胞死をもたらす細胞毒素である。(リボソームを不活性化することによるなど)タンパク質合成を遮断する例示的な毒素には、限定されないが、例えば、ゲロニン、ボウガニン(bougainin)、サボリン、リシン、リシンA鎖、ブリオジン(bryodin)、ジフテリア毒素、リストリクトシン、シュードモナス外毒素A及びそれらの変異体が挙げられる。いくつかの実施態様では、細胞におけるタンパク質合成を遮断する細胞毒素を含む抗PSMAイムノコンジュゲートは、タンパク質が細胞に対して細胞毒性であるために、標的細胞への結合時に内部移行されなければならない。

【0279】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分(本明細書に記載されているものなど)と、DNAの合成を阻害する治療剤とを含む。DNA合成/DNA複製を阻害する例示的な治療剤には、限定されないが、例えば、エンジイン(例えば、カリケマイシン及びエスペラミシン)及び非エンジイン小分子剤(例えば、ブレオマイシン、メチジウムプロピル(methidiumpropyl)-EDTA-Fe(II))が挙げられる。本出願に従って有用な他のがん治療剤には、限定されないが、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ジスタマイシンA、シスプラチン、マイトマイシンC、エクチナサイジン、デュオカルマイシン/CC-1065、及びブレオマイシン/ペブレオマイシンが挙げられる。いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分、及び核酸分解活性を有する化合物(例えば、リボヌクレアーゼ、又はDNAエンドヌクレアーゼ、例えばデオキシリボヌクレアーゼ;DNaseなど)を含む。

【0280】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分と、微小管又はチューブリンに結合する薬剤とを含む。いくつかの実施態様では、微小管又はチューブリンに結合する薬剤は、微小管細胞骨格を脱重合に対して安定化させる。あるいは、いくつかの実施態様では、微小管又はチューブリンに結合する薬剤は、チューブリン重合を阻害する。そのような治療剤には、限定されないが、例えば、リゾキシシン/メイタンシン、パクリタキセル、ビンクリスチン及びビンブラスチン、コルヒチン、アウリスチン、ドラスタチン10、MMAE、及びペロルシド(peloruside)Aが挙げられる。

【0281】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分(本明細書に記載されているものなど)及びアルキル化剤、例えば、限定されないが、Asaley NSC 167780、AZQ NSC 182986、BCNU NSC 409962、ブスルファン NSC 750、カルボキシフタラトプラチナ(carboxyphthalatoplatinum) NSC 271674、CBDCA NSC 241240、CCNU NSC 79037、CHIP NSC 256927、クロラムブシル NSC 3088、クロロゾトシン NSC 178248、シスプラチン NSC 119875、クロメゾン NSC 338947、シアノモルホリノド

10

20

30

40

50

キソルビシン NSC 357704、シクロジソン NSC 348948、ジアンヒドロガラクトール NSC 132313、フルオロドパン NSC 73754、ヘプスルファム NSC 329680、ヒカントン NSC 142982、メルファラン NSC 8806、メチル CCNU NSC 95441、マイトマイシンC NSC 26980、ミトゾラミド NSC 353451、ナイトロジェンマスタード NSC 762、PCNU NSC 95466、ピペラジン NSC 344007、ピペラジンジオン NSC 135758、ピボプロマン NSC 25154、ポルフィロマイシン NSC 56410、スピロヒダントインマスタード NSC 172112、テロキシロン NSC 296934、テトラプラチン NSC 363812、チオテパ NSC 6396、トリエチレンメラミン NSC 9706、ウラシルナイトロジェンマスタード NSC 34462、及びYoshi-864 NSC 102627を含む。

10

【0282】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、本明細書に記載される抗PSMA抗体部分及び、有糸分裂阻害剤、例えば、限定されないが、アロコルヒチン NSC 406042、ハリコンドリンB NSC 609395、コルヒチン NSC 757、コルヒチン誘導体 NSC 33410、ドラスタチン10 NSC 376128 (NG-アウリスタチン由来)、メイタンシン NSC 153858、リゾキシシン NSC 332598、タキソール NSC 125973、タキソール誘導体 NSC 608832、チオコルヒチン NSC 361792、トリチルシステイン NSC 83265、ビンブラスチン硫酸塩 NSC 49842、及びビンクリスチン硫酸塩 NSC 67574を含む。

20

【0283】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びトポイソメラーゼI阻害剤、例えば、カンプトテシン NSC 94600、カンプトテシン、Na塩 NSC 100880、アミノカンプトテシン NSC 603071、カンプトテシン誘導体 NSC 95382、カンプトテシン誘導体 NSC 107124、カンプトテシン誘導体 NSC 643833、カンプトテシン誘導体 NSC 629971、カンプトテシン誘導体 NSC 295500、カンプトテシン誘導体 NSC 249910、カンプトテシン誘導体 NSC 606985、カンプトテシン誘導体 NSC 374028、カンプトテシン誘導体 NSC 176323、カンプトテシン誘導体 NSC 295501、カンプトテシン誘導体 NSC 606172、カンプトテシン誘導体 NSC 606173、カンプトテシン誘導体 NSC 610458、カンプトテシン誘導体 NSC 618939、カンプトテシン誘導体 NSC 610457、カンプトテシン誘導体 NSC 610459、カンプトテシン誘導体 NSC 606499、カンプトテシン誘導体 NSC 610456、カンプトテシン誘導体 NSC 364830、カンプトテシン誘導体 NSC 606497、及びモルホリノドキソルビシン NSC 354646を含む。

30

【0284】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びトポイソメラーゼII阻害剤、例えば、ただしこれらに限定されないが、ドキソルビシン NSC 123127、アモナフィド NSC 308847、m-AMSA NSC 249992、アントラピラゾール誘導体 NSC 355644、ピラゾロアクリジン NSC 366140、ビスアントレンHCL NSC 337766、ダウノルビシン NSC 82151、デオキシドキソルビシン NSC 267469、ミトキサントロン NSC 301739、メノガリル NSC 269148、N、N-ジベンジルダウノマイシン NSC 268242、オキサントラゾール NSC 349174、ルビダゾン NSC 164011、VM-26 NSC 122819、及びVP-16 NSC 141540を含む。

40

50

【0285】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びRNA又はDNA代謝拮抗剤、例えば、ただしこれらに限定されないが、L-アラノシン NSC 153353、5-アザシチジン NSC 102816、5-フルオロウラシル NSC 19893、アシビシン NSC 163501、アミノプテリン誘導体 NSC 132483、アミノプテリン誘導体 NSC 184692、アミノプテリン誘導体 NSC 134033、アンチフォール NSC 633713、アンチフォール NSC 623017、ペーカーズ可溶性アンチフォール NSC 139105、ジクロロアシルローソン NSC 126771、ブレキナル NSC 368390、フトラフル（プロドラッグ） NSC 148958、5, 6-ジヒドロ-5-アザシチジン NSC 264880、メトトレキサート NSC 740、メトトレキサート誘導体 NSC 174121、N-（ホスホノアセチル）-L-アスパラギン酸（PALA） NSC 224131、ピラゾフリン NSC 143095、トリメトトレキサート NSC 352122、3-HP NSC 95678、2'-デオキシ-5-フルオロウリジン NSC 27640、5-HP NSC 107392、 α -TGDR NSC 71851、アフジコリングリシナート NSC 303812、ara-C NSC 63878、5-アザ-2'-デオキシシチジン NSC 127716、 β -TGDR NSC 71261、シクロシチジン NSC 145668、グアナゾール NSC 1895、ヒドロキシウレア NSC 32065、イノシングリコジアルデヒド NSC 118994、マクベシン I1 NSC 330500、ピラゾロイミダゾール NSC 51143、チオグアニン NSC 752、及びチオプリン NSC 755を含む。

10

20

【0286】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及び放射性同位体を含む。様々な放射性同位体が当技術分野でよく知られており、放射性コンジュゲートポリペプチドの生成のために使用されている。例には、例えば、 ^{211}At 、 ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{90}Y 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 、 ^{32}P 、 ^{212}Pb 、及びLuの放射性同位体が含まれるが、これらに限定されない。

【0287】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、腫瘍プレターゲティングにおいて利用するための抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及び「受容体」（ストレプトアビジンなど）を含み、ここで、抗体-受容体コンジュゲートが患者に投与され、続いて、除去剤を使用して循環から非結合コンジュゲートが除去され、次いで、細胞傷害性剤（例えば、本明細書に記載されているか又は当技術分野で知られている細胞傷害性剤のいずれか1つ又は複数）にコンジュゲートされた「リガンド」（例えば、アビジン）の投与が行われる。

30

【0288】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及びプロドラッグ活性化酵素を含む。いくつかの実施態様では、プロドラッグ活性化酵素は、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、国際公開第81/01145号を参照のこと）を、抗がん剤などの活性薬物に変換する。いくつかの実施態様では、プロドラッグ活性化酵素を含む抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗体依存性酵素媒介プロドラッグ療法（「ADEPT」）において使用される。いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）、及びホスフェート含有プロドラッグを遊離薬物に変換するアルカリホスファターゼ；サルフェート含有プロドラッグを遊離薬物に変換するアリールスルファターゼ；非毒性5-フルオロシトシンを抗がん剤5-フルオロウラシルに変換するシトシンデアミナーゼ；ペプチド含有プロドラッグを遊離薬物に変換するプロテアーゼ（例えば、セラチアプロテアーゼ、サーモリシン、スプチリシン、カルボキシペプ

40

50

チダーゼ又はカテプシン（カテプシンB及びLなど）；D-アミノ酸置換基を含むプロドラッグを変換するD-アラニルカルボキシペプチダーゼ；グリコシル化されたプロドラッグを遊離薬物に変換する、炭水化物切断酵素（ β -ガラクトシダーゼ及びノイラミニダーゼなど）； β -ラクタムで誘導体化された薬物を遊離薬物に変換する β -ラクタマーゼ；又はアミン窒素においてフェノキシアセチル基又はフェニルアセチル基でそれぞれ誘導体化された薬物を遊離薬物に変換するペニシリンアミダーゼ（ペニシリンVアミダーゼ又はペニシリンGアミダーゼなど）を含む。いくつかの実施態様では、プロドラッグ活性化酵素は、抗PSMA抗体部分に共有結合している。いくつかの実施態様では、提供されるのは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）と酵素（プロドラッグ活性化酵素など）とを含む抗PSMAイムノコンジュゲートをコードする核酸である。例えば、Neuberger et al., Nature 312:604-608を参照のこと。そのようなイムノコンジュゲートを生成することは、宿主細胞を核酸で形質転換、トランスフェクト、又は形質導入し、イムノコンジュゲートが発現される条件下で宿主細胞を培養し、イムノコンジュゲートを回収することを伴う。

【0289】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）及び核酸、例えば、限定されないが、アンチセンスRNA、遺伝子、又は他のポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA抗体部分にコンジュゲートされたポリヌクレオチドは、チオグアニン及びチオプリンなどの1つ又は複数の核酸類似体を含む。

【0290】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）と、直接的又は間接的に検出可能なシグナルを生成する標識とを含む。そのような抗PSMAイムノコンジュゲートは、例えば、がん細胞の*in vivo*又は*in vitro*検出を含む研究又は診断用途に使用することができる（例えば、がんを有する又は有すると疑われる個体、あるいはそのような個体から得られた試料において）。いくつかの実施態様では、標識は放射線不透過性である。いくつかの実施態様では、標識は、放射性同位元素、例えば、限定されないが、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I である。いくつかの実施態様では、標識は、例えば、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン若しくはルシフェリンなどの蛍光化合物（フルオロフォア）又は化学発光化合物（発色団）である。いくつかの実施態様では、標識は、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ又は西洋ワサビペロキシダーゼなどの酵素である。いくつかの実施態様では、標識は造影剤又は金属イオンである。いくつかの実施態様では、標識は、シンチグラフィ研究のための放射性原子、例えば、 ^{99}Tc 若しくは ^{123}I 、又は核磁気共鳴（NMR）画像法（磁気共鳴画像法、MRIとしても知られる）のためのスピンラベル、例えば、ジルコニウム-89、ヨウ素-123、ヨウ素-131、インジウム-111、フッ素-19、炭素-13、窒素-15、酸素-17、ガドリニウム、マンガン又は鉄などである。ジルコニウム-89は、例えば、PET画像法のために、様々な金属キレート剤と錯体を形成し、抗体にコンジュゲートすることができる（国際公開第2011/056983号）。

【0291】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）と、間接的に検出可能なシグナルを生成する標識とを含む。例えば、抗PSMAイムノコンジュゲートに対して特異的であり、かつ検出可能な標識を含む二次抗体を使用して、抗PSMAイムノコンジュゲートを検出することができる。

【0292】

抗PSMAイムノコンジュゲートは、当技術分野で知られている任意の方法を使用して調製することができる。例えば、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる、国際公開第2009/067800号、国際公開第2011/133886号、及び米国特許出

10

20

30

40

50

願公開第2014321229号を参照のこと。

【0293】

抗PSMAイムノコンジュゲートの抗PSMA抗体部分は、抗PSMA抗体部分がエフェクター分子と会合し得る、又はエフェクター分子に連結され得る任意の手段によって、エフェクター分子に「結合」され得る。いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、本明細書に記載の抗PSMA抗体部分と、標識又は治療剤とを含み、標識又は治療剤分子は、抗PSMA抗体部分に共有結合している。抗PSMAイムノコンジュゲートの抗PSMA抗体部分は、化学的又は組換え的手段によってエフェクター分子に結合され得る。融合体又はコンジュゲートを調製するための化学的手段は当技術分野で知られており、抗PSMAイムノコンジュゲートを調製するために使用することができる。抗PSMA抗体部分とエフェクター分子（すなわち、標識又は治療剤）をコンジュゲートさせるために使用される方法は、標的細胞上に発現されたPSMAに結合する抗PSMA抗体部分の能力を妨げることなく、結合タンパク質をエフェクター分子に連結させることができるものでなければならない。

10

【0294】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートは、エフェクター分子（すなわち、標識又は治療剤）に間接的に連結されている抗PSMA抗体部分（本明細書に記載されているものなど）を含む。例えば、抗PSMAイムノコンジュゲートの抗PSMA抗体部分は、エフェクター分子（すなわち、標識又は治療剤）を含むリボソームに直接連結され得る。エフェクター分子及び／又は抗PSMA抗体部分もまた、固体表面に結合し得る。

20

【0295】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートの抗PSMA抗体部分及びエフェクター分子（すなわち、標識又は治療剤）は両方ともタンパク質であり、当技術分野でよく知られている技術を使用してコンジュゲートすることができる。2つのタンパク質をコンジュゲートすることができる様々な架橋剤は、当技術分野でよく知られている。

（例えば、“Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking”. 1991, Shans Wong, CRC Press, Ann Arborを参照のこと）。架橋剤は、一般に、抗PSMA抗体部分及び／又はエフェクター分子（すなわち、標識又は治療剤）上において利用可能又は挿入された反応性官能基に基づいて選択される。さらに、反応性基がない場合は、光活性化可能な架橋剤を使用することができる。特定の例では、抗PSMA抗体部分とエフェクター分子との間にスパーサーを含めることが望ましい場合がある。当技術分野で知られている架橋剤には、ホモ二官能性剤：グルタルアルデヒド、アジブイミド酸ジメチル及びビス（ジアゾベンジジン）並びにヘテロ二官能性剤：m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミド及びスルホ-mマレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドが含まれる。

30

【0296】

いくつかの実施態様では、抗PSMAイムノコンジュゲートの抗PSMA抗体部分は、エフェクター分子（すなわち、標識又は治療剤）の化学的結合のための特定の残基で操作され得る。当技術分野で知られている分子の化学的結合に使用される特定の残基としては、リジン及びシステインが挙げられる。架橋剤は、抗PSMA抗体部分上に挿入され、エフェクター分子上で利用可能な反応性官能基に基づいて選択される。

40

【0297】

抗PSMAイムノコンジュゲートはまた、組換えDNA技術を使用して調製され得る。そのような場合、抗PSMA抗体部分をコードするDNA配列がエフェクター分子をコードするDNA配列に融合され、キメラDNA分子が得られる。キメラDNA配列は、融合タンパク質を発現する宿主細胞中にトランスフェクトされる。融合タンパク質は、当技術分野で知られている技術を使用して、細胞培養物から回収され、精製することができる。

【0298】

検出可能な標識を結合分子（抗PSMA抗体部分など）に結合させる例示的な方法は、

50

Hunter, et al., Nature 144:945 (1962); David, et al., Biochemistry 13:1014 (1974); Pain, et al., J. Immunol. Meth.40:219 (1981); Nygren, J. Histochem. and Cytoc hem. 30:407 (1982); Wensel and Meares, Radioimmunoimaging And Radioimmunotherapy, Elsevier, N.Y. (1983); 及び Colcher et al., "Use Of Monoclonal Antibodies As Radiopharmaceuticals For The Localization Of Human Carcinoma Xenografts In Athymic Mice", Meth. Enzymol., 121:802-16 (1986)に記載されている。

【0299】

放射性標識（又は他の標識）は、既知の方法でイムノコンジュゲートに組み込むことができる。例えば、抗PSMA抗体部分は、生合成され得るか、又は例えば、水素の代わりにフッ素-19を含む適切なアミノ酸前駆体を使用する化学的アミノ酸合成によって合成され得る。 ^{99}Tc 又は ^{123}I 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{111}In などの標識は、抗PSMA抗体部分中のシステイン残基を介して結合することができる。イットリウム-90は、リジン残基を介して結合され得る。IODOGEN法（Fraker et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 80:49-57 (1978)）を使用して、ヨウ素-123を組み込むことができる。"Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989) は、他の方法を詳細に記述している。

【0300】

抗PSMAイムノコンジュゲートは、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPPD)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(SMCC)、イミノチオラン(IT)、イミドエステル²⁰の二官能性誘導体(アジブイミド酸ジメチルHClなど)、活性エステル(スベリン酸ジサクシンイミジルなど)、アルデヒド(グルタルアルデヒドなど)、ビス-アジド化合物(ビス(p-アジドベンゾイル)ヘキサジアミンなど)、ビス-ジアゾニウム誘導体(ビス-(p-ジアゾニウムベンゾイル)-エチレンジアミンなど)、ジイソシアネート(トルエン2,6-ジイソシアネートなど)、及びビス-活性フッ素化合物(1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼンなど)などの様々な二官能性タンパク質カップリング剤を使用して作成され得る。例えば、リシンイムノトキシンは、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)に記載されているように調製することができる。炭素-14標識1-イソチオシアナトベンジル-3-メチルジエチレントリアミン五酢酸(1-isothiocyanatobenzyl-3-methyldiethylene tnaminepentaacetic acid)(MX-DTPA)は、³⁰放射性核種を抗PSMAイムノコンジュゲートの抗PSMA抗体部分にコンジュゲートさせるための例示的なキレート剤である。例えば、国際公開第94/11026号を参照のこと。リンカーは、細胞内での細胞傷害性薬物の放出を促進する「切断可能なリンカー」であり得る。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光分解性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー（Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992); 米国特許第5208020号）が使用され得る。

【0301】

本開示の抗PSMAイムノコンジュゲートには、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-SMPB、並びにSVSB⁴⁰スクシンイミジル-(4-ビニルスルホン)ベンゾエート)、すなわち、(例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aから)市販されるクロスリンカー試薬を使用して調製されたものが含まれるが、これらに限定されない。2003-2004年のApplications Handbook and Catalogの467-498頁を参照のこと。

【0302】

核酸、ベクター、宿主細胞、及び抗PSMA構築物の作製方法

また、本明細書に記載の抗PSMA構築物のポリペプチド部分をコードする核酸分子（核酸分子のセットを含む）も提供される。いくつかの実施態様では、核酸（又は核酸のセ⁵⁰

ット)は、完全長抗P S M A抗体をコードする。いくつかの実施態様では、核酸(又は核酸のセット)は、多重特異性抗P S M A分子(例えば、多重特異性抗P S M A抗体、二重特異性抗P S M A抗体、又は抗P S M A抗体部分を含むタンデムd i - s c F v)、又はそのポリペプチド部分をコードする。いくつかの実施態様では、核酸(又は核酸のセット)は、抗P S M A C A Rをコードする。いくつかの実施態様では、核酸(又は核酸のセット)は、完全長抗P S M A c a T C Rをコードする。いくつかの実施態様では、抗P S M A c a T C Rの2つの鎖は、同じ核酸上にコードされている。いくつかの実施態様では、抗P S M A c a T C Rの2つの鎖は、別々の核酸上にコードされている。いくつかの実施態様では、核酸は、抗P S M A C S Rをコードする。いくつかの実施態様では、核酸(又は核酸のセット)は、抗P S M A イムノコンジュゲート、又はそのポリペプチド部分をコードする。

10

【0303】

本明細書に記載の抗P S M A構築物のポリペプチド部分をコードする核酸配列変異体も提供される。例えば、変異体は、少なくとも中程度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、本明細書に記載の抗P S M A構築物又は抗P S M A抗体部分をコードする核酸配列にハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

【0304】

本明細書に記載の1つ又は複数の核酸を含むベクター(発現ベクターなど)も提供される。

【0305】

本明細書に記載の抗P S M A構築物、又はそのポリペプチド部分、例えば、抗P S M A C A Rは、抗P S M A構築物又はそのポリペプチド部分をコードする天然又は合成の核酸から発現させることができる。簡潔には、核酸が、例えばプロモーター(例えば、リンパ球特異的プロモーター)及び3'非翻訳領域(U T R)を含む5'及び3'調節エレメントに作動可能に連結されるように、核酸は適切な発現ベクターに挿入され得る。ベクターは、真核生物の宿主細胞における複製及び組込みに適していることが好ましい。典型的なクローニング及び発現ベクターは、転写及び翻訳ターミネーター、開始配列、並びに所望の核酸配列の発現の調節に有用なプロモーターを含む。

20

【0306】

本明細書に記載の核酸はまた、標準的な遺伝子送達プロトコルを使用して、核酸免疫化及び遺伝子治療のために使用することができる。遺伝子送達の方法は当技術分野で知られている。例えば、米国特許第5399346号;第5580859号;及び第5589466号を参照のこと。これらは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。いくつかの実施態様では、遺伝子治療ベクターが提供される。

30

【0307】

本明細書に記載の核酸は、当技術分野で知られている様々なベクターのいずれかにクローニングすることができる。例えば、核酸(又は核酸のセット)は、例えば、プラスミド、ファージミド、ファージ誘導体、動物ウイルス、及び/又はコスミドにクローニングすることができる。特に関心のあるベクターには、発現ベクター、複製ベクター、プローブ生成ベクター、及び配列決定ベクターが含まれる。

40

【0308】

いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗P S M A構築物又は抗P S M A抗体部分をコードする核酸を含む発現ベクターは、ウイルスベクターである。ウイルスベクター技術は当技術分野でよく知られており、例えば、Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)、及び他のウイルス学及び分子生物学のマニュアルに記載されている。ベクターとして有用なウイルスには、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルス、及びレンチウイルスが含まれるが、これらに限定されない。一般に、適切なベクターは、少なくとも1つの生物において機能的な複製起点、プロモーター配列、便利な制限エンドヌクレアーゼ部位、及び1つ又は複数の選択可能なマーカーを含む(例えば、国際公開第01/

50

9 6 5 8 4 号；国際公開第 0 1 / 2 9 0 5 8 号；及び米国特許第 6 3 2 6 1 9 3 号を参照）。

【0309】

哺乳類細胞への遺伝子導入のために、多くのウイルスベースのシステムが開発されてきた。例えば、レトロウイルスは遺伝子送達システムのための便利なプラットフォームを提供する。選択された遺伝子は、当技術分野で知られている技術を使用して、ベクターに挿入され、レトロウイルス粒子にパッケージングされ得る。次いで、組換えウイルスを単離して、*in vivo* 又は *ex vivo* のいずれかで対象の細胞に送達することができる。多くのレトロウイルスシステムが当技術分野で知られている。いくつかの実施態様では、ウイルスベクターは、アデノウイルスベクターである。多くのアデノウイルスベクターが当技術分野で知られている。いくつかの実施態様では、ウイルスベクターは、レンチウイルスベクターである。レンチウイルスなどのレトロウイルスに由来するベクターは、導入遺伝子の長期的で安定した組み込みと娘細胞におけるその伝播を可能にするため、長期的な遺伝子導入を達成するための適切なツールである。レンチウイルスベクターは、非増殖細胞を形質導入できるという点で、マウス白血病ウイルスなどの腫瘍レトロウイルスに由来するベクターに対してさらなる利点を有する。それらはまた、免疫原性が低いというさらなる利点を有する。

10

【0310】

追加のプロモーターエレメント、例えばエンハンサーは、転写開始の頻度を調節する。典型的には、これらは開始部位の 30-110 bp 上流の領域に位置しているが、最近では多くのプロモーターが開始部位の下流にも機能的エレメントを含むことが示されている。プロモーターエレメント間の間隔はしばしば柔軟であり、それにより、エレメントが互いに反転したり相対的に移動したときでもプロモーター機能が維持される。チミジンキナーゼ (tk) プロモーターでは、活性が低下し始める前に、プロモーターエレメント間の間隔を 50 bp 離れるまで増加させることができる。

20

【0311】

適切なプロモーターの一例は、前初期サイトメガロウイルス (CMV) プロモーター配列である。このプロモーター配列は、それに作動可能に連結された任意のポリヌクレオチド配列の高レベルの発現を駆動することができる強力な構成的プロモーター配列である。適切なプロモーターの別の例は、伸長成長因子-1α (EF-1α) である。しかしながら、サルウイルス 40 (SV40) 初期プロモーター、マウス乳房腫瘍ウイルス (MMTV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の長い末端反復 (LTR) プロモーター、MoMuLV プロモーター、トリ白血病ウイルスプロモーター、エプスタイン・バーウイルス最初期プロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、並びに、アクチンプロモーター、ミオシンプロモーター、ヘモグロビンプロモーター及びクレアチンキナーゼプロモーターなどのヒト遺伝子プロモーターが挙げられるがこれらに限定されない、他の構成的プロモーター配列もまた使用され得る。さらに、本明細書に記載の抗 P S M A 構築物の発現は、構成的プロモーターの使用に限定されるべきではない。誘導性プロモーターも企図されている。誘導性プロモーターの使用は、そのような発現が望ましいときには連結したポリヌクレオチド配列の発現のスイッチをオンにし、又は発現が望ましくないときには発現のスイッチをオフにすることが可能な分子スイッチを提供する。誘導性プロモーターの例には、限定されないが、メタロチオネインプロモーター、グルココルチコイドプロモーター、プロゲステロンプロモーター、及びテトラサイクリンプロモーターが含まれる。

30

40

【0312】

ポリペプチド又はその一部の発現を評価するために、細胞に導入される発現ベクターはまた、ウイルス性ベクターを通してトランスフェクト又は感染されることが求められる細胞の集団からの発現細胞の同定及び選択を容易にするために、選択マーカー遺伝子若しくはレポーター遺伝子のいずれか又はこれらの両方を含むことができる。他の態様では、選択マーカーは、DNA の別個の一片に保有されてもよく、共トランスフェクション手順において使用され得る。選択マーカー及びレポーター遺伝子の両方に、適切な調節配列を隣

50

接させて、宿主細胞における発現を可能にすることができる。例示的な選択可能なマーカーには、例えば、neoなどの抗生物質耐性遺伝子が含まれるが、これらに限定されない。

【0313】

レポーター遺伝子は、潜在的トランスフェクト細胞を同定するため、及び調節配列の機能性を評価するために使用される。一般に、レポーター遺伝子は、レシピエント生物体又は組織中に存在することも、それらによって発現されることもなく、何らかの容易に検出可能な特性、例えば、酵素活性によってその発現が明らかにされるポリペプチドをコードする遺伝子である。レポーター遺伝子の発現は、DNAがレシピエント細胞中に導入された後の適切な時にアッセイされる。適切なレポーター遺伝子は、ルシフェラーゼ、β-ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌型アルカリホスファターゼ、又は緑色蛍光性タンパク質遺伝子をコードする遺伝子を含み得る（例えば、Ui-Tel et al., 2000 FEBS Letters 479: 79-82）。適切な発現系はよく知られており、既知の技術を使用して調製されるか、又は商業的に入手することができる。一般に、レポーター遺伝子の最高レベルの発現を示す最小の5'隣接領域を有する構築物が、プロモーターとして同定される。このようなプロモーター領域は、レポーター遺伝子に連結されていてもよく、プロモーター駆動転写を調節する能力について薬剤を評価するために使用され得る。

【0314】

遺伝子を細胞に導入して発現させる方法は、当技術分野で知られている。発現ベクターの文脈では、ベクターは、当技術分野の任意の方法によって、宿主細胞、例えば、哺乳動物、細菌、酵母、又は昆虫細胞に容易に導入することができる。例えば、発現ベクターは、物理的、化学的、又は生物学的手段により宿主細胞に移入することができる。

【0315】

ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための物理的方法には、リン酸カルシウム沈殿、リポフェクション、微粒子銃、マイクロインジェクション、エレクトロポレーションなどが含まれる。ベクター及び／又は外来性核酸を含む細胞を生成するための方法は、当技術分野でよく知られている。例えば、Sambrook et al. (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)を参照のこと。いくつかの実施態様では、宿主細胞へのポリヌクレオチドの導入は、リン酸カルシウムトランスフェクションによって実施される。

【0316】

目的のポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための生物学的方法には、DNA及びRNAベクターの使用が含まれる。ウイルスベクター、特にレトロウイルスベクターは、哺乳動物、例えば、ヒト細胞中に遺伝子を挿入するための最も広く使用される方法となっている。他のウイルスベクターは、レンチウイルス、ボックスウイルス、単純ヘルペスウイルス1、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルスなどに由来し得る。例えば、米国特許第5350674号；同第5585362号を参照のこと。

【0317】

核酸を宿主細胞中に導入するための化学的手段には、コロイド分散系、例えば巨大分子複合体、ナノカプセル、ミクロスフェア、ビーズ、並びに水中油型エマルジョン、ミセル、混合ミセル、及びリポソームを含む脂質に基づく系が含まれる。in vitro及びin vivoにおいて送達ビヒクルとして使用するための例示的コロイド系はリポソーム（例えば、人工膜小胞）である。

【0318】

別の例示的な送達ビヒクルはリポソームである。脂質製剤の使用が、宿主細胞への核酸の導入（in vitro、ex vivo又はin vivo）のために企図されている。別の態様では、核酸は、脂質と会合し得る。脂質と会合した核酸は、リポソームの水性内部中に封入されていてもよく、リポソームの脂質二重層内に散在していてもよく、リポソーム及びオリゴヌクレオチドの両方と結合する連結分子を介してリポソームに結合し

ていてもよく、リボソームに封入されていてもよく、リボソームと複合体形成していてもよく、脂質を含む溶液中に分散されていてもよく、脂質と混合されていてもよく、脂質と組み合わされていてもよく、脂質中に懸濁物として含まれていてもよく、ミセルに含まれるいはミセルと複合体形成されていてもよく、又は脂質と他の方法で会合していてもよい。脂質、脂質／DNA又は脂質／発現ベクター会合組成物は、溶液中の任意の特定の構造に限定されない。例えば、それらは、二重層構造中に、ミセルとして、又は「崩壊した」構造で存在し得る。それらはまた、単に溶液中に散在し、サイズ又は形状が均一ではない凝集体をおそらくは形成し得る。脂質は、天然に存在する脂質であり得るか又は合成脂質であり得る脂肪性物質である。例えば、脂質には、細胞質中に天然に存在する脂肪小滴、並びに長鎖脂肪族炭化水素及びその誘導体、例えば、脂肪酸、アルコール、アミン、アミノアルコール、及びアルデヒドなどを含む化合物のクラスが含まれる。

10

【0319】

外因性核酸を宿主細胞中に導入するために使用される方法に関係なく、宿主細胞中の組換えDNA配列の存在を確認するために、様々なアッセイが実施され得る。そのようなアッセイには、例えば、サザン及びノーザンブロッティング、RT-PCR及びPCRなどの、当業者によく知られた「分子生物学的」アッセイ；例えば、免疫学的手段（ELISA及びウエスタンブロット）によって、又は本開示の範囲内に入る薬剤を同定するための本明細書に記載されるアッセイによって、特定のペプチドの存在又は非存在を検出するなどの「生化学的」アッセイが含まれる

【0320】

Fc領域変異体を含む抗PSMA構築物

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のアミノ酸修飾は、本明細書で提供される抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）のFc領域に導入され得、それにより、Fc領域変異体を生成する。いくつかの実施態様では、Fc領域変異体は、しばしばFc受容体（FcR）への結合に関連する、増強された抗体依存性細胞傷害（ADCC）エフェクター機能を有する。いくつかの実施態様では、Fc領域変異体は、減少したADCCエフェクター機能を有する。エフェクター機能を変化させることができるFc配列への変化又は変異の例は多数ある。例えば、国際公開第00/42072号及びShields et al. J Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)は、FcRに対する結合が改善又は減少した抗体変異体を記載している。これらの出版物の内容は、参照により本明細書に具体的に組み込まれる。

20

30

【0321】

抗体依存性細胞傷害（ADCC）は、腫瘍細胞に対する治療用抗体の作用機序である。ADCCは、細胞媒介性免疫防御であり、それによって、膜表面抗原が特異的抗体（例えば、抗PSMA抗体）によって結合された標的細胞（例えば、がん細胞）を、免疫系のエフェクター細胞が能動的に溶解する。典型的なADCCは、抗体によるNK細胞の活性化を伴う。NK細胞はFc受容体であるCD16を発現する。この受容体は、標的細胞の表面に結合した抗体のFc部分を認識し、結合する。NK細胞の表面にある最も一般的なFc受容体は、CD16又はFcγRIIと呼ばれる。抗体のFc領域へのFc受容体の結合は、NK細胞の活性化、細胞溶解性顆粒の放出、及びその結果としての標的細胞のアポトーシスをもたらす。腫瘍細胞死に対するADCCの寄与は、高親和性FcRでトランスフェクトされているNK-92細胞を使用する特異的試験で測定することができる。結果は、FcRを発現しない野生型NK-92細胞と比較される。

40

【0322】

いくつかの実施態様では、*in vivo*での抗PSMA構築物の半減期が重要であるが、特定のエフェクター機能（CDC及びADCCなど）が不必要又は有害である用途のための望ましい候補とならしめる、全てではないがいくつかのエフェクター機能を有する変異体Fc領域を含む抗PSMA構築物が提供される。*in vitro*及び／又は*in vivo*細胞傷害性アッセイを実施して、CDC及び／又はADCCの活性の低下／枯渇を確認することができる。例えば、Fc受容体（FcR）結合アッセイを実施して、抗

50

体がFcγR結合を欠く（したがって恐らくはADCC活性を欠く）が、FcRn結合能を保持していることを確認することができる。ADCCを媒介する主要な細胞（すなわち、NK細胞）がFcγRIIIのみを発現するのに対し、単球はFcγRI、FcγRII及びFcγRIIIを発現する。造血細胞でのFcRの発現は、Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)の464頁の表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するための*in vitro*アッセイの非限定的な例が、米国特許第5500362号（例えば、Hellstrom, I. et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)を参照）及びHellstrom, I et al., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；米国特許第5,821,337号（Bruggemann, M. et al., *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987)を参照）に記載されている。代替的に、非放射性アッセイ法を用いてもよい（例えば、フローサイトメトリー用のACTITM非放射性細胞傷害性アッセイ（カリフォルニア州マウンテンビューのCell Technology, Inc.；及びCytotox 96TM非放射性細胞傷害性アッセイ（ウィスコンシン州マディソンのPromega）。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞は、末梢血液単核細胞（PBMC）及びナチュラルキラー（NK）細胞を含む。あるいは、又はさらに、目的の分子のADCC活性は、Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)に開示されるように、例えば動物モデルにおいて、*in vivo*で評価することができる。抗体がC1qに結合できず、したがってCDC活性を欠いていることを確認するために、C1q結合アッセイを実施することもできる。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号のC1q及びC3c結合ELISAを参照のこと。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを実施してもよい（例えば、Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M. S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及びCragg, M. S. and M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)を参照）。FcRn結合及び*in vivo*クリアランス／半減期の決定はまた、当技術分野で知られている方法を使用して実施することができる（例えば、Ptkova, S. B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)を参照）。

【0323】

エフェクター機能が低下した抗体には、Fc領域残基238、265、269、270、297、327及び329のうちの1つ又は複数の置換を伴うものが含まれる（米国特許第6737056号）。このようなFc突然変異体には、残基265及び297のアラニンへの置換を有する、いわゆる「DANA」Fc突然変異体を含め、アミノ酸265、269、270、297及び327位のうちの2つ以上において置換を有するFc突然変異体が含まれる（米国特許第7332581号）。

【0324】

FcRへの結合が改善又は減少した特定の抗体変異体が記載されている。（例えば、米国特許第6737056号、国際公開第2004/056312号、及びShields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 65916604 (2001)を参照）。

【0325】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）は、ADCCを改善する1つ又は複数のアミノ酸置換を含む変異体Fc領域を含む。いくつかの実施態様では、変異体Fc領域は、ADCCを改善する1つ又は複数のアミノ酸置換を含み、ここで、置換は、変異体Fc領域の位置298、333、及び／又は334（残基のEU番号付け）においてである。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）は、その変異体Fc領域において以下のアミノ酸置換を含む：S298A、E333A、及びK334A。

【0326】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）のFc領域において、例えば米国特許第6194551号、国際公開第99/51642号、及びIdusogie et al., *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)に記載のように、改変された（すなわち改善されたか減少した）C1q結合及び／又は補体依存性細胞傷害（CDC）を

もたらず改変がなされる。

【0327】

いくつかの実施態様では、変異体Fc領域を含む抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）は、半減期を増加させ、かつ／又は新生児Fc受容体（FcRn）への結合を改善する1つ又は複数のアミノ酸置換を含む。増加した半減期及びFcRnへの改善された結合を有する抗体は、米国特許出願公開第2005/0014934号（A1）（Hintonら）に記載されている。これらの抗体は、FcRnへのFc領域の結合を改善する1つ又は複数の置換を伴うFc領域を含む。そのようなFc変異体には、Fc領域残基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424又は434のうちの1つ又は複数における置換、例えば、Fc領域の残基434の置換（米国特許第7371826号）を有するものが含まれる。

10

【0328】

Fc領域変異体のその他の例に関しては、Duncan & Winter, Nature322:73840 (1988)、米国特許第5648260号、米国特許第5624821号、及び国際公開第94/29351号も参照のこと。

【0329】

本明細書に記載のFc変異体のいずれか、又はそれらの組み合わせを含む抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）が企図される。

【0330】

抗PSMA構築物のグリコシル化変異体

いくつかの実施態様では、本明細書で提供される抗PSMA構築物は、抗PSMA構築物がグリコシル化される程度を増加又は減少させるように改変される。抗PSMA構築物へのグリコシル化部位の付加又は欠失は、1つ又は複数のグリコシル化部位が作り出されるか又は除去されるように、抗PSMA構築物又はそのポリペプチド部分のアミノ酸配列を改変することによって簡便に達成され得る。

20

【0331】

抗PSMA構築物がFc領域を含む場合、それに結合した炭水化物は改変され得る。哺乳動物細胞によって産生された天然抗体は、典型的には、Fc領域のCH2ドメインのAsn297へのN結合によって通常結合している分岐状の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照。オリゴ糖には、様々な炭水化物、例えばマンノース、N-アセチルグルコサミン（GlcNAc）、ガラクトース及びシアル酸、並びに二分岐オリゴ糖構造の「幹」においてGlcNAcに結合したフコースが含まれ得る。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗PSMA構築物中のオリゴ糖の修飾が、特定の改善された特性を有する抗PSMA構築物のグリコシル化変異体を作製するために行われ得る。

30

【0332】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）は、Fc領域に結合した糖鎖構造がフコースを減少させているか、又はフコースを欠いているFc領域を含み、これはADCC機能を改善し得る。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）は、野生型CHO細胞（例えば、天然のFUT8遺伝子を含むCHO細胞などの天然のグリコシル化パターンを生成するCHO細胞）で産生された同じ抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）上のフコースの量と比較して、フコースが減少している。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、その上のN結合型グリカンの約50%、40%、30%、20%、10%、又は5%未満がフコースを含むものである。例えば、そのような抗PSMA構築物中のフコースの量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、又は20%から40%であり得る。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、その上のN結合型グリカンのいずれもがフコースを含まないもの、すなわち、抗PSMA構築物が完全にフコースを含まないか、又はフコースを有しないか、又はアフコシル化されているものである。フコースの量は、例えば国

40

50

際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI-TOF質量分析法によって測定したとき、Asn297に結合した全ての糖構造（例えば複合体、ハイブリッド、及び高マンノース構造）の合計に対する、Asn297における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297とは、Fc領域内のおよそ297位（Fc領域残基のEU番号付け）に位置するアスパラギン残基を指す；しかしながら、Asn297は、抗体におけるわずかな配列多様性に起因して、297位の約±3アミノ酸上流又は下流、すなわち、294位と300位との間に位置していてもよい。このようなフコシル化変異体は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号（Presta, L.）、米国特許出願公開第2004/0093621号（協和発酵工業株式会社）を参照。「脱フコシル化」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する刊行物の例は、米国特許出願公開第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国特許出願公開第2003/0115614号、米国特許出願公開第2002/0164328号、米国特許出願公開第2004/0093621号、米国特許出願公開第2004/0132140号、米国特許出願公開第2004/0110704号、米国特許出願公開第2004/0110282号、米国特許出願公開第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazaki et al., J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004)、Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)を含む。脱フコシル化抗体を産生できる細胞株の例は、タンパク質のフコシル化を欠損しているLec13 CHO細胞（Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)、Presta, L.の米国特許出願公開第2003/0157108号、及びAdamsらの国際公開第2004/056312号（特に実施例11））及びノックアウト細胞株、例えばα-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ノックアウトCHO細胞（例えば、Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)、Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)、及び国際公開第2003/085107号を参照）を含む。

【0333】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）は、二分されたオリゴ糖を含むグリコシル化変異体であり、例えば、抗PSMA構築物のFc領域に結合した二分岐オリゴ糖がGlcNAcによって二分されている。そのような抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体）グリコシル化変異体は、減少したフコシル化及び／又は改善されたADCC機能を有し得る。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号（Jean-Mairetら）；米国特許第6602684号（Umanaら）；米国特許出願公開第2005/0123546号（Umanaら）、及びFerrara et al., Biotechnology and Bioengineering, 93(5): 851861 (2006)に記載されている。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）は、Fc領域に結合したオリゴ糖に少なくとも1つのガラクトース残基を含むグリコシル化変異体である。このような抗PSMA構築物のグリコシル化変異体は、改善されたCDCC機能を有し得る。そのようなグリコシル化変異体は、例えば国際公開第1997/30087号（Patelら）、国際公開第1998/58964号（Raju, S.）、及び国際公開第1999/22764号（Raju, S.）に記載されている。

【0334】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）グリコシル化変異体は、FcγRIIIに結合することができるFc領域を含む。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）のグリコシル化変異体は、ヒトエフェクター細胞の存在下でADCC活性を有するFc領域を含み、あるいはヒト野生型IgG1 Fc領域を含む抗PSMA構築物（完全長抗PSMA抗体など）と比較して、ヒトエフェクター細胞の存在下で増加したADCC活性を有するFc領域を含む。

【0335】

抗P S M A構築物のシステイン操作変異体

いくつかの実施態様では、1つ又は複数のアミノ酸残基がシステイン残基で置換されるように操作されている。いくつかの実施態様では、置換された残基は、抗P S M A構築物の表面及び／又は溶媒にアクセス可能な部位で生じる。これらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗P S M A構築物のアクセス可能な部位に配置され、薬物部分又はリンカー-薬物部分などの他の部分に抗P S M A構築物をコンジュゲートさせ、抗P S M A免疫コンジュゲート（これらは本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている）を作成するために使用することができる。システイン操作抗P S M A構築物（完全長抗P S M A抗体など）は、米国特許第7521541号に記載されているように生成され得る。

10

【0336】

誘導体化抗P S M A構築物

いくつかの実施態様では、抗P S M A構築物は、当技術分野で知られており、容易に入手可能である追加の非タンパク質性部分を含むようにさらに改変されている。本開示の抗P S M A構築物の誘導体化に適した部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例は、限定されるものではないが、ポリエチレングリコール（PEG）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマー又はランダムコポリマー）及びデキストラン又はポリ（*n*-ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド（polypropylene oxide）／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、並びにこれらの混合物が挙げられる。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドはその水中での安定性のために製造上の利点を有し得る。ポリマーは任意の分子量のものであってよく、分枝鎖又は非分枝鎖であってよい。誘導体化された抗P S M A構築物に結合するポリマーの数は変動する可能性があり、複数のポリマーが結合している場合、ポリマーは同じ分子でも又は異なる分子でもよい。一般的に、誘導体化に使用されるポリマーの数及び／又は種類は、改善されるべき抗P S M A構築物の特定の特性又は機能、その抗P S M A構築物誘導体が限定条件下での治療に使用されるかどうかなどが含まれるがこれらに限定されない考慮事項に基づいて決定することができる。

20

30

【0337】

いくつかの実施態様では、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る抗P S M A構築物及び非タンパク質性部分のコンジュゲートが提供される。いくつかの実施態様では、非タンパク質性部分はカーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射線は任意の波長であってよく、通常の細胞に害を及ぼさないが、非タンパク質性部分を抗P S M A構築物-非タンパク質性部分の近位の細胞が死滅される温度まで加熱する波長が含まれるが、これらに限定されない。

【0338】

薬学的組成物

本明細書に記載の抗P S M A構築物又は抗P S M A構築物の組み合わせを含む組成物（薬学的組成物など、本明細書では「薬学的製剤」又は「製剤」とも呼ばれる）も本明細書で提供される。いくつかの実施態様では、組成物は、抗P S M A構築物又は抗P S M A構築物の組み合わせと会合した細胞（エフェクター細胞など、例えば、T細胞）をさらに含む。いくつかの実施態様では、薬学的組成物は、抗P S M A構築物又は抗P S M A構築物の組み合わせと、薬学的に許容される担体とを含む。いくつかの実施態様では、薬学的組成物は、抗P S M A構築物又は抗P S M A構築物の組み合わせと会合した細胞（エフェクター細胞など、例えば、T細胞）をさらに含む。さらに他の実施態様では、薬学的組成物は、抗P S M A構築物又は抗P S M A構築物の組み合わせをコードする核酸を含む。

40

50

【0339】

抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせの適切な製剤は、所望の純度を有する抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせを、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で、任意の薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)) と混合することによって得られる。許容される担体、賦形剤、又は安定剤は、用いられる用量及び濃度で受容者に対して非毒性であり、これには、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（オクタデシルジメチオルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル又はベンジルアルコール；メチル又はプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン又はリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、又はデキストリンを含む、単糖類、二糖類、及び他の糖（炭水化物）；E D T Aなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えばZ n-タンパク質錯体）；及び／又はT W E E NTM、P L U R O N I C STM、ポリエチレングリコール（P E G）などの非イオン性界面活性剤が含まれる。例示的な製剤は、参照により本明細書に明示的に組み込まれる国際公開第98/5648号に記載されている。皮下投与に適合した凍結乾燥製剤は、国際公開第97/04801号に記載されている。このような凍結乾燥製剤は、適切な希釈剤で高タンパク質濃度に再構成することができ、再構成された製剤は、本明細書において治療される個体に皮下投与され得る。リポフェクチン又はリポソームを使用して、本明細書に記載の抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせを細胞に送達させることができる。

10

20

【0340】

いくつかの実施態様では、薬学的組成物は、治療される特定の適応症に必要な抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせに加えて、1つ又は複数の活性化合物を含む。好ましくは、薬学的組成物中の活性化合物は、互いの活性に悪影響を及ぼさない。いくつかの実施態様では、1つ又は複数の活性化合物は、すなわち、抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせに加えて、抗腫瘍剤、成長阻害剤、細胞障害性剤、又は化学療法剤である。このような分子は、意図される目的に対して効果的な量で組み合わせられて適切に存在する。このような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせの量、疾患又は障害又は治療の種類、及び本明細書の他の場所で論じられる他の要因に依存する。これらは一般に、本明細書に記載されるのと同じ投与量及び投与経路で、又はこれまでに使用された投与量の約1から99%で使用される。

30

【0341】

抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせは、例えば、コアセルベーション技術により又は界面重合により調製されるマイクロカプセルに、例えば、それぞれヒドロキシメチルセルロース又はゼラチンマイクロカプセル及びポリ（メタクリル酸メチル）マイクロカプセルに、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）に、又はマクロエマルジョンに封入されていてもよい。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。徐放性調製物を調製してもよい。

40

【0342】

抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせの徐放性調製物を調製することができる。徐放性調製物の好適な例としては、抗体（又はその断片）を含む固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられる。このマトリックスは、成形品、例えばフィルム又はマイクロカプセルの形態である。徐放性マトリックスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）又はポリ（ビニルアルコール

50

))、ポリ乳酸(米国特許第3773919号)、L-グルタミン酸とエチル-L-グルタメートとのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOTTM(乳酸-グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドからなる注射用ミクロスフェア)などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、及びポリ-D-(+)-3-ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーは100日間以上の分子放出を可能にするが、特定のヒドロゲルはより短い期間にわたってタンパク質を放出する。封入された抗体が体内に長時間にわたって残留する場合、これらは37℃での湿気への曝露の結果として、変性又は凝集して、生物学的活性が失われ、免疫原性が変化する可能性がある。関与する機構に応じて、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせの安定化のための合理的な戦略を考案することができる。例えば、凝集機構が、チオジスルフィド交換による分子間S-S結合形成であることが発見された場合、安定化は、スルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、含水量の制御、適切な添加剤の使用、及び特定のポリマーマトリックス組成物の開発によって達成することができる。

【0343】

いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、クエン酸塩、NaCl、酢酸塩、コハク酸塩、グリシン、ポリソルベート80(Tween80)、又は前述の任意の組み合わせを含む緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、約100mMから約150mMのグリシンを含む緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、約50mMから約100mMのNaClを含む緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、約10mMから約50mMの酢酸塩を含む緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物は、約10mMから約50mMのコハク酸塩を含む緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、約0.005%から約0.02%のポリソルベート80を含む緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、約5.1から5.6の間のpHを有する緩衝液中に製剤化される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、10mMのクエン酸塩、100mMのNaCl、100mMのグリシン、及び0.01%ポリソルベート80を含む緩衝液中に製剤化され、ここで、その製剤はpH5.5である。

【0344】

in vivo投与に使用される薬学的製剤は、無菌でなければならない。これは、例えば、滅菌濾過膜を通した濾過によって容易に達成される。

【0345】

抗PSMA構築物を使用する治療方法

本明細書に記載の抗PSMA構築物、抗PSMA構築物の組み合わせ、及び／又は組成物は、PSMA関連疾患又は障害を治療するために、個体(例えば、ヒトなどの哺乳動物)に投与され得る。いくつかの実施態様では、PSMA関連疾患又は障害は、PSMA発現、PSMA過剰発現、及び／又は異常なPSMA活性によって特徴づけられる。例えば、PSMA関連のがんを含むそのような疾患又は障害は、例えば、前立腺がん(ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞(腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がんを含む。

【0346】

したがって、本明細書で提供されるのは、個体におけるPSMA関連疾患(がんなど)を治療する方法であり、この方法は、本明細書に記載の抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせを含む組成物(薬学的組成物など)の有効量を個体に投与することを含む。いくつかの実施態様では、組成物は、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせと会合した細胞(エフェクター細胞など)(本明細書に記載の抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせを発現するエフェクター細胞など)をさらに含む。いくつかの実施態様では、がんは、例えば、前立腺がん(ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞(腎

明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんである。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。

【0347】

いくつかの実施態様では、本方法において使用される抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、天然に存在しない。いくつかの実施態様では、本方法において使用される抗PSMA構築物は、完全長抗体、多重特異性（例えば、二重特異性）抗PSMA構築物、抗PSMAキメラ抗原受容体（CAR）、抗PSMAキメラ抗体-T細胞受容体構築物（caTCR）、抗PSMAキメラシグナル伝達受容体（CSR）、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている任意の他の抗PSMA構築物である。いくつかの実施態様では、抗PSMA caTCR及び抗PSMA CSRを含む構築物の組み合わせ（例えば、本明細書の他の場所に記載される抗PSMA caTCR+抗PSMA CSR構築物の組み合わせ）が、本方法において使用される。本明細書に記載の構築物又は構築物の組み合わせのそれぞれは、天然形態のヒトPSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現される）に対して高い特異性を示す。いくつかの実施態様では、本方法において使用される薬学的組成物は、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせを発現する、又はそれと会合した細胞（エフェクター細胞など）をさらに含む。いくつかの実施態様では、PSMA関連疾患はがんである。いくつかの実施態様では、がんは、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんである。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。

【0348】

本明細書に記載のPSMA関連疾患を治療するための方法のいずれかのいくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、個体に投与される前に、細胞（免疫細胞など、例えば、T細胞）にコンジュゲートされる。したがって、提供されるのは、a）本明細書に記載の抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせのいずれか1つを細胞（免疫細胞など、例えば、T細胞）にコンジュゲートさせて、抗PSMA構築物/細胞コンジュゲートを形成すること、及びb）抗PSMA構築物/細胞コンジュゲートを含む組成物の有効量を個体に投与することを含む、個体におけるPSMA関連疾患を治療する方法である。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせがコンジュゲートされる細胞は、治療される個体に由来する。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせがコンジュゲートされる細胞は、治療される個体に由来しない。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、細胞の表面上の分子への共有結合によって細胞にコンジュゲートされる。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、細胞の表面上の分子への非共有結合によって細胞にコンジュゲートされる。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせの一部を細胞の外膜に挿入することによって細胞にコンジュゲートされる。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、天然に存在しない。いくつかの実施態様では、本方法において使用される抗PSMA構築物は、完全長抗体、多重特異性（例えば、二重特異性）抗PSMA構築物（タンデムdisCFvなど）、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている任意の他の抗PSMA構築物である。いくつかの実施態様では、抗PSMA caTCR及び抗PSMA CSRを含む構築物の組み合わせ（例えば、本明細書の他の場所に記載される抗PSMA caTCR+抗PSMA CSR構築物の組み合わせ）が、本方法において使用される。いくつかの実施態様では、PSMA関連疾患はがんである。いくつかの実施態様では、がんは、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんである。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。

【0349】

本明細書に記載のPSMA関連疾患を治療するための方法のいずれかのいくつかの実施

態様では、治療は、抗PSMA CAR、抗PSMA caTCR、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）、又は本明細書に開示される抗PSMA CSR、又は本明細書に開示される抗PSMA caTCR+抗PSMA CSR構築物の組み合わせをコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されている（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされている）細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を、必要とするレシピエントに投与することを含む。いくつかの実施態様では、遺伝子改変細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、ナチュラルキラーT細胞、及びサブレッサーT細胞などのT細胞）は、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットによってコードされる、抗PSMA CAR、抗PSMA caTCR、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）、抗PSMA CSR、又は抗PSMA caTCR+抗PSMA CSR構築物の組み合わせを発現する。いくつかの実施態様では、レシピエントは、ヒト、例えば、PSMA関連疾患を有するか又は有することが疑われるヒトなどの哺乳動物である。

10

【0350】

PSMA関連疾患を治療するための方法のいくつかの実施態様では、治療は、レシピエントへの投与の前に、抗PSMA CAR、抗PSMA caTCR、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）、又は抗PSMA CSRをコードする核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を遺伝子改変する（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトする）工程をさらに含む。いくつかの実施態様では、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMA CAR又は抗PSMA caTCRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されており（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされており）、さらに、多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）又はCSRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変される（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされる）。いくつかの実施態様では、多重特異性scFv（例えば、タンデムdi-scFv）はPSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、多重特異性scFv（例えば、タンデムdi-scFv）は、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。いくつかの実施態様では、CSRは、PSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、CSRは、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。いくつかの実施態様では、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）又は抗PSMA CSRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されており（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされており）、さらに、CAR又はcaTCRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変される（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされる）。いくつかの実施態様では、CARは、PSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、CARは、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。いくつかの実施態様では、caTCRは、PSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、caTCRは、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。いくつかの実施態様では、構築物の組み合わせは、抗PSMA caTCR及び抗PSMA CSR（例えば、本明細書の他の場所に記載される抗PSMA caTCR+抗PSMA CSR構築物の組み合わせ）を含む。

20

30

40

【0351】

PSMA関連疾患を治療するための方法のいくつかの実施態様では、治療は、抗PSM

50

A CAR、抗PSMA caTCR、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）、抗PSMA CSR、又は抗PSMA caTCR＋抗PSMA CSR構築物の組み合わせ、例えば上記のようなものをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで、細胞を遺伝子改変する（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトする）工程の前に、個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物、例えば、PSMA関連疾患を有するか又は有すると疑われるヒト）から、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）を得る（例えば、単離する）工程をさらに含む。いくつかの実施態様では、遺伝子改変された細胞が投与されるレシピエントは、細胞が得られた個体である。このような遺伝子改変免疫細胞は、「自家抗PSMAエフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、遺伝子改変された細胞が投与されるレシピエントは、細胞が得られた個体ではない。このような遺伝子改変免疫細胞は、「異種抗PSMAエフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、異種抗PSMA細胞は、レシピエントに関して同種異系、同系、又は異種である。

10

【0352】

いくつかの実施態様では、個体は、哺乳動物（例えば、ヒト、非ヒト霊長類（アカゲザル又はカニクイザルなど）、ラット、マウス、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコなど）である。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。いくつかの実施態様では、個体は、臨床患者、臨床試験ボランティア、実験動物などである。いくつかの実施態様では、個体は、約60歳よりも若い（例えば、約50歳、約40歳、約30歳、約25歳、約20歳、約15歳、又は約10歳のいずれかよりも若いものを含む）。いくつかの実施態様では、個体は、約60歳よりも年上である（例えば、約70歳、約75歳、約80歳、約85歳、約90歳、約95歳、約100歳、又は100歳を超えるいずれか1つよりも年上であるものを含む）。いくつかの実施態様では、個体は、本明細書に記載のPSMA関連疾患又は障害（例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がん）のうちの1つ又は複数と診断されるか、あるいは遺伝的にその傾向がある。いくつかの実施態様では、個体は、本明細書に記載の1つ又は複数のPSMA関連疾患又は障害に関連する1つ又は複数の危険因子を有する。

20

【0353】

抗PSMA構築物（本明細書に記載の抗PSMA構築物のいずれか1つなど）又は抗PSMA構築物の組み合わせ（本明細書に記載の抗PSMA構築物の組み合わせのいずれか1つなど）を、PSMA（細胞表面結合PSMAなど）を発現する細胞に送達する方法であって、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせを含む組成物を個体に投与することを含む方法も提供される。いくつかの実施態様では、送達される抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、細胞（エフェクター細胞、例えば、T細胞など）と会合している。

30

【0354】

PSMA関連のがん、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（明細胞腎細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がん又は他の任意のPSMA関連疾患、例えば、PSMA発現を示す疾患の多くの診断方法及びそれらの疾患の臨床描写は当技術分野で知られている。そのような方法には、例えば、免疫組織化学、PCR、及び蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0355】

いくつかの実施態様では、PSMA関連疾患又は障害、例えば、PSMA発現を伴う疾患を治療するために、本開示の抗PSMA構築物、抗PSMA構築物の組み合わせ、及び／又は組成物は、第2、第3、又は第4の薬剤（例えば、抗腫瘍剤、成長阻害剤、細胞障害性剤、又は化学療法剤を含む）と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせは、罹患細胞（がん細胞など）上でのPSMAの発現を増加させる薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施態様では、薬剤は、

50

例えば、トポテカン、エトポシド、シスプラチン、パクリタキセル、及びビンブラスチンを含む化学療法剤である。

【0356】

がん治療の有効性は、例えば、限定されないが、例えば、腫瘍の退縮、腫瘍の重量又は大きさの縮小、進行までの時間、生存期間、無増悪生存期間、全奏効率、奏効期間、生活の質、P S M Aタンパク質発現及び／又はP S M A活性を含む様々な周知の方法によって評価することができる。治療の有効性を決定するためのアプローチは、例えば、放射線画像による応答の測定を含め、採用することができる。

【0357】

いくつかの実施態様では、治療方法の有効性は、式 $100 - (T / C \times 100)$ を使用して計算された、腫瘍増殖阻害のパーセンテージ (% T G I) として測定され、ここで、Tは治療された腫瘍の平均相対腫瘍体積であり、Cは未治療腫瘍の平均相対腫瘍体積である。いくつかの実施態様では、% T G Iは、約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、又は95%超（例えば、最大100%）のいずれか1つであり、これらの値の間の任意の範囲を含む。

【0358】

抗P S M A構築物の投薬及び投与

個体（ヒトなど）に投与される、本明細書に記載の抗P S M A構築物又は構築物の組み合わせを含む薬学的組成物の用量は、特定の組成物、投与形式、及び治療される疾患の種類によって変動し得る。いくつかの実施態様では、薬学的組成物の量は、客観的応答（例えば、固形腫瘍の場合、部分奏効（P R）又は完全奏効（C R）、例えば、Eisenhauer et al. (2009) European Journal of Cancer, 45 (2): 228-247又はTherasse et al. (2000) J. Nat'l. Cancer Inst. 92(3): 205-216に記載されているR E C I S T基準による）をもたらすのに効果的である。いくつかの実施態様では、それを必要とする個体に投与される抗P S M A構築物（又は構築物の組み合わせ）を含む組成物の量は（例えば、単剤として投与される場合）、本明細書に記載の抗P S M A構築物（又は構築物の組み合わせ）を含む薬学的組成物で治療された個体の集団の中で、約20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、64%、65%、70%、75%、80%、85%、又は90%のいずれか1つを超える全奏功率を生成するのに十分である。本明細書に記載の方法の治療に対する個体の応答は、例えば、R E C I S Tレベルに基づいて決定することができる。

【0359】

いくつかの実施態様では、それを必要とする個体に投与される薬学的組成物の量は、個体の無増悪生存期間を延長するのに十分である。いくつかの実施態様では、それを必要とする個体に投与される薬学的組成物の量は、個体の全生存期間を延長するのに十分である。いくつかの実施態様では、それを必要とする個体に投与される組成物の量は、抗P S M A構築物組成物で治療された個体の集団の中で、約50%、60%、70%、又は77%のいずれかよりも多い臨床的利益率を生み出すのに十分である。

【0360】

いくつかの実施態様では、それを必要とする個体に投与される組成物の量（例えば、単剤として、又は第2、第3、及び／若しくは第4の薬剤と組み合わせて）は、治療前の同じ対象における対応する腫瘍の大きさ、がん細胞の数、若しくは腫瘍増殖速度と比較した場合、又は治療を受けていない他の対象における対応する活性と比較した場合、少なくとも約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、又は100%（これらの値の間の任意の範囲を含む）のいずれかまで、腫瘍の大きさを減少させ、がん細胞の数を減少させ、又は腫瘍の増殖速度を減少させるのに十分である。精製された酵素を用いたin vitroアッセイ、細胞ベースのアッセイ、動物モデル、又はヒト試験などの標準的な方法を使用して、この効果の大きさを測定することができる。

10

20

30

40

50

【0361】

いくつかの実施態様では、薬学的組成物中の抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体、多重特異性抗PSMA構築物、抗PSMA CAR、抗PSMAキメラ抗体-T細胞受容体構築物（caTCR）、抗PSMAキメラシグナル伝達受容体（CSR）、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている他の任意の抗PSMA構築物若しくは構築物の組み合わせ）の量は、毒性学的効果を誘導するレベル未満である。いくつかの実施態様では、薬学的組成物中の抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体、多重特異性抗PSMA構築物、抗PSMA CAR、抗PSMAキメラ抗体-T細胞受容体構築物（caTCR）、抗PSMAキメラシグナル伝達受容体（CSR）、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている他の任意の抗PSMA構築物若しくは構築物の組み合わせ）の量は、組成物が個人に投与されるときに潜在的な副作用が制御され得るか又は許容され得るレベルにある。

10

【0362】

いくつかの実施態様では、それを必要とする個体に投与される薬学的組成物の量は、同じ投薬レジメンに従った組成物の最大耐量（MTD）に近い。いくつかの実施態様では、組成物の量は、MTDの約80%、90%、95%、又は98%のいずれかよりも多い。

【0363】

いくつかの実施態様では、薬学的組成物中の抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体、多重特異性抗PSMA構築物、抗PSMA CAR、抗PSMAキメラ抗体-T細胞受容体構築物（caTCR）、抗PSMAキメラシグナル伝達受容体（CSR）、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている他の任意の抗PSMA構築物若しくは構築物の組み合わせ）の量は、約0.001 µgから約1000 µgの範囲に含まれる。

20

【0364】

いくつかの実施態様では、組成物中の抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体、多重特異性抗PSMA構築物、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されている任意の他の抗PSMA構築物若しくは構築物の組み合わせ）の有効量は、総体重の約0.1 µg/kgから約100 mg/kgの範囲にある。

30

【0365】

本明細書に記載の抗PSMA構築物又は構築物の組み合わせを含む薬学的組成物は、例えば、静脈内、門脈内、動脈内、腹腔内、肝内、肝動脈注入、肺内、経口、吸入、小胞内、筋肉内、気管内、皮下、眼内、髄腔内、経粘膜、及び経皮を含む、任意の既知の利用可能な経路を介して個体（ヒトなど）に投与され得る。いくつかの実施態様では、本明細書に記載の抗PSMA構築物を含む薬学的組成物の持続連続放出製剤を使用することができる。

【0366】

抗PSMAエフェクター細胞療法

いくつかの実施態様では、PSMA関連疾患又は障害を治療する方法は、抗PSMAエフェクター細胞（例えば、抗PSMA CARエフェクター細胞、抗PSMA caTCRエフェクター細胞、抗PSMA caTCRプラスタンデムdisCFvエフェクター細胞、及び／又は抗PSMA caTCRプラスCSREフェクター細胞）を使用して、エフェクター細胞（一次T細胞など）の特異性をPSMA（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるか、又は細胞の表面と会合したPSMA）にリダイレクトすることを含む。したがって、本明細書で提供されるのは、個体における標的細胞集団及び／又は組織（例えば、PSMA発現細胞を含む標的細胞集団及び／又は組織）に対するエフェクター細胞媒介性応答（T細胞媒介性免疫応答など）を刺激する方法であり、該方法は、本明細書に記載の抗PSMAエフェクター細胞（T細胞など）を個体に投与する工程を含む。

40

50

【0367】

抗PSMAエフェクター細胞（T細胞など）、例えば、本明細書の他の場所でさらに詳細に記載されているようなものなどは、それを必要とする個体（例えば、がんなどのPSMA関連疾患又は障害を有するか又は有すると疑われる個体）に注入することができる。注入された抗PSMAエフェクター細胞は、個体におけるPSMA発現細胞を死滅させることができる。治療用抗体とは異なり、抗PSMAエフェクター細胞（T細胞など）は*in vivo*で複製することができ、結果として持続的な腫瘍制御につながる可能性のある長期的な持続性が得られる。いくつかの実施態様では、抗PSMAエフェクター細胞（T細胞など）は、任意のさらなる腫瘍形成又は増殖を阻害するために再活性化され得る特定のメモリーT細胞に発達する。

10

【0368】

本明細書に記載の抗PSMAエフェクター細胞（T細胞など）はまた、個体における*ex vivo*免疫化及び／又は*in vivo*療法のための一種のワクチンとしても機能し得る。いくつかの実施態様では、個体は哺乳動物である。いくつかの実施態様では、哺乳動物は、ヒト又は非ヒト霊長類（アカゲザル又はカニクイザルなど）である。

【0369】

*ex vivo*免疫化に関しては、細胞を個体に投与する前に、以下のうち少なくとも1つが*in vitro*で行われる：i)細胞の増殖、ii)抗PSMA CAR又は抗PSMA cαTCRをコードする核酸を細胞に導入すること、及び／又はiii)細胞の凍結保存。

20

【0370】

*ex vivo*の手順は当技術分野でよく知られており、以下でより完全に議論される。簡潔には、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）が、個体（例えば、哺乳動物、好ましくはヒト）から単離され、本明細書に開示される、抗PSMA CAR、抗PSMA cαTCR、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（抗PSMAタンデムdiscFvなど）、及び／又は抗PSMA CSRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変される（すなわち、例えば、*in vitro*で形質導入又はトランスフェクトされる）。

【0371】

いくつかの実施態様では、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMA CAR又は抗PSMA cαTCRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されており（すなわち、例えば*in vitro*で形質導入又はトランスフェクトされており）、さらに、多重特異性scFv（タンデムdiscFvなど）又はCSRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変される（すなわち、例えば*in vitro*で形質導入又はトランスフェクトされる）。いくつかの実施態様では、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMA CAR又は抗PSMA cαTCR及び多重特異性scFv（タンデムdiscFvなど）をコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されている（すなわち、例えば*in vitro*で形質導入又はトランスフェクトされている）。いくつかの実施態様では、細胞（例えば、αβT細胞、γδT細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMA CAR又は抗PSMA cαTCR及びCSRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されている（すなわち、例えば*in vitro*で形質導入又はトランスフェクトされている）。いくつかの実施態様では、多重特異性scFv（例えば、タンデムdiscFv）はPSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、多重特異性scFv（例えば、タンデムdiscFv）は、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。いくつかの実施態様では、CSRは、P

30

40

50

PSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、CSRは、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。

【0372】

いくつかの実施態様では、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）又は抗PSMA CSRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されており（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされており）、さらに、CAR又はcaTCRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変される（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされる）。いくつかの実施態様では、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）又は抗PSMA CSR及びCARをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されている（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされている）。いくつかの実施態様では、細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、抗PSMAタンデム多重特異性scFv（タンデムdi-scFvなど）又は抗PSMA CSR及びcaTCRをコードする、核酸、核酸のセット、ベクター、又はベクターのセットで遺伝子改変されている（すなわち、例えばin vitroで形質導入又はトランスフェクトされている）。いくつかの実施態様では、CARは、PSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、CARは、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。いくつかの実施態様では、caTCRは、PSMAを標的とする。いくつかの実施態様では、caTCRは、異なる抗原（例えば、PSMA以外の抗原）を標的とする。

【0373】

いくつかの実施態様では、上記のように遺伝子改変されている（すなわち、例えば、in vitroで形質導入又はトランスフェクトされている）細胞（例えば、 $\alpha\beta$ T細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞などのT細胞）は、レシピエントに投与される。いくつかの実施態様では、レシピエントは、ヒト、例えば、PSMA関連疾患を有するか又は有することが疑われるヒトなどの哺乳動物である。いくつかの実施態様では、遺伝子改変された細胞が投与されるレシピエントは、細胞が得られた個体である。このような遺伝子改変免疫細胞は、「自家抗PSMAエフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、遺伝子改変された免疫細胞が投与されるレシピエントは、細胞が得られた個体ではない。このような遺伝子改変免疫細胞は、「異種抗PSMAエフェクター細胞」と呼ばれる。いくつかの実施態様では、異種抗PSMAエフェクター細胞は、レシピエントに関して同種異系、同系、又は異種である。

【0374】

造血幹細胞及び前駆細胞のex vivo増殖の手順は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許第5199942号に記載されている。他の適切な方法も当技術分野で知られており、本開示は、細胞のex vivo増殖の特定の方法に限定されるものではない。簡潔には、T細胞のex vivo培養及び増殖は、（1）末梢血採取又は骨髓外植片からの個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）からのCD34⁺造血幹細胞及び前駆細胞を収集すること；及び（2）そのような細胞をex vivoで増殖させることを含む。米国特許第5,199,942号に記載されている細胞増殖因子に加えて、flt3-L、IL-1、IL-3及びc-kitリガンドなどの他の因子を、細胞の培養及び増殖に使用することができる。

【0375】

ex vivo免疫化の観点から細胞ベースのワクチンを使用することに加えて、本開示はまた、それを必要とする個体（例えば、がんなどのPSMA関連疾患又は障害を有す

るか又は有すると疑われる個体)において抗原に対する免疫応答を誘導する *in vivo* 免疫化のための組成物及び方法を提供する。

【0376】

本開示の抗PSMAエフェクター細胞(T細胞など)は、単独で、又は希釈剤及び／又はIL-2若しくは他のサイトカイン若しくは細胞集団などの他の成分と組み合わせた薬学的組成物として投与され得る。そのような組成物は、中性緩衝生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水などの緩衝液；グルコース、マンノース、スクロース又はデキストラン、マンニトールなどの炭水化物；タンパク質；ポリペプチド又はグリシンなどのアミノ酸；抗酸化剤；EDTA又はグルタチオンなどのキレート剤；アジュバント(例えば、水酸化アルミニウム)；及び防腐剤を含み得る。いくつかの実施態様では、エフェクター細胞(T細胞など)の組成物は、静脈内投与のために製剤化される。

10

【0377】

それを必要とする個体に投与される本開示の抗PSMAエフェクター細胞(T細胞など)の正確な量は、個体の年齢、体重、腫瘍の大きさ、疾患の病期及び／又は重症度、転移の有無、個体の状態、並びにその他の要因を考慮して、医師によって判断され得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗PSMAエフェクター細胞(T細胞など)を含む薬学的組成物は、約 10^4 から約 10^9 細胞/kg体重の投与量で、例えば、約 10^4 から約 10^5 、約 10^5 から約 10^6 、約 10^6 から約 10^7 、約 10^7 から約 10^8 、又は約 10^8 から約 10^9 細胞/kg体重(これらの範囲内の全ての整数値を含む)のいずれかの投与量で投与される。抗PSMAエフェクター細胞(T細胞など)組成物もまた、これらの投与量で複数回投与され得る。細胞は、免疫療法で一般的に知られている注入技術を使用して投与することができる(例えば、Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988を参照)。特定の患者のための最適な投与量及び治療レジメンは、疾患の兆候について患者を監視し、それに応じて治療を調整することにより、医学の当業者によって容易に決定することができる。

20

【0378】

いくつかの実施態様では、本明細書に記載の活性化抗PSMAエフェクター細胞(T細胞など)を個体に投与し、その後、採血し(又はアフエレーシスを実施し)、再採取された血液から得られた本明細書に記載の抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)を活性化し、活性化及び増殖された抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)を個体に再注入することが望ましい場合がある。いくつかの実施態様では、このプロセスは、数週間ごとに複数回実施される。いくつかの実施態様では、抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)は、10ccから400ccの採血から活性化される。いくつかの実施態様では、抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)は、20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc、又は100ccの採血から活性化される。

30

【0379】

本明細書に記載の抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)の投与は、エアロゾル吸入、注射、摂取、輸血、注入又は移植を含む任意の好都合な方法で実施され得る。本明細書に記載の抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)を含む組成物は、患者に対して、皮下、皮内、皮下、腫瘍内、節内、髄内、筋肉内、静脈内(i.v.)注射によって、又は腹腔内に投与され得る。いくつかの実施態様では、本開示の抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)を含む組成物は、腫瘍、リンパ節、又は疾患部位に直接静脈内注射によって投与される。

40

【0380】

提供されるのは、本開示の抗PSMAエフェクター細胞(例えば、抗PSMA T細胞)を含む組成物の有効量を個体に投与することを含む、個体のPSMA関連疾患を治療する方法である。いくつかの実施態様では、PSMA関連疾患はがんである。いくつかの実施態様では、がんは、例えば、前立腺がん(ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞(腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がんである。いくつかの実

50

施態様では、個体はヒトである。いくつかの実施態様では、抗 P S M A エフェクター細胞（例えば、抗 P S M A T 細胞）を含む組成物が投与される個体は、P S M A 関連疾患を有する（例えば、診断されている）か、又は有すると疑われる個体である。いくつかの実施態様では、P S M A 関連疾患は、少なくとも 1 つの従来の治療に対して抵抗性である。いくつかの実施態様では、抗 P S M A エフェクター細胞（例えば、抗 P S M A T 細胞）を含む組成物が投与される個体は、P S M A 関連疾患を有し（例えば、診断されており）、かつ P S M A 関連疾患の少なくとも 1 つの従来の治療後に再発した個体である。

【0381】

がん

本明細書に記載の抗 P S M A 構築物及びエフェクター細胞は、がん、例えば、P S M A 関連がんの治療において使用され得る。本明細書に記載の方法のいずれかを使用して治療することができるがんには、血管新生されていない、又はまだ実質的に血管新生されていない腫瘍、並びに血管新生された腫瘍が含まれる。がんは、非固形腫瘍（例えば、白血病及びリンパ腫などの血液腫瘍など）を含み得るか、又は固形腫瘍を含み得る。本明細書に記載の抗 P S M A 構築物及びエフェクター細胞で治療されるがんの種類には、限定されないが、癌腫、芽細胞腫、及び肉腫、並びに白血病又はリンパ性悪性腫瘍、良性及び悪性腫瘍、並びに黒色腫などの悪性腫瘍が含まれる。成人の腫瘍／がん及び小児の腫瘍／がんも考慮される。

【0382】

血液がんは、血液又は骨髄のがんである。血液学的（又は血行性）がんの例には、白血病、例えば、急性白血病（急性リンパ性白血病、急性骨髄球性白血病、急性骨髄性白血病、並びに骨髄芽球性白血病、前骨髄球性白血病、骨髄単球性白血病、単球性白血病及び赤白血病など）、慢性白血病（慢性骨髄性（顆粒球性）白血病、慢性骨髄性白血病、慢性リンパ性白血病など）、真性多血症、リンパ腫、ホジキン病、非ホジキンリンパ腫（無痛性及び高悪性度の形態）、多発性骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、重鎖病、骨髄異形成症候群、有毛細胞白血病、及び脊髄形成異常症が挙げられる。

【0383】

固形腫瘍は、通常、嚢胞又は液体領域を含まない組織の異常な塊である。固形腫瘍には良性のものもあれば、悪性のものもある。固形腫瘍の異なる種類は、それらを形成する細胞の種類（肉腫、癌腫、リンパ腫など）に対して命名される。肉腫及び癌などの固形腫瘍の例としては、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、及び他の肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、リンパ系腫瘍、肝臓がん、膵臓がん、子宮がん、乳がん、肺がん、卵巣がん、前立腺がん、肝細胞癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、甲状腺髄様癌、甲状腺乳頭癌、褐色細胞腫、皮脂腺癌、乳頭状癌、乳頭状腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、ヘパトーマ、胆管癌、絨毛癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸がん（例えば、子宮頸癌及び前浸潤性子宮頸部異形成）、肛門、肛門管、又は肛門直腸のがん、膣がん、外陰部がん（例えば、扁平上皮癌、上皮内癌、腺癌、及び線維肉腫）、陰茎がん、中咽頭がん、頭部がん（例えば、扁平上皮癌）、頸部がん（例えば、扁平上皮癌）、精巣がん（例えば、セミノーマ、奇形腫、胎児性癌、奇形癌、絨毛癌、肉腫、ライディッヒ細胞腫瘍、線維腫、線維腺腫、腺腫様腫瘍及び脂肪腫）、膀胱癌、黒色腫、子宮のがん（例えば、子宮内膜癌）、尿路上皮がん（例えば、扁平上皮癌、移行上皮癌、腺癌、尿管がん及び膀胱がん）、及び C N S 腫瘍（例えば、神経膠腫（例えば、脳幹神経膠腫及び混合神経膠腫）、神経膠芽腫（多形神経膠芽腫としても知られる）、星状細胞腫、C N S リンパ腫、胚細胞腫、髄芽細胞腫、シュワン腫頭蓋咽頭腫（c r a n i o p h a r y o g i o m a）、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起神経膠腫、髄膜腫（m e n a n g i o m a）、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫及び脳転移）が挙げられる。

【0384】

いくつかの実施態様では、P S M A 過剰発現がんは前立腺がんである。いくつかの実施態様では、前立腺がんは腺癌である。いくつかの実施態様では、前立腺がんは、肉腫、神

10

20

30

40

50

経内分泌腫瘍、小細胞がん、腺管がん、又はリンパ腫である。いくつかの実施態様では、前立腺がんは、Whitmore-Jewett病期分類システム、TNM（すなわち、腫瘍、リンパ節、転移）病期分類システム、又はAUA（Modified Whitmore-Jewett）病期分類システムに従って、A、B、C、又はDの4つの段階のいずれかにある。いくつかの実施態様では、前立腺がんはステージAの前立腺がん（例えば、がんは直腸検査中に触知することができない）である。いくつかの実施態様では、前立腺がんはステージBの前立腺がんである（例えば、腫瘍は前立腺内により多くの組織を含み、直腸検査中に触知することができるか、あるいはPSAレベルが高いために行われる生検で発見される）。いくつかの実施態様では、前立腺がんはステージCの前立腺がん（例えば、がんが前立腺の外に出て近くの組織に転移している）である。いくつかの実施態様では、前立腺がんはステージDの前立腺がんである。いくつかの実施態様において、前立腺がんは、アンドロゲン非依存性前立腺がん（AIPC）である。いくつかの実施態様では、前立腺がんは、アンドロゲン依存性前立腺がんである。いくつかの実施態様では、前立腺がんは、ホルモン療法に抵抗性である。

10

【0385】

がん治療は、例えば、腫瘍の退縮、腫瘍の重量又は大きさの縮小、進行までの時間、生存期間、無増悪生存期間、全奏効率、奏効期間、生活の質、タンパク質発現及び／又は活性によって評価することができる。治療の有効性を決定するためのアプローチは、例えば、放射線画像による応答の測定を含め、採用することができる。

20

【0386】

診断及び画像化のための方法

本明細書に記載の標識された抗PSMA構築物（例えば、がん細胞などの細胞の表面上に発現されるPSMAに特異的に結合する構築物）は、診断目的のために、例えば、PSMA関連疾患又は障害、例えば、PSMAの発現、異常な発現及び／又は活性に関連する疾患又は障害の進行を検出する、診断する、監視するために、かつ／あるいはPSMA関連疾患の治療に対する患者の応答を監視するために使用され得る。例示的なPSMA関連疾患又は障害には、本明細書に記載の疾患及び障害、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんを含む）のいずれかが含まれる。例えば、本明細書に記載の抗PSMA構築物は、in situ、in vivo、ex vivo、及びin vitro診断アッセイ又は画像化アッセイにおいて使用することができる。

30

【0387】

いくつかの実施態様では、個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物、又はアカゲザル若しくはカニクイザルなどの非ヒト霊長類）におけるPSMAの発現又は異常な発現に関連する疾患又は障害を診断する方法が提供される。本方法は、個体においてPSMAを異常に発現する細胞を検出することを含む。いくつかの実施態様では、（a）本明細書に記載の標識された抗PSMA構築物の有効量を個体に投与すること；（b）閾値レベルを超える標識のレベルが、個体が疾患又は障害を有することを示すように、個体における標識のレベルを決定することを含む、個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物又はアカゲザル若しくはカニクイザルなどの非ヒト霊長類）におけるPSMA関連疾患又は障害を診断する方法が提供される。閾値レベルは、例えば、疾患又は障害を有する個体の第1のセット及び疾患又は障害を有しない個体の第2のセットにおいて、本明細書に記載の診断方法に従って標識を検出すること、及び閾値を、第1のセットと第2のセットとの間の識別を可能にするレベルに設定することを含む様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施態様では、閾値レベルはゼロであり、本方法は、個体における標識の存在又は非存在を決定することを含む。いくつかの実施態様では、方法は、工程（a）の投与後、標識された抗PSMA構築物が、個体において、PSMAが発現している部位に優先的に集結できるようにするために（かつ結合していない標識された抗PSMA構築物が除去されるように）、ある時間間隔を待つことをさらに含む。いくつかの実施態様では、本方法は、標識のバックグラウンドレベルを差し引くことをさらに含む。バックグラウンドレベルは、例えば

40

50

、標識された抗 P S M A 構築物の投与前に、個体における標識を検出すること、又は、疾患又は障害を有しない個体において、本明細書に記載の診断方法に従って標識を検出することを含む、様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はがんである。いくつかの実施態様では、がんは、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんからなる群から選択される。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。いくつかの実施態様では、個体は、P S M A の発現、異常な発現、及び／又は活性に関連する疾患又は障害を有することが疑われる。

【0388】

いくつかの実施態様では、（a）本明細書に記載の実施態様のいずれかによる標識された抗 P S M A 構築物を、個体から得られた、又は由来する試料（均質化された組織など）と接触させること；及び（b）閾値レベルを超える標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数の値が、個体が疾患又は障害を有することを示すように、試料中の標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数を決定することを含む、個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物又はアカゲザル若しくはカニクイザルなどの非ヒト霊長類）における P S M A 関連疾患又は障害を診断する方法が提供される。閾値レベルは、例えば、疾患又は障害を有する個体の第 1 のセット及び疾患又は障害を有しない個体の第 2 のセットにおいて、本明細書に記載の診断方法に従って、標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数を決定すること、及び閾値を、第 1 のセットと第 2 のセットとの間の識別を可能にするレベルに設定することを含む様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施態様では、閾値レベルはゼロであり、本方法は、試料中の標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の存在又は非不在を決定することを含む。いくつかの実施態様では、本方法は、標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数のバックグラウンドレベルを差し引くことをさらに含む。バックグラウンドレベルは、例えば、標識された抗 P S M A 構築物の投与前に、個体における標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数を決定すること、又は、疾患又は障害を有しない個体において、本明細書に記載の診断方法に従って、標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数を決定することを含む、様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施態様では、疾患又は障害はがんである。いくつかの実施態様では、がんは、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんからなる群から選択される。いくつかの実施態様では、がんは転移性である。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。いくつかの実施態様では、個体は、P S M A 関連疾患又は障害を有することが疑われる。

【0389】

いくつかの実施態様では、（a）本明細書に記載の実施態様のいずれかによる標識された抗 P S M A 構築物を、個体に由来する組織試料と接触させること；及び（b）閾値レベルを超える標識された抗 P S M A 構築物と結合した、組織試料中の細胞の数の値が、個体が P S M A 関連がんを有することを示すように、標識された抗 P S M A 構築物と結合した、組織試料中の細胞の数を決定することを含む、個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物又はアカゲザル若しくはカニクイザルなどの非ヒト霊長類）における P S M A 関連がんを診断する方法が提供される。閾値レベルは、例えば、P S M A 関連するがんを有する個体の第 1 のセットからの組織試料及び P S M A 関連がんを有しない個体の第 2 のセットからの組織試料において、本明細書に記載の診断方法に従って、標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数を決定すること、及び閾値を、第 1 のセットと第 2 のセットからの組織試料間の識別を可能にするレベルに設定することを含む様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施態様では、閾値レベルはゼロであり、本方法は、標識された抗 P S M A 抗体部分と結合した、組織試料中の細胞の存在又は非不在を決定することを含む。いくつかの実施態様では、本方法は、標識された抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数のバックグラウンドレベルを差し引くことをさらに含む。バックグラウンドレベルは、例えば、標識された抗 P S M A 構築物と接触させる前に、個体における標識された抗 P S M A

構築物と結合した、組織試料中の細胞の数を決定すること、又は、本明細書に記載の診断方法に従って、標識された抗 P S M A 構築物と結合した、組織試料（組織試料は、P S M A 関連がんを有しない個体から得られたか又は由来する）中の細胞の数を決定することを含む、様々な方法によって決定することができる。いくつかの実施態様では、P S M A 関連がんは、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんからなる群から選択される。いくつかの実施態様では、個体はヒトである。いくつかの実施態様では、個体は、P S M A 関連がんを有することが疑われる。

【0390】

本明細書で提供される抗 P S M A 構築物は、当業者に知られている方法を使用して、生物学的試料中の P S M A のレベルをアッセイするために使用され得る。適切な標識は当技術分野で知られており、グルコースオキシダーゼなどの酵素標識；放射性同位元素、例えば、ヨウ素（ ^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{124}I ）、炭素（ ^{14}C ）、硫黄（ ^{35}S ）、トリチウム（ ^3H ）、インジウム（ $^{115\text{m}}\text{In}$ 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 ^{112}In 、 ^{111}In ）、テクネチウム（ $^{99\text{Tc}}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ）、タリウム（ ^{201}Ti ）、ガリウム（ ^{68}Ga 、 ^{67}Ga ）、パラジウム（ ^{103}Pd ）、モリブデン（ ^{99}Mo ）、キセノン（ ^{133}Xe ）、フッ素（ ^{18}F ）、サマリウム（ ^{153}Sm ）、ルテチウム（ ^{177}Lu ）、ガドリニウム（ ^{159}Gd ）、プロメチウム（ ^{149}Pm ）、ランタン（ ^{140}La ）、イッテルビウム（ ^{175}Yb ）、ホルミウム（ ^{166}Ho ）、イットリウム（ ^{90}Y ）、スカンジウム（ ^{47}Sc ）、レニウム（ ^{186}Re 、 ^{188}Re ）、プラセオジウム（ ^{142}Pr ）、ロジウム（ ^{105}Rh ）、及びルテニウム（ ^{97}Ru ）など；ルミノール；フルオレセイン及びローダミンなどの蛍光標識；及びビオチンが挙げられる。

【0391】

当技術分野で知られている技術は、本明細書で提供される標識された抗 P S M A 構築物に適用され得る。そのような技術には、二官能性コンジュゲート剤の使用が含まれるが、これに限定されない（例えば、米国特許第 5 7 5 6 0 6 5 号；第 5 7 1 4 6 3 1 号；第 5 6 9 6 2 3 9 号；第 5 6 5 2 3 6 1 号；第 5 5 0 5 9 3 1 号；第 5 4 8 9 4 2 5 号；第 5 4 3 5 9 9 0 号；第 5 4 2 8 1 3 9 号；第 5 3 4 2 6 0 4 号；第 5 2 7 4 1 1 9 号；第 4 9 9 4 5 6 0 号；及び第 5 8 0 8 0 0 3 号を参照）。上記のアッセイに加えて、様々な *in vivo* アッセイ及び *ex vivo* アッセイが当業者には利用可能である。例えば、対象の体内の細胞を、検出可能な標識、例えば放射性同位体で任意選択で標識された抗 P S M A 構築物に曝露することができ、抗 P S M A 抗体部分の細胞への結合を、例えば、放射能についての外部スキャンによって、又は以前に抗 P S M A 構築物に曝露された対象に由来する試料（例えば、生検又は他の生物学的試料）を分析することによって、評価することができる。

【0392】

製造品及びキット

本明細書で提供されるのは、がん（例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がん）などの P S M A 関連疾患の診断又は治療のため、抗 P S M A 構築物若しくは構築物の組み合わせを、細胞表面上に P S M A を発現する細胞に送達するため、又は個体における P S M A 発現細胞の単離又は検出のために有用な材料を含む製造品である。製造品は、容器と、容器上又は容器に不随するラベル又は添付文書を含むことができる。適切な容器は、例えばボトル、バイアル、シリンジなどを含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な材料から形成され得る。一般に、容器は、本明細書に記載の P S M A 関連疾患又は障害を診断又は治療するために有効な組成物を収容し、滅菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は皮下注射針で貫通可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってもよい）。組成物中の少なくとも 1 つの活性剤は、本明細書で提供される抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせである。ラベル又は添付文書は、組成物が特定の状態を治療するために使用されることを示している。ラベル又は添付文書は、抗 P S M A 構築物又

は構築物の組み合わせ（又は、例えば、そのような構築物又は構築物の組み合わせを含む組成物）をそれを必要とする個体（例えば、P S M A 関連疾患又は障害を有する又は有すると疑われる個体）に投与するための説明書をさらに含む。コンビナトリアル療法（例えば、本明細書に記載の抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせに加えて、1 つ又は複数の治療剤）を含む製造品及びキットも企図される。

【0393】

添付文書は、治療製品の商品パッケージに通例含まれる、そのような治療製品の効能、用法、用量、投与、禁忌及び／又は使用上の注意事項についての情報を含む説明書を指す。いくつかの実施態様では、添付文書は、組成物が、P S M A 関連がん（例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）

10

【0394】

追加的に、製造品は、薬学的に許容される緩衝液、例えば注射用制菌水（B W F I）、注射用滅菌水（S W F I）、リン酸緩衝生理食塩水、リンゲル液及びデキストロース溶液を収容する第2の容器をさらに含んでもよい。それは、他の緩衝液、希釈剤、フィルター、針、及び注射器を含む、商業的及びユーザーの観点から望ましい他の材料をさらに含み得る。

【0395】

任意選択で製造品と組み合わせて、様々な目的のため、例えば、本明細書に記載の P S M A 関連疾患又は障害の治療のため、抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせを、細胞表面に P S M A を発現する細胞へ送達するため、あるいは個体の P S M A 結合細胞を単離又は検出するために有用であるキットも提供される。本明細書で提供されるキットは、抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせ（又はその単位剤形及び／若しくは製造品）を含む組成物を含む1つ又は複数の容器を含み、いくつかの実施態様では、別の薬剤（本明細書に記載される薬剤など）及び／又は本明細書に記載の方法のいずれかに従って使用するための説明書をさらに含む。キットは、治療に適した個体の選択説明をさらに含み得る。本明細書で提供される説明書は、典型的には、ラベル又は添付文書（例えば、キットに含まれる紙シート）に書かれているが、機械読み取り可能な説明書（例えば、磁気記憶ディスク又は光学式記憶ディスク上に記載された説明書）もまた許容される。

20

【0396】

例えば、いくつかの実施態様では、キットは、抗 P S M A 構築物（例えば、完全長抗 P S M A 抗体、単一特異性抗 P S M A 構築物、多重特異性抗 P S M A 構築物（二重特異性抗 P S M A 抗体など）、若しくは抗 P S M A イムノコンジュゲート）又は抗 P S M A 構築物の組み合わせ（例えば、抗 P S M A c a T C R + 抗 P S M A C S R）を含む組成物を含む。いくつかの実施態様では、キットは、a）抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせを含む組成物、及びb）少なくとも1つの他の治療剤の有効量を含む。いくつかの実施態様では、キットは、a）抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせを含む組成物、及びb）例えば前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がん）を含む P S M A 関連疾患の治療のために個体に組成物を投与するための説明書を含む。抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）及び他の薬剤は、別々の容器中に又は単一の容器中に存在することができる。例えば、キットは、1つの別個の組成物又は2つ以上の組成物を含んでもよく、ここで、1つの組成物は、抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせを含み、別の組成物は、別の薬剤を含む。

30

40

【0397】

いくつかの実施態様では、キットは、a）抗 P S M A 構築物（例えば、完全長抗 P S M A 抗体、単一特異性抗 P S M A 構築物、多重特異性抗 P S M A 構築物（二重特異性抗 P S M A 抗体など）、抗 P S M A イムノコンジュゲート）、又は本明細書で記載される他の抗 P S M A 構築物）又は抗 P S M A 構築物の組み合わせ（例えば、抗 P S M A c a T C R + 抗 P S M A C S R）を含む組成物と、b）抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせ

50

を細胞（例えば、個体に由来する細胞、例えば、免疫細胞）と組み合わせて、抗 P S M A 構築物－細胞コンジュゲートを含む組成物を形成させて、P S M A 関連疾患（例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんを含む）の治療のために、該抗 P S M A 構築物－細胞コンジュゲートを個体に投与するための説明書とを含む。いくつかの実施態様では、キットは、a) 抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせ（本明細書に記載されているものなど）を含む組成物、及び b) 細胞（細胞傷害性細胞など）を含む。いくつかの実施態様では、キットは、a) 抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせ（本明細書に記載されているものなど）を含む組成物、b) 細胞（細胞傷害性細胞など）、及び c) 抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせを細胞と組み合わせて、抗 P S M A 構築物－細胞コンジュゲートを含む組成物を形成させて、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんを含む P S M A 関連疾患の治療のために、該抗 P S M A 構築物－細胞コンジュゲート組成物を個体に投与するための説明書を含む。いくつかの実施態様では、キットは、細胞（細胞傷害性細胞など）と会合した抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせ（本明細書に記載されているものなど）を含む組成物を含む。いくつかの実施態様では、キットは、a) 細胞（細胞傷害性細胞など）と会合した抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせ（本明細書に記載されているものなど）を含む組成物、及び b) 例えば前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんを含む P S M A 関連疾患の治療のために個体に組成物を投与するための説明書を含む。いくつかの実施態様では、会合は、細胞の表面上の分子への抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせのコンジュゲーションによるものである。いくつかの実施態様では、会合は、抗 P S M A 構築物又は構築物の組み合わせの一部を細胞の外膜に挿入することによるものである。

10

20

【0398】

いくつかの実施態様では、キットは、抗 P S M A 構築物（例えば、完全長抗 P S M A 抗体、単一特異性抗 P S M A 構築物、多重特異性抗 P S M A 構築物、例えば、二重特異性抗 P S M A 構築物（二重特異性抗 P S M A 抗体、例えば、抗 P S M A タンデム d i - s c F v など）、抗 P S M A C A R、抗 P S M A イムノコンジュゲート、又は本明細書に記載の他の抗 P S M A 構築物）、本明細書に記載の抗 P S M A 構築物の組み合わせ、又はそのポリペプチド部分をコードする核酸（又は核酸のセット）を含む。いくつかの実施態様では、キットは、a) 抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）又はそのポリペプチド部分をコードする核酸（又は核酸のセット）、及び b) 核酸（又は核酸のセット）を発現するための宿主細胞（エフェクター細胞、例えば、T 細胞など）を含む。いくつかの実施態様では、キットは、a) 抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）又はそのポリペプチド部分をコードする核酸（又は核酸のセット）、及び b) i) 宿主細胞（エフェクター細胞、例えば、T 細胞など）中で抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）を発現させ、i i) 抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）又は抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）を発現する宿主細胞（例えば、エフェクター細胞、例えば、T 細胞）を含む組成物を調製し、i i i) 抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）又は抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）を発現する宿主細胞を含む組成物を、例えば、前立腺がん（ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど）、腎細胞がん細胞（腎明細胞がんなど）、子宮がん、又は肝臓がんを含む、P S M A 関連疾患の治療のために、個体に投与するための説明書を含む。いくつかの実施態様では、宿主細胞（例えば、T 細胞などのエフェクター細胞）は、個体に由来する。いくつかの実施態様では、キットは、a) 抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）又はそのポリペプチド部分をコードする核酸（又は核酸のセット）、及び b) 核酸（又は核酸のセット）を発現するための宿主細胞（エフェクター細胞、例えば、T 細胞など）、及び c) i) 宿主細胞中で抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）を発現させ、i i) 抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）又は抗 P S M A 構築物（又は構築物の組み合わせ）を発現する宿主細胞を含む組成物

30

40

50

を調製し、i i i) 抗 P S M A 構築物 (又は構築物の組み合わせ) 又は抗 P S M A 構築物 (又は構築物の組み合わせ) を発現する宿主細胞を含む組成物を、例えば、前立腺がん (ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞 (腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がん含む、P S M A 関連疾患の治療のために、個体に投与するための説明書を含む。

【0399】

いくつかの実施態様では、キットは、抗 P S M A C A R をコードする核酸を含む。いくつかの実施態様では、キットは、抗 P S M A C A R をコードする核酸を含むベクターを含む。いくつかの実施態様では、キットは、a) 抗 P S M A C A R をコードする核酸を含むベクター、及び b) i) 個体由来の T 細胞などのエフェクター細胞にベクターを導入する、i i) 抗 P S M A C A R エフェクター細胞を含む組成物を調製する、i i i) 10
例えば、前立腺がん (ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞 (腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がん含む、P S M A 関連疾患の治療のために、抗 P S M A C A R エフェクター細胞組成物を個体に投与するための説明書を含む。

【0400】

いくつかの実施態様では、キットは、抗 P S M A c a T C R をコードする核酸を含む。いくつかの実施態様では、キットは、抗 P S M A c a T C R をコードする核酸を含むベクターを含む。いくつかの実施態様では、キットは、二重特異性構築物、例えば、タンデム d i - s c F v (例えば、抗 P S M A タンデム d i - s c F v) 又は C S R (抗 P S M A C S R など) をコードする核酸をさらに含む。いくつかの実施態様では、キットは、20
a) 抗 P S M A c a T C R をコードする核酸を含むベクター、及び b) i) 個体由来の T 細胞などのエフェクター細胞にベクターを導入する、i i) 抗 P S M A c a T C R エフェクター細胞を含む組成物を調製する、i i i) 10
例えば、前立腺がん (ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞 (腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がん含む、P S M A 関連疾患の治療のために、抗 P S M A c a T C R エフェクター細胞組成物を個体に投与するための説明書を含む。いくつかの実施態様では、キットはさらに、a) 二重特異性構築物、例えば、タンデム d i - s c F v (抗 P S M A タンデム s c F v など) をコードする核酸を含むベクター、及び b) i) タンデム d i - s c F v をコードするベクターを、抗 P S M A c a T C R をコードするベクターと同時に又は連続して宿主細胞に導入し、i i) 抗 P S M A c a T C R プラスタンデム d i - s c F v エフェクター細胞を含む組成物を調製し、i i i) 30
例えば、前立腺がん (ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞 (腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がん含む、P S M A 関連疾患の治療のために、抗 P S M A c a T C R プラスタンデム d i - s c F v エフェクター細胞組成物を個体に投与するための説明書を含む。いくつかの実施態様では、キットはさらに、a) C S R (抗 P S M A C S R など) をコードする核酸を含むベクター、及び b) i) 抗 P S M A c a T C R をコードするベクターと同時に又は連続して、C S R をコードするベクターを宿主細胞に導入する、i i) 抗 P S M A c a T C R プラス C S R エフェクター細胞を含む組成物を調製する、i i i) 40
例えば、前立腺がん (ホルモン抵抗性又は転移性前立腺がんなど)、腎細胞がん細胞 (腎明細胞がんなど)、子宮がん、又は肝臓がん含む、P S M A 関連疾患の治療のために、抗 P S M A c a T C R プラス C S R エフェクター細胞組成物を個体に投与するための説明書を含む。

【0401】

本明細書に記載されたキットは、適切な包装に入っている。適切な包装には、限定されないが、バイアル、ボトル、ジャー、フレキシブル包装 (例えば、密封されたマイラー又はビニール袋) などが含まれる。キットは、任意選択で、緩衝材及び解釈的情報などの追加の構成要素を提供してもよい。したがって、本出願はまた、バイアル (密封されたバイアルなど)、ボトル、ジャー、フレキシブル包装などを含む製造品を提供する。

【0402】

抗 P S M A 構築物 (又は構築物の組み合わせ) を含む組成物の使用に関する説明書は、一般に、意図される治療のための投薬量、投薬スケジュール、及び投与経路に関する情報 50

を含む。容器は、単位用量、バルク包装（例えば、複数用量包装）又は副次的単位用量であり得る。例えば、個体の効果的な治療を、1週間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間、2週間、3週間、4週間、6週間、8週間、3ヶ月、4ヶ月、5ヶ月、7ヶ月、8ヶ月、9か月、又はそれ以上のいずれかなどの長期間にわたって提供するために、抗PSMA構築物（例えば、完全長抗PSMA抗体、多重特異性抗PSMA分子（二重特異性抗PSMA抗体など）、抗PSMA CAR、抗PSMAイムノコンジュゲート、又は本明細書に記載の他の抗PSMA構築物若しくは構築物の組み合わせ）の十分な投与量を含むキットが提供され得る。キットはまた、複数の単位用量の抗PSMA構築物（又は構築物の組み合わせ）及び薬学的組成物並びに使用説明書を含み、薬局、例えば、病院薬局や調剤薬局での保管と使用のために十分な量で包装される。

10

【0403】

当業者であれば、本出願の範囲及び趣旨の範囲内で複数の実施態様が可能であることを理解するであろう。本実施態様を以下の非限定的な実施例を参照してより詳細に説明する。以下の実施例は、本開示の方法及び組成物をさらに説明するが、もちろん、いかなる方法でもその範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。

【実施例】

【0404】

実施例1：材料及び方法

【0405】

以下に説明する試薬は、実施例2-9において使用される。

20

【0406】

細胞株には以下が含まれる：前立腺がん細胞株：LNCaP（ATCC CRL-1740、PSMA陽性）、PC-3（ATCC CRL-1438、PSMA陰性）、PC-3-PSMA（レンチウイルス形質導入によってPSMAを発現するように操作されたPC-3）、T細胞株：Jurkat Clone E61（ATCC TIB-152）及びJurkat-PSMA（レンチウイルス形質導入によってPSMAを発現するように操作されたJurkat）。細胞株は、10% FBS、2.05 mMのL-グルタミンを補充したRPMI 1640（HyClone、SH30027.02）中で37℃/5% CO₂で培養した。

【0407】

以下の例で使用される追加のPSMA陽性ヒトがん細胞株には、MDA PCa 2b、VCaP、22Rv1、Caki-1、HCC1482、及びHuH-7が含まれる。次のPSMA陰性ヒトがん細胞株も使用される：PrEC LH、PC-3、NCI-H660、及びDU145。

30

【0408】

実施例2：PSMAに特異的なscFvの選択及び特徴づけ。

PSMA特異的抗体の同定

PSMAに特異的なヒトmAbの選択のために、Eureka Therapeuticsによって構築されたヒトscFv抗体ファージディスプレイライブラリー（多様性=10×10¹⁰）のコレクション（すなわち、E-ALPHA（登録商標）ファージディスプレイライブラリー）を使用した。具体的には、E-ALPHA（登録商標）ファージディスプレイライブラリーを使用して、PSMAを発現するように操作されているJurkat細胞株に対してパンを行った。親のJurkat細胞株を負の選択のために使用した。このスクリーニングで単離された2つのユニークなscFvクローン、すなわち、クローンA及びクローンBは、フローサイトメトリーアッセイによってPSMAに特異的であることが見出された。クローンA及びクローンBの配列が以下の表13に提供される。各scFvにおけるV_Lには下線が引かれ、各scFvにおけるV_Hには二重下線が引かれ、リンカーは太字のイタリック体である。CDRは、下線付きの太字及び二重下線付きの太字である。

40

【0409】

50

表13:抗PSMA scFvクローン

クローンA	<u>QSVLTQPPS</u> <u>VSGAPGQRV</u> <u>TISCTGSSS</u> NIGAGYDVH <u>WYQQLPGTA</u> <u>PKLLIYGNS</u> <u>NRPSGVPDR</u> <u>FSGSKSGTS</u> <u>ASLAITGLQ</u> <u>AEDEADYYC</u> QSYDSSLG YVFGTGTKV <u>TVLGSRGGG</u> GSGGGSGG GSLEMAEV <u>QLVQSGAEV</u> <u>KKPGESLKI</u> <u>SCKSGYSF</u> TSYWIGWVR <u>QMPGKGLEW</u> <u>MGIIYPGDS</u> <u>DTRYSPSFQ</u> <u>GQVTISADK</u> <u>SISTAYLQW</u> <u>SSLKASDTA</u> <u>MYCARSMG</u> SSLYASSDV <u>WGOGLTVTV</u> <u>SS</u> (配列番号20)
クローンB	<u>QAVLTQPPS</u> <u>ASGTPGQRV</u> <u>TISCSGSSS</u> NIGSNTVNW <u>YQQLPGTAP</u> <u>KLLMYSNNQ</u> <u>RPSGVPDRF</u> <u>SGSKSGTSA</u> <u>SLAISGLQS</u> <u>EDEADYYCA</u> AWDDSLNGY VFGTGTKVT <u>VLGSRGGGG</u> GSGGGSGGG GSLEMAEVQ <u>LVQSGAEMK</u> <u>KPGESLKIS</u> <u>CKGSGYNFA</u> <u>SYWVGWVRQ</u> <u>MPGKGLEWM</u> <u>GTIYPDDSD</u> <u>TRYGPAFQG</u> <u>QVTISADKS</u> <u>ISTAYLQWS</u> <u>SLKASDTAM</u> <u>YYCARDSYY</u> <u>GIDVWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (配列番号21)

10

【0410】

P S M A 陽性細胞株及び P S M A 陰性細胞株に対するクローン A 及びクローン B の結合特異性をフローサイトメトリーによって評価した。P S M A 陽性細胞株には、L N C a P、P S M A 発現ヒト前立腺がん細胞株；P C 3－P S M A、h P S M A を発現するように操作された P S M A 陰性ヒト前立腺がん細胞株；及び J u r k a t－P S M A、すなわち、h P S M A を発現するように操作された P S M A 陰性ヒト T リンパ球細胞株が含まれる。P S M A 天然細胞株には、P C 3 及び J u r k a t が含まれていた。図 1 に示すように、クローン A と B の両方が P S M A 発現細胞株に対する特異的結合を示した。

20

【0411】

実施例 3：細胞傷害性アッセイ及びインターフェロン- γ (I F N- γ) 放出アッセイにおいて抗 P S M A C A R 構築物を発現する T 細胞の特徴づけ。

クローン A とクローン B の、T 細胞をリダイレクトし、細胞傷害性と I F N γ 放出を導く能力を評価するために、クローン A S c F v 及びクローン B S c F v をコードする核酸を C D 2 8 / C D 3 キメラ抗原受容体 (C A R) 構築物にクローニングし、各 C A R (すなわち、クローン A－C A R 及びクローン B C A R) を一次ヒト T 細胞に形質導入した。クローン A－C A R 及びクローン B－C A R のアミノ酸配列が以下の表 1 4 に提供される。各 C A R は (順に、N 末端から C 末端に)、抗 P S M A s c F v (下線付き)、m y c タグ (太い下線付き)、リンカー (太字のイタリック体)、C D 2 8 に由来する配列 (二重下線付き)、及び C D 3 ζ に由来する配列 (太字二重下線付き) を含む。

30

【0412】

クローンA-CAR

(配列番号 29)

クローンB-CAR

列番号 30)

【 0 4 1 3 】

モック T 細胞及び C A R をコードする核酸を形質導入した T 細胞を、1 : 1 のエフェクター細胞対標的細胞 (E : T) 比で 16 時間インキュベートした。これらのアッセイで使用された標的細胞には、L N C a P (P S M A⁺)、P C 3 (P S M A⁻)、P C 3 - P S M A (P S M A⁺)、J u r k a t (P S M A⁻)、及び J u r k a t - P S M A (P S M A⁺) が含まれていた。

【 0 4 1 4 】

細胞の細胞障害性は、LDH細胞毒性アッセイ（Promega、G1780）を使用して評価した。図2に示すように、クローンA-CAR又はクローンB-CAR構築物を発現するエフェクター細胞をPSMA発現細胞とインキュベートしたときに、標的細胞の特異的な死滅が観察された。モックエフェクター細胞（すなわち、PSMAを標的とするCARを発現しないモックT細胞）又はPSMA陰性標的細胞では、特異的死滅は観察されなかった。

【 0 4 1 5 】

クローン A-CAR 又はクローン B-CAR を発現する T 細胞の標的依存性活性化は、IFN γ 放出を測定することによって評価された。簡潔には、モック T 細胞及び形質導入された T 細胞を、上記のように、1 : 1 のエフェクター細胞対標的細胞 (E : T) 比で 16 時間インキュベートした。培養上清中の IFN- γ レベルは、Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン 8 プレックスアッセイ (Bio-Rad、M50000007A) を使用して測定した。図 3 に示すように、クローン A-CAR 又はクローン B-CAR を発現する T 細胞を PSMA 発現細胞とインキュベートしたときに、IFN- γ の特異的放出が検出された。モックエフェクター細胞 (すなわち、PSMA を標的とする CAR を発現しないモック T 細胞) 又は PSMA 陰性標的細胞では、特異的放出は観察されなかった。

【0416】

実施例4：抗PSMA scFvクローンの親和性成熟

クローンA及びクローンBのscFvをコードするDNAが、例えばGeneMorph IIランダム突然変異誘発キット (Agilent Technologies) を使用してランダム突然変異誘発に供される。突然変異誘発後、DNA配列をscFv発現ファージミドベクターにクローニングし、変異体抗体ファージライブラリーを構築する。クローンA及びクローンBのために、別々の変異ライブラリーが構築される。濃縮されたファージパニングプールからの個々のファージクローン (例えば、変異体クローン) は、それらのそれぞれの親クローンと比較して、細胞表面ヒトPSMAへの増強された結合について試験される。さらに、競合細胞結合アッセイが、変異体クローンの結合親和性を親クローンの結合親和性と比較するために行われる。

10

【0417】

簡潔には、それぞれの親クローンと比較した変異体クローンの相対的な結合親和性が、例えば、LNCaP、PC3、PC3-PSMA、Jurkat、及びJurkat-PSMA細胞を使用する抗体滴定フローサイトメトリーによって決定される。各変異体クローンのEC₅₀及び見かけのK_Dは、フローサイトメトリーの結合シグナルに基づいて計算される。

【0418】

変異体クローンはまた、実施例3に記載されているように、T細胞をリダイレクトし、細胞傷害性及びIFN γ 放出をもたらすそれらの能力について評価される。親クローン、すなわちクローンA及びクローンBを、変異体クローンによって示された細胞傷害性及びIFN γ 放出レベルの相対的変化を測定するための基礎として、並行して評価する。

20

【0419】

実施例5：PSMA特異的scFvクローンによって結合されたエピトープの特徴づけ
エピトープ結合

クローンA、クローンB、及びそれらの親和性成熟変異体によって結合されたPSMAのエピトープを評価するために、結合競合アッセイを以下のように実施する：クローンA及びBを、それぞれ蛍光標識にコンジュゲートさせる。PSMAを発現する細胞株を、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の非標識クローンAとともにインキュベートする。プレインキュベーション後、標識クローンBの濃度を上げて (例えば、0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、及び10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、洗浄せずに試料に直接加えて、さらに30分間インキュベートする。ブロッキング後、検出及び分析のためにFACSが使用される。結合率は、MFI (平均蛍光強度) から決定され、試料はアイソタイプ対照に対して正規化される。実験のパラレルセットは、PSMA発現細胞株を、漸増濃度 (例えば、0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、及び10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) の標識クローンAの存在下で、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の非標識クローンBとともにインキュベートすることによって実施される。追加の実験は、PSMA発現細胞株を、漸増濃度の標識クローンAの存在下で、そして実験の別のセットでは、漸増濃度の標識クローンBの存在下で、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の非標識J591 (すなわち、モノクローナルマウス抗hPSMA抗体) とともにインキュベートすることによって実施される。

30

40

【0420】

エピトープマッピング

クローンA及びクローンB (並びにそれらの親和性成熟変異体) によって結合されるエピトープの構成成分であるPSMAの残基を同定するために、細胞外ドメインにおいて少なくとも1つのアラニン置換を含む異なるPSMA変異体をそれぞれ発現する様々な哺乳動物細胞株が、標準的な組換えDNA技術を使用して生成される。哺乳類細胞株のそれぞれの表面上でのPSMA変異体の発現が確認されている。クローンA及びB (及びそれらの親和性成熟変異体) は、それぞれ異なるPSMA変異体を発現する細胞への結合についてフローサイトメトリーによって評価される。KO7ヘルパーファージは、陰性対照とし

50

て並行して評価される。モノクローナルマウス抗hPSMA抗体であるJ591も、並行して評価される。

【0421】

実施例6：抗PSMA二重特異性抗体

ヒト抗PSMA抗体を使用した二重特異性抗体構築物の生成

【0422】

この実施例は、天然フォーマット（すなわち、細胞表面発現PSMA）においてヒトPSMAに結合する第1の抗体部分（例えば、scFv）及びT細胞上のCD3に結合する第2の抗体部分（例えば、scFv）を有する、抗PSMA二重特異性抗体構築物（タンデムdi-scFv）の構築を記述する。本明細書に記載のタンデムdi-scFvは、T細胞にヒトPSMAを発現する標的細胞を死滅させるように誘導するために使用することができる。

10

【0423】

タンデムdi-scFvは、N末端にクローンA又はクローンBのV_L-V_H scFv配列及びC末端に抗ヒトCD3εマウスモノクローナルscFvを含む単鎖フォーマットを使用して構築される（抗PSMA抗CD3タンデムdi-scFv；例えば、Brischwein, K. et al., Mol. Immunol. 43:1129-1143, 2006を参照）。クローンA scFv、クローンB scFv、及び抗ヒトCD3ε scFvをコードするDNA断片は、例えば、Genewiz又はGenscriptを使用して合成され、標準的な組換えDNA技術を使用して、pQD-T（Eureka Therapeutics, Inc.）などの哺乳動物発現ベクターにサブクロニングされる。ヘキサヒスチジンタグHHHHH（配列番号158）が、精製及び検出のために各タンデムdi-scFvのC末端に挿入される。

20

【0424】

HEK293細胞を、クローンA-タンデムdi-scFv又はクローンB-タンデムdi-scFvをコードする発現ベクターでトランスフェクトし、タンデムdi-scFvを発現させるために、7日間培養する。各タンデムdi-scFvは、例えば、FPLC AKTAシステムによるHisTrapHPカラム（GE healthcare）又は細胞培養量に基づくHis GraviTrapカラム（GE healthcare）を使用して、HEK293細胞上清から精製される。精製されたタンデムdi-scFvの分子量は、非還元条件下でゲル電気泳動によって測定される。各構築物（クローンA抗PSMA抗CD3タンデムdi-scFv及びクローンB抗PSMA抗CD3タンデムdi-scFv）に対応するバンド（～98 kD）がゲル上の主要な種として観察されることが予想される。

30

【0425】

クローンA抗PSMA抗CD3タンデムdi-scFv及びクローンB抗CD3タンデムdi-scFvのアミノ酸配列が、以下の表15に提供される。各タンデムdi-scFvの抗PSMA scFvには下線が引かれている。各タンデムdi-scFvの抗CD3 scFvには二重下線が引かれている。抗PSMA scFvと抗CD3 scFvを連結するリンカーは太字のイタリック体である。

40

【0426】

クローンA 抗PSMA 抗CD3タンデムDI-SCFV

10

20

30

【 0 4 2 7 】

40

【 0 4 2 8 】

実施例 7：キメラ抗体－T細胞受容体（c a T C R）構築物を発現する T 細胞の生成及び特徴づけ

50

れる。各鎖 1 において、抗 P S M A V_H / C_H 配列に下線が引かれている。各鎖 1 において、T C R デルタ鎖の配列に二重下線が引かれている。各鎖 2 において、抗 P S M A V_L / C_L 配列は、太い下線が引かれている。各鎖 2 において、T C R ガンマ鎖の配列はイタリック体である。

【 0 4 2 9 】

表 16

<u>クローン A - c a T C R</u> 鎖 1 : <u>EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGVQVTISADKSISTAYL</u> <u>QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW</u> <u>NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTK</u> <u>QPSK SCHKPKAIVHTEKVNMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLTAKLFFL</u> (配列番号 3 1) 鎖 2 : <u>OSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLO</u> <u>AEDEADYYCQSYDSSLG YVFGTGTKVTVLGOPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKA</u> <u>GVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</u> <i>PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLQL</i> <i>LTNTSAYMYLLLLLKS VVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS</i> (配列番号 3 2)	10
<u>クローン B - c a T C R</u> 鎖 1 : <u>EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGVQVTISADKSISTAYL</u> <u>QWSSLKASDTAMYYC ARDSYYGIDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA</u> <u>LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSK</u> <u>SCHKPKAIVHTEKVNMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLTAKLFFL</u> (配列番号 3 4) 鎖 2 : <u>QAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS</u> <u>EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGOPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG</u> <u>VETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</u> <i>PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLQL</i> <i>TNTSAYMYLLLLLKS VVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS</i> (配列番号 3 5)	30
	40

【 0 4 3 0 】

クローン A - c a T C R T 細胞及びクローン B - c a T C R T 細胞は、国際公開第 2 0 1 7 / 0 7 0 6 0 8 号、P C T / 米国特許出願公開第 2 0 1 8 / 0 2 9 2 1 7 号（現在は国際公開第 2 0 1 8 / 2 0 0 5 8 2 号として公開）、及び Milone, et al (Molecular Therapy, 17:1453-1464, 2009) に記載されている方法を使用して生成される。

【 0 4 3 1 】

各抗 P S M A c a T C R を介した活性化から生じる T 細胞表現型が特徴づけられる。クローン A - c a T C R - T 細胞を、単独でインキュベートするか、ブレフェルジンの存在下で、エフェクター細胞：標的細胞の比が 2 : 1 で、P S M A を発現する L N C a P 細胞と共インキュベートするか、又は P S M A がノックアウトされた L N C a P 細胞と共インキュベートする。パラレルセットインキュベーションは、クローン B - c a T C R - T 細胞を使用して実施される。インキュベーション後、クローン A - c a T C R - T 細胞及びクローン B - c a T C R - T 細胞を、例えば、C D 6 9 及び C D 2 5 を含む活性化マーカー、並びに例えば、C D 1 0 7 a を含む細胞脱顆粒マーカーの発現について、フローサイトメトリーによってアッセイする。さらに、P S M A 非発現細胞と比較して、P S M A 発現細胞に応答した C D 4 ⁺ c a T C R ⁺ 細胞及び C D 4 ⁻ C D 8 ⁺ c a T C R ⁺ 細胞によって発現される T N F α、I L - 2、及び I F N γ のレベルを測定するために、クローン A - c a T C R - T 細胞及びクローン B - c a T C R - T 細胞の細胞内フローサイトメトリー分析が実施される。

10

【0432】

クローン A - c a T C R - T 細胞及びクローン B - c a T C R - T 細胞の腫瘍死滅活性は、実施例 3 に記載されるように評価される。一定の割合のクローン A - c a T C R 陽性 - T 細胞、クローン B - c a T C R 陽性 - T 細胞、クローン A - c a T C R 陰性 - T 細胞、及びクローン B - c a T C R 陰性 - T 細胞が、それぞれ、例えば、L N C a P、P C 3、P C 3 - P S M A、J u r k a t、及び J u r k a t - P S M A を含む複数の P S M A 発現細胞株及び P S M A 非発現細胞株と共培養される。実施例 3 に記載されるように、エフェクター細胞：標的細胞の様々な比にわたって標的細胞の特異的溶解が測定される。

20

【0433】

蛍光ベースのアッセイが、抗原刺激時のクローン A - c a T C R - T 細胞及びクローン B - c a T C R - T 細胞の *i n v i t r o* 増殖を評価するために使用される。簡潔には、クローン A - c a T C R - T 細胞又はクローン B - c a T C R - T を一晚血清飢餓状態にし、次いで室温で 5 分間、例えば、1 μ M の C F S E (T h e r m o F i s h e r S c i e n t i f i c) で標識する。標識細胞を無血清培地に再懸濁し、エフェクター細胞：標的細胞の比が 2 : 1 で、標的細胞（例えば、L N C a P 細胞、P C 3 - P S M A 細胞、又は J u r k a t - P S M A 細胞）と共培養する。形質導入効率の違いを考慮するために、ドナー適合非形質導入 T 細胞を使用して、受容体陽性細胞の割合を正規化する。細胞分裂は、フローサイトメトリーによって監視される。

30

【0434】

実施例 8：ヒト I g G 1 F c 領域を含む完全長抗 P S M A 抗体の生成及び特徴づけ。

クローン A 及びクローン B は、記載されるように (Tomimatsu K. et al., Biosci. Bio technol. Biochem. 73(7):1465-1469, 2009)、例えば、H E K 2 9 3 及びチャイニーズハムスター卵巣 (C H O) 細胞株において、ヒト I g G 1 F c 領域を含む完全長抗体として再フォーマットされる。簡潔には、抗体可変領域クローン A 及びクローン B が、それぞれ、適合するヒトラムダ又はカップ軽鎖定常領域及びヒト I g G 1 定常領域配列を有する哺乳動物発現ベクターにサブクロニングされる。同じクロニング戦略を適用して、マウス I g G 1 重鎖及び軽鎖定常領域を有するキメラ P S M A 完全長抗体が生成される。精製された完全長 I g G 抗体の分子量は、抗体試料の純度を評価するために、電気泳動によって還元条件下と非還元条件下の両方で測定される。試料の純度は、以下のように S D S - P A G E を行うことによって評価される：2 μ g の各抗体を 2 . 5 μ L の N u P A G E L D S サンプルバッファー (L i f e T e c h n o l o g i e s、N P 0 0 0 8) と混合し、各試料の容量を脱イオン水で 1 0 μ L に調整する。試料を 7 0 ° C で 1 0 分間加熱した後、ゲル上にロードする。ゲル電気泳動を 1 8 0 V で 1 時間行う。

40

【0435】

抗体可変領域クローン A 又はクローン B を含む抗 P S M A キメラ I g G 1 抗体は、それぞれ、J u r k a t 細胞、P S M A を発現する J u r k a t 細胞、P C 3 細胞、P S M A を発現する P C 3 細胞、及び L N C a P ヒト前立腺腺癌細胞への結合について F A C S に

50

よって評価される。10 μ g/mL の各抗体を各細胞株に添加し、氷上でインキュベートする。洗浄後、R-P E コンジュゲート抗マウス I g G (H+L) (V e c t o r L a b s # E I - 2 0 0 7) を添加し、抗体結合を検出する。抗 P S M A キメラ I g G 1 抗体の結合親和性は、F o r t e B i o O c t e t Q K によって決定される。5 μ g/mL のビオチン化 P S M A (細胞外ドメイン) をストレプトアビジンバイオセンサー上にロードする。過剰な抗原を洗い流した後、各抗体の 10 μ g/mL を、会合及び解離速度について試験する。結合パラメータは、1 : 1 結合部位、部分適合モデルを使用して計算される。

【0436】

完全長クローン A - I g G 1 及び完全長クローン A - I g G 1 抗体のアミノ酸配列が以下の表 17 に提供される。各軽鎖の V_L には下線が引かれ、各重鎖の V_H には二重下線が引かれている。C D R は太字で示されている。

10

【0437】

表17

完全長クローンA I g G 1 抗体：

重鎖：

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSEFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYL
QWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW
 NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSD
 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号39)

軽鎖：

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQ
AEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKA
 GVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号40)

完全長クローンB I g G 1 抗体：

重鎖：

EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYVWGWVRQMPGKGLEWMGT IYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYL
QWSSLKASDTAMYYCARDSEYIGIDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
 LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFF
 LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号41)

軽鎖：

QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAG
 VETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号42)

【0438】

実施例9：in vivo有効性試験

マウスにおけるPSMA CAR-T細胞治療

ヒトPSMA発現前立腺がん(s.c.)異種移植モデルは、SCIDベージュ(機能的なT細胞、B細胞、NK細胞を持たない)マウスにおいて生成される。平均皮下腫瘍体積が200mm³に達すると、動物は無作為化される。マウスを、以下のいずれかを受ける6つの群(n=8-10マウス/群)に分ける：(i)無治療、(ii)10⁷個のモック形質導入CAR-T細胞、1x/週で4週間、(iii)10⁷個のクローンA-CAR-T細胞、1x/週で4週間、(iv)2x10⁶個のクローンA-CAR-T細胞

10

20

30

40

50

、 $1 \times$ ／週で4週間、(v) 10^7 個のクローンB-CAR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間、又は(iv) 2×10^6 個のクローンB-CAR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間。各群における動物は、腫瘍体積、有害反応、ヒトサイトカインプロファイル、CAR T細胞浸潤のための腫瘍及び臓器におけるヒトCD3⁺細胞に対する腫瘍の組織病理学、腫瘍組織からの細胞上のPSMA発現、体重及び一般的健康状態（食事、歩行、日常活動など）について監視される。クローンA-CAR及びクローンB-CARのアミノ酸配列が上の表13に提供される。

【0439】

マウスにおけるPSMA-caTCR-T細胞治療

ヒトPSMA発現前立腺がん(s.c.)異種移植モデルは、SCIDベージュ（機能的なT細胞、B細胞、NK細胞を持たない）マウスにおいて生成される。平均皮下腫瘍体積が 200 mm^3 に達すると、動物は無作為化される。マウスを、以下のいずれかを受ける4つの群(n=8-10マウス／群)に分ける：(i) 無治療、(ii) 10^7 個のモック形質導入caTCR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間、(iii) 10^7 個のクローンA-caTCR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間、(iv) 2×10^6 個のクローンA-caTCR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間、(v) 10^7 個のクローンB-caTCR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間、又は(iv) 2×10^6 個のクローンB-caTCR T細胞、 $1 \times$ ／週で4週間。各群における動物は、腫瘍体積、有害反応、ヒトサイトカインプロファイル、caTCR T細胞浸潤のための腫瘍及び臓器におけるヒトCD3⁺細胞に対する腫瘍の組織病理学、腫瘍組織からの細胞上のPSMA発現、体重及び一般的健康状態（食事、歩行、日常活動など）について監視される。クローンA-caTCR及びクローンB-caTCRのアミノ酸配列が上の表15に提供される。

【0440】

実施例10：一価及び二価のcaTCR構築物を発現するT細胞の生成及び特徴づけ

一価の抗PSMAクローンA-caTCR構築物及び一価の抗PSMAクローンB-caTCR構築物をコードする核酸は、実施例7の記載に従って生成された。配列番号33は、抗PSMAクローンA-caTCR構築物の例示的なアミノ酸配列である。そのような構築物は、本明細書では、代替的に、クローンA-caTCR、抗PSMA-caTCR#1、又はAx1-caTCRと呼ばれる。配列番号36は、抗PSMAクローンB-caTCR構築物の例示的なアミノ酸配列である。抗PSMAクローンB-caTCR構築物は、本明細書では、代替的に、クローンB-caTCR、抗PSMA-caTCR#2、又はBx1-caTCRと呼ばれる。

METD T L L L W V L L L W V P G S T G E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I
S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y
S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M
G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S
G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S
S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E
P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H K P K A I V H T E K
V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F F L R A K R S G S G
A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L L L W V L L L W V P
G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S S S N I G A G Y D V H
W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A
I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y V F G T G T K V T V L G Q P K A
N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D
G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y
S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D V I T M D P K D N C S K D A
N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V Y F A I I T C C L L R R T A
F C C N G E K S (配列番号33)

10

20

30

40

50

METD T L L L W V L L L W V P G S T G E V Q L V Q S G A E M K K P G E S L K I
 S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E W M G T I Y P D D S D T R Y
 G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R D S
 Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A
 A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y
 S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C
 E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H K P K A I V H T E K V N M M
 S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F F L R A K R S G S G A P V K
 Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G
 Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S N I G S N T V N W Y Q Q L
 P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I S G L Q
 S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T
 L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K
 A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T
 H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D V I T M D P K D N C S K D A N D T L L
 L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G
 E K S (配列番号 36)

【0441】

抗 P S M A c a T C R の P S M A への結合を増加させるために、二価の c a T C R 構築物が設計された。特に、以下の「ホモ」二価 c a T C R 構築物をコードする核酸が生成された。

1. A x 2 - c a T C R - 1 (本明細書において「A x 2 - c a T C R」又は「二価クローン A c a T C R - 1」と代替的に呼ばれる)は、1つの s c F v 及び1つの F a b を含む二価の抗 P S M A クローン A c a T C R である。例えば、以下の配列番号 47 を参照。

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I
 S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V
 P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y
 V F G T G T K V T V L G S R G G G G S G G G G S G G G G S L E M A E V Q L V Q S
 G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W
 M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K
 A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S E
 V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P
 G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L
 Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S
 A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S
 W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T
 Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N
 T K Q P S K S C H K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V
 N F L L T A K L F F L R A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N
 P G P M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R
 V T I S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P
 S G V P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L
 S G Y V F G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L
 V C L I S D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y
 A A S S Y L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S
 P I K T D V I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L
 L K S V V Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S (配列番号 47)

2. A x 2 - c a T C R - 2 (本明細書において「二価クローン A c a T C R - 2」と代替的に呼ばれる)は、2つの F a b を含む二価の抗 P S M A クローン A c a T C R

である。例えば、以下の配列番号 48 を参照。

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKI
 SCKGSGYSFTTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGI IYPGDS DTRY
 SPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSSLKASDTAMY YCARSM
 GSSLYASSSDVWGQGT LVTVSSSGGGGSGGGGSEVQLVQSGA
 EVKKPGESLKI SCKGSGYSFTTSYWIGWVRQMPGKGLEWMG
 I IYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSSLKAS
 DTAMY YCARSMGSSLYASSSDVWGQGT LVTVSSASTKGPSV
 FPLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT S
 GVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSSSLGTQTY ICNVNHK 10
 PSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSC
 HKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLLTAKL
 FFLRAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKL AGDVESNP GPMETDT
 LLLWVLLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVTSCTGS
 SSNI GAGYDVHWYQQLPGTAPKLLI YGNSNRPSGVPDRFS
 GSKSGTSA SLA ITGLQAEDEADY YCQSYDSSLSGYVFGTG
 TKVTVLGGGGGSGGGGSGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVTSCT
 GSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLI YGNSNRPSGVPDR
 FSGSKSGTSA SLA ITGLQAEDEADY YCQSYDSSLSGYVFG
 TGTKVTVLGQPKANPTVTLFPSSSEELQANKATLVCLISD 20
 FYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYL
 SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDV
 ITMDPKDNC SKDANDTLLQLTNTSAYYMYLLLLLLKSVVY
 FAIITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号 48)

3. Bx2-c aTCR-1 (本明細書において「Bx2-c aTCR」又は「二価クローンB c aTCR-1」と代替的に呼ばれる)は、1つのscFv及び1つのFabを含む二価の抗PSMAクローンB c aTCRである。例えば、以下の配列番号 49 を参照。

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGQAVLTQPPPSASGTPGQRTVTS
 SCSSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSSNNQRPSGVP 30
 DRFSGSKSGTSA SLA ISGLQSEDEADY YCAAWDDSLNGYV
 FGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSG
 AEMKKPGESLKI SCKGSGYNFAS YWVGWVRQMPGKGLEWM
 GTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSSLKA
 SDTAMY YCARDSY YGIDVWGQGT LVTVSSSGGGGSEVQLVQ
 SGAEMKKPGESLKI SCKGSGYNFAS YWVGWVRQMPGKGLE
 WMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSSL
 KASDTAMY YCARDSY YGIDVWGQGT LVTVSSASTKGPSVF
 PLAPSSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
 VHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSSSLGTQTY ICNVNHK P 40
 SNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCH
 KPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLLTAKL F
 FLRAKRSGSGAPVKQTLNFDLLKL AGDVESNP GPMETDTL
 LLWVLLLLWVPGSTGQAVLTQPPPSASGTPGQRTVTS
 SNI (配列番号 49)

4. Bx2-c aTCR-2 (本明細書において「二価クローンB c aTCR-2」と代替的に呼ばれる)は、2つのFabを含む二価の抗PSMAクローンB c aTCRである。例えば、以下の配列番号 50 を参照。

METDTLLLLWVLLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKI
 SCKGSGYNFAS YWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRY 50

G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R D S
 Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S E V Q L V Q S G A E M K K
 P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E W M G T I Y P
 D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M
 Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K
 S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V
 L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K
 R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H K P K A I V H
 T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F F L R A K R S
 G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L L L W V L L L
 W V P G S T G Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S N I G S N T
 V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A S
 L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F G T G T K V T V L G G G
 G G S G G G G S Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S N I G S N
 T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D R F S G S K S G T S A
 S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F G T G T K V T V L G Q
 P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A V T V A W
 K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E Q W K S H
 R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D V I T M D P K D N C S
 K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V Y F A I I T C C L L R
 R T A F C C N G E K S (配列番号50)

【0442】

Ax2-caTCR-1、Ax2-caTCR-2、Bx2-caTCR-1、又はBx2-caTCR-2を発現するT細胞は、一次ヒトT細胞にcaTCR構築物をコードする核酸を含むウイルスを形質導入することによって生成された。形質転換されたT細胞の特徴及び機能は、実施例7に記載された方法を使用して評価された。このようなT細胞は、コード化されたcaTCR構築物を発現し、良好に増殖し、T細胞の特異性をリダイレクトし、陽性のPSMA特異的な細胞傷害性／腫瘍死滅活性を示した。

【0443】

2つの代表的な腫瘍細胞死滅実験では、Bx2-caTCR（すなわち、Bx2-caTCR-1）（図6を参照）；Ax2-caTCR（すなわち、Ax2-caTCR-1）（図6及び7を参照）；Bx2-caTCR+A-CAR（図6及び7を参照）；A-CAR（図6及び7を参照）；Ax1-caTCR+B-CAR（図6及び7を参照）；B-CAR（図7を参照）；又はBx1-caTCR+A-CAR（図7を参照）を発現するT細胞が生成され、受容体（caTCR又はCAR）陽性T細胞の割合は、モック形質導入T細胞で60％に正規化された。次に、モック形質導入T細胞、caTCR発現T細胞、及び抗PCMA CAR発現T細胞を、2：1のエフェクター細胞対標的細胞（E：T）比（0.2M：0.1M、受容体陽性エフェクター：標的比1.2：1）で16時間インキュベートした。以下の3つのPSMA⁺標的細胞株を使用した：LNCaP、22RV1及びPC3-PSMA。腫瘍細胞死滅実験の結果を図6及び7に示す。簡潔には、上記の構築物のいずれか1つを発現するT細胞は、PSMA特異的な標的細胞溶解を引き起こすことができたが、モック形質導入T細胞はそうではなかった。

【0444】

さらに、以下に記載する「ヘテロ」二価caTCR構築物をコードする核酸が生成され、一次ヒトT細胞を形質導入するために使用される。形質導入されたcaTCR-T細胞は、形質導入されたT細胞がコード化されたcaTCR構築物を発現し、良好に増殖し、T細胞の特異性をリダイレクトし、PSMA特異的な細胞傷害性／腫瘍細胞死滅を誘導するかどうかを評価するために、実施例7及び本実施例に記載されている方法を使用して特徴づけられる。

5. Ax1-Bx1-caTCR-1（本明細書では「クローンAクローンB caT

C R-1」とも呼ばれる)は、クローンA s c F v及びクローンB F a bを含む抗P S M A c a T C Rである。例えば、以下の配列番号91を参照。

```

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I
S C T G S S S N I G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V
P D R F S G S K S G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y
V F G T G T K V T V L G S R G G G G S G G G G S G G G G S L E M A E V Q L V Q S
G A E V K K P G E S L K I S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W
M G I I Y P G D S D T R Y S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K
A S D T A M Y Y C A R S M G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S E
V Q L V Q S G A E M K K P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P
G K G L E W M G T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L
Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K
G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G
A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N
V N H K P S N T K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P
S K S C H K P K A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L
T A K L F F L R A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M
E T D T L L L W V L L L W V P G S T G Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S
C S G S S S N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D
R F S G S K S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F
G T G T K V T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S
D F Y P G A V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y
L S L T P E Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D
V I T M D P K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V
Y F A I I T C C L L R R T A F C C N G E K S (配列番号91)

```

6. A x 1-B x 1-c a T C R-2 (本明細書では「クローンAクローンB c a T C R-2」とも呼ばれる)は、クローンA F a b及びクローンB F a bを含む抗P S M A c a T C Rである。例えば、以下の配列番号92を参照。

```

M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G E V Q L V Q S G A E V K K P G E S L K I
S C K G S G Y S F T S Y W I G W V R Q M P G K G L E W M G I I Y P G D S D T R Y
S P S F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S D T A M Y Y C A R S M
G S S L Y A S S D V W G Q G T L V T V S S G G G G S G G G G S E V Q L V Q S G A
E M K K P G E S L K I S C K G S G Y N F A S Y W V G W V R Q M P G K G L E W M G
T I Y P D D S D T R Y G P A F Q G Q V T I S A D K S I S T A Y L Q W S S L K A S
D T A M Y Y C A R D S Y Y G I D V W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A
P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T
F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T
K V D K R V E P K S C E V K T D S T D H V K P K E T E N T K Q P S K S C H K P K
A I V H T E K V N M M S L T V L G L R M L F A K T V A V N F L L T A K L F F L R
A K R S G S G A P V K Q T L N F D L L K L A G D V E S N P G P M E T D T L L L W
V L L L W V P G S T G Q S V L T Q P P S V S G A P G Q R V T I S C T G S S S N I
G A G Y D V H W Y Q Q L P G T A P K L L I Y G N S N R P S G V P D R F S G S K S
G T S A S L A I T G L Q A E D E A D Y Y C Q S Y D S S L S G Y V F G T G T K V T
V L G G G G G S G G G G S Q A V L T Q P P S A S G T P G Q R V T I S C S G S S S
N I G S N T V N W Y Q Q L P G T A P K L L M Y S N N Q R P S G V P D R F S G S K
S G T S A S L A I S G L Q S E D E A D Y Y C A A W D D S L N G Y V F G T G T K V
T V L G Q P K A N P T V T L F P P S S E E L Q A N K A T L V C L I S D F Y P G A
V T V A W K A D G S P V K A G V E T T K P S K Q S N N K Y A A S S Y L S L T P E
Q W K S H R S Y S C Q V T H E G S T V E K T V A P T E C S P I K T D V I T M D P
K D N C S K D A N D T L L L Q L T N T S A Y Y M Y L L L L L K S V V Y F A I I T

```

C C L L R R T A F C C N G E K S (配列番号 92)

【0445】

実施例 11: c a T C R 及び C S R 受容体との構築物の組み合わせを発現する T 細胞の生成及び特徴づけ

抗 P S M A クローン A キメラシグナル伝達受容体 (C S R) 又は抗 P S M A クローン B C S R をコードする核酸が、実施例 10 に記載される一価又は二価の抗 P S M A c a T C R 構築物をコードする核酸に融合され、様々な c a T C R + C S R 構築物の組み合わせをコードする完全長核酸を生成した。完全長核酸を含むウイルスを使用して一次ヒト T 細胞を形質導入し、c a T C R + C S R 構築物の組み合わせを T 細胞の表面上に発現させた。

10

【0446】

具体的には、以下に記載される抗 P S M A C S R 構築物をコードする核酸が設計されており、多くのものが生成されている。

クローン A - C S R - 1 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v + m y c タグ (太字) + C D 28 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGYSVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQQGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTI
IHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKR SRLLHSD
YMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 55)

20

クローン A - C S R - 1 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v + C D 28 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGYSVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQQGVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
SPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVRSKR SRLLHSDYMNMTPRR
PGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号 37)

30

クローン A - C S R - 2 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v + m y c タグ (太字) + 4 - 1 B B 由来の配列 (下線))

40

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGPADLSPGASSVTPPAP
 AREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRF SVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQE
EDGCSCRFPEEEEEGGCEL (配列番号56)

10

クローン A - C S R - 2 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V +
 4 - 1 B B 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSAAATGPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQ
 IISFFLALTSTALLFLLFFLTLRF SVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRF
EEEEGGCEL (配列番号57)

20

クローン A - C S R - 3 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v +
 m y c タグ (太字) + C D 2 7 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGPTHLPYVSEMLEART^A
GHMQTLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLC^{SS}DFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRR
KYRSNKGESPV^EPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号58)

30

クローン A - C S R - 3 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v +
 C D 2 7 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSAAATGPTHLPYVSEMLEARTAGHM^QTLAD^F
RQLPARTLSTHWPPQRSLC^{SS}DFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRSNKGES
PVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号59)

40

50

クローン A-C S R-4 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v + m y c タグ (太字) + C D 3 0 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVS SEQKLISEEDLAAATGAPPLGTQPDCNPTPEN
GEAPASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFWVILVLVVVV
GSSAFLLCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEP
VAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLES LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNN
KIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGS
CSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK (配列番号60)

10

クローン A-C S R-4 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V + C D 3 0 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVS SAAATGAPPLGTQPDCNPTPENGEAPASTSP
TQSLLVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFWVILVLVVVVGSSAFLLCHR
RACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMS
QPLMETCHSVGAAYLES LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKAD
TVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEE
EGKEDPLPTAASGK (配列番号61)

20

30

クローン A-C S R-5 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v + m y c タグ (太字) + O X 4 0 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVS SEQKLISEEDLAAATGDRDPPATQPQETQGP
PARPITVQPTEAWPRTSQQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLR
RDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (配列番号62)

40

クローン A-C S R-5 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V + O X 4 0 由来の配列 (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSAAATGDRDP PATQPQETQGPPARPITVQPT
EAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDA
HKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号63)

10

クローン A - C S R - 6 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v +
 m y c タグ (太字) + C D 8 T M 及び C D 2 7 I C (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSS**EQKLISEEDL**AAATGTTTPAPRPPTPAPT**IAS**
QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQRRKYRS
NKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号64)

20

クローン A - C S R - 6 B (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン A s c F v +
 C D 8 T M 及び C D 2 7 I C (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
 QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
 CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSAAATGTTTPAPRPPTPAPT**IASQPLSLRPEA**
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGESPVE
PAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号65)

30

クローン A - C S R - 7 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V +
 M Y C タグ (太字) + C D 8 T M 及び C D 3 0 I C (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIAS
QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCHRRACRK
RIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMET
CHSVGAAYLES LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGT
VKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDP
LPTAASGK(配列番号66)

10

クローン A - C S R - 7 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V +
C D 8 T M 及び C D 3 0 I C (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCHRRACRK RIRQKLHLC
YPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAY
LES LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGT VKAELPEGR
GLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK
(配列番号67)

20

30

クローン A - C S R - 8 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V +
M Y C タグ (太字) + C D 8 T M 及び O X 4 0 I C (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIAS
QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCALYLLRR
DQRLPPDAH KPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号68)

40

クローン A - C S R - 8 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン A S C F V +
C D 8 T M 及び O X 4 0 I C (下線))

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGYSVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR
QMPGKGLEWMGIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
CARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA
CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAH
KPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号69)

10

クローン B - C S R - 1 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B s c F v +
m y c タグ (太字) + C D 2 8 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVK
GKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMN
MTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(配列番号70)

20

クローン B - C S R - 1 B (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B s c F v +
C D 2 8 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFL
PGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTTPRRPGPTR
KHYQPYAPPRDFAAYRS(配列番号38)

30

クローン B - C S R - 2 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B s c F v +
m y c タグ (太字) + 4 - 1 B B 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGPADLSPGASSVTPPAPAREP
GHSPQIISFFLALTSTALLFLLFLLTLRFSVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC
SCRFPEEEEGGCEL(配列番号71)

40

50

クローン B-C S R-2 B (N 末端から C 末端: 抗 P S M A クローン B s c F v + 4 - 1 B B 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSS AAATGPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIIISFF
LALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEE
GGCEL (配列番号72)

10

クローン B-C S R-3 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン B s c F v + m y c タグ (太字) + C D 2 7 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VS SEQKLISEEDL AAATGPTHLPYVSEMLEAR TAGHMQTLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLC SSDFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRS
NKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号73)

20

クローン B-C S R-3 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン B s c F v + C D 2 7 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSS AAATGPTHLPYVSEMLEAR TAGHMQTLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLC SSDFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRRKYRS NKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (配列番号74)

30

クローン B-C S R-4 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V + M Y C タグ (太字) + C D 3 0 由来の配列 (下線))

40

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGGGTLVTVSSEQKLISEEDLAAATGAPPLGTQPD CNPTPENGEAP
ASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFVILVLVVVVGSSAF
LLCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEER
GLMSQPLMETCHSVGAAYLESPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKNIEKIYI
MKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVM
LSVEEEGKEDPLPTAASGK(配列番号75)

10

クローン B - C S R - 4 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 C D 3 0 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGGGTLVTVSSAAATGAPPLGTQPD CNPTPENGEAPASTSPTQSL
LVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFVILVLVVVVGSSAFLLCHRRAC
RKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPL
METCHSVGAAYLESPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKNIEKIYIMKADTVIV
GTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGK
EDPLPTAASGK(配列番号76)

20

30

クローン B - C S R - 5 A (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 M Y C タグ (太字) + O X 4 0 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGGGTLVTVSSEQKLISEEDLAAATGDRDPPATQPQETQGPPARPI
TVQPTEAWPRTSQQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRL
PPDAHKKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号77)

40

クローン B - C S R - 5 B (N 末端から C 末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 O X 4 0 由来の配列 (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSS AAATGDRDP PATQPQETQGPPARPITVQPTEAWP
RTSQGPSTRPVEVPGGRAVAAILGLGLVLGLLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPP
GGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号78)

10

クローン B-C S R-6 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 M Y C タグ (太字) + C D 8 T M 及び C D 2 7 I C (下線))
 QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VS SEQKLISEEDL AAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGE
SPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号79)

20

クローン B-C S R-6 B (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 C D 8 T M 及び C D 2 7 I C (下線))
 QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSS AAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPA
AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLLSLVITLYCQRRKYRSNKGE SPVEPAEPC
RYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(配列番号80)

30

クローン B-C S R-7 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 M Y C タグ (太字) + C D 8 T M 及び C D 3 0 I C (下線))

40

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCHRRACRKRIRQ
KLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHS
VGAAYLESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKNIEKIYIMKADTVIVGTVKAE
LPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPT
AASGK(配列番号81)

10

クローン B-C S R-7 B (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 C D 8 T M 及び C D 3 0 I C (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA
AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQ
TSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESL
PLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNKNIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAG
PAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK(配列
 番号82)

20

30

クローン B-C S R-8 A (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 M Y C タグ (太字) + C D 8 T M 及び O X 4 0 I C (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARDSYYGIDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS
LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCALYLLRRDQRL
PPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号83)

40

クローン B-C S R-8 B (N末端からC末端の順: 抗 P S M A クローン B S C F V +
 C D 8 T M 及び O X 4 0 I C (下線))

QAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPS
 GVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGSRG
 GGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWV
 RQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
YCARDSYYGIDVWGQGT LVT VSSAAATGTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA
AGGAVHTRGLDFACDIYWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCALYLLRRDQRLPPDAHKKPPG
GGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI(配列番号84)

10

【0447】

以下に列挙される c a T C R + C S R 構築物の組み合わせをコードする核酸が設計され
 ており、これらの核酸の多くが生成されている。

A x 1 - c a T C R + A - C S R - 1 A (A x 1 - c a T C R + P 2 A 自己切断ペプチド
 (太字) + シグナル配列 (イタリック体) + クローン A - C S R - 1 A (下線))

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWV
 RQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
 KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
 KPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHV KPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMM
 SLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFLR AKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNP
 GP *METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVISC TGSSSNIGAGYDV*
 HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS
 YDSSLSGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT
 VAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
 VEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNC SKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFA
 IITCCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP *METDTLLLWVLLLWVPG*
STGQSVLTQPPSVSGAPGQRTVISC TGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSN
RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGKVTVLG
SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIG
WVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA
MYYCARMGSSLYASSDVWGQGT LVT VSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKS
NGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFVWL VVVGVLACY SLLVTVAFIIFWVRSKR S RLL
HSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS(配列番号85)

20

30

40

A - C S R - 1 A + A x 1 - c a T C R (シグナル配列 (イタリック体) + クローン A -
 C S R - 1 A (下線) + P 2 A 自己切断ペプチド (イタリック体) + A x 1 - c a T C R
)

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHW
YQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDS
SLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESL
KISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEQKLISEEDLA
AAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSP LFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSL
VTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSGSGATN
FSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKIS
 CKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTA
 YLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LVTVSSEASTKGPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV
 PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSC
 HKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQT
 LNFDLLKLAGDVESNPGP METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRV
 TISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLA
 ITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANK
 ATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWK
 SHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
 YYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号161)

10

20

A x 1 - c a T C R + B - C S R - 1 A (A x 1 - c a T C R + P 2 A 自己切断ペプチド
 (太字) + シグナル配列 (イタリック体) + クローン B - C S R - 1 A (下線))

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWV
 RQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMY
 YCARSMGSSLYASSDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV
 KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH
 KPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMM
 SLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFLRKRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNP
 GPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDV 10
 HWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQS
 YDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT
 VAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
 VEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFA
 IITCCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPG
 STGQAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQ
 RPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKTVTLG 20
 SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWV
 GWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDT
 AMYYCARDSYYGIDVWGQGTLVTVSSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTII
 HVKKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDY
 MNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号86)

B - C S R - 1 A + A x 1 - c a T C R (シグナル配列 (イタリック体) + クローン B -
 C S R - 1 A (下線) + P 2 A 自己切断ペプチド (イタリック体) + A x 1 - c a T C R
) 30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWY
QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
DSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGE
SLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISA
DKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSEQKLISEEDLAAA
IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFWVLVVVGGLACYSLLVT
VAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSGSGATNFS
LLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEVKKPGESLKISC
 KGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPGDS DTRYSPSFQQQVTISADKSISTAY
 LQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSS
 KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP
 SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSK SCH
 KPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQTL
 NFDLLKLAGDVESNP GP METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTI
 SCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT
 GLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKA
 TLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPEQWKS
 HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNC SKDANDTLLLQLTNTSAY
 YMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS (配列番号162)

10

20

B x 1 - c a T C R + A - C S R - 1 A (B x 1 - c a T C R + P 2 A 自己切断ペプチド
 (太字) + シグナル配列 (イタリック体) + クローン A - C S R - 1 A (下線))

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGW
 VRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
 YYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLT
 VLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFLRRAKRSRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
 METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWY
 QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
 DSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA
 WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKNYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE
 KTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCCKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIIT
 CCLLRRTAFCCNGEKSGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP METDTLLLWVLLLWVPGS
 TQGSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNSNR
 PSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGS
 RGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGW
 VRQMPGKGLEWMGIYPGDS TRYSPSFQQQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
 YYCARSMGSSLYASSDVWGQGTTLVTVSSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSN
 GTIIHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLH
 SDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号87)

10

20

A - C S R - 1 A + B x 1 - c a T C R (シグナル配列 (イタリック体) + クローン A -
 C S R - 1 A (下線) + P 2 A 自己切断ペプチド (イタリック体) + B x 1 - c a T C R
)

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHW
YQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDS
SLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESL
KISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDSDTRYSPSFQGGQVTISADKSI
STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGTLLTVTSSEQKLISEEDLA
AAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSL
VTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSGSGATN
FSLKQAGDVEENPGMETDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKIS
 CKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSI
 TAYLQWSSLKASDTAMYYCARSDSYGIDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
 TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS
 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKP
 KAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLTAKLFFLRRAKRSRSGSGAPVKQTLNFD
 LLKLAGDVESNPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRVTISCS
 GSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQ
 SEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLV
 CLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSHR
 SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCCKDANDTLLLQLTNTSAYYM
 YLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS(配列番号163)

10

20

B x 1 - c a T C R + B - C S R - 1 A (B x 1 - c a T C R + P 2 A 自己切断ペプチド
 (太字) + シグナル配列 (イタリック体) + クローン B - C S R - 1 A (下線))

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGW
 VRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM
 YYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
 NTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLT
 VLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFLRRAKRSRSGSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
 METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWY
 QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
 DSLNGYVFGTGKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA
 WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE
 KTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCCKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAIT
 CCLLRRTAFCCNGEKGSGGATNFSLLKQAGDVEENPGP METDTLLLWVLLLWVPGS
 TQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQR
 PSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGKVTVLGS
 RGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVG
 WVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTA
 MYCARDSYYGIDVWGQGTTLVTVSSEQKLISEEDLAAAEVMPYPYLDNEKSNGTIIH
 VKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYM
 NMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS (配列番号88)

10

20

B - C S R - 1 A + B x 1 - c a T C R (シグナル配列 (イタリック体) + クローン A -
 C S R - 1 A (下線) + P 2 A 自己切断ペプチド (イタリック体) + B x 1 - c a T C R
)

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTVNWY
QQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWD
DSLNGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEMKKPGE
SLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISA
DKSISTAYLQWSSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGTLVTVSSSEQKLISEEDLAAA
IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLFPGPSKPFWVLVVVGGLACYSLLVT
VAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSGSGATNFS
LLKQAGDVEENPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGAEMKKPGESLKISC
 KGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDDSDTRYGPAFQQQVTISADKSIST
 AYLQWSSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
 LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPK
 AIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLTAKLFFLRAKRSGSGAPVKQTLNFDL
 LKLAGDVESNPGPMETDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTVISCSS
 SSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQS
 EDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVC
 LISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKS

 SCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSDANDTLLLQLTNTSAYMYL
 LLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS(配列番号164)

10

20

A x 2 - c a T C R - 1 + B - C S R - 1 A (N末端からC末端へ: A x 2 - c a T C R
 + P 2 A 自己切断ペプチド(太字) + シグナル配列(イタリック体) + クローン A - C S
 R - 1 A (下線))

30

METDTLLLWVLLLWVPGSTGQSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHW
 YQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDS
 SLSGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESL
 KISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSI
 STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVTVSSGGGGSEVQLV
 QSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSP
 SFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARSMGSSLYASSDVWGQGT LTVTV
 SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPA
 VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKT DSTDH
 VKPKETENTKQPSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKT VAVNFLTAKLF
 FLRAKRS GSGAPVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP METDTLLLWVLLLWVPGSTGQS
 VLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGV
 PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGYVFGTGTKVTVLGQPKAN
 PTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN
 NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDN
 CSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS GSGGATN
 FSLLKQAGDVEENPGP METDTLLLWVLLLWVPGSTGQAVLTQPPSASGTPGQRTIS
 CSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLMYSNNQRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAIS
 GLQSEDEADYYCAAWDDSLNGYVFGTGTKVTVLGSRRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA
 EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASYWVGWVRQMPGKGLEWMGTIYPDD
 SDTRYGPAFQGGQVTISADKSI STAYLQWSSLKASDTAMYYCARDSYYGIDVWGQGT LTV
 TVSSEQKLISEEDLAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP SPLFPGPSKPFVW
 LVVVGGLVACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPP
 RDFAAYRS(配列番号89)

【0448】

以下の太字及び表12（以下に再現される）に記載されるc a T C R + C S R構築物の組み合わせをコードする核酸も設計される。

【0449】

B - C S R - 1 A + A x 2 - c a T C R - 1をコードする核酸は、（5'から3'まで）以下の主な構成成分：B - C S R - 1 A（配列番号70）、配列番号133のP2A自己切断ペプチド（すなわち、R A K R S G S G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P）に融合したフューリン切断部位、及び配列番号47（A x 2 - c a T C R - 1）を含むポリペプチドをコードする配列を含む。

【0450】

A x 2 - c a T C R - 1 + B - C S R - 1 Bをコードする核酸は、（5'から3'まで）配列番号47（A x 2 - c a T C R - 1）を含むポリペプチド、配列番号132のP2A自己切断ペプチド（G S G A T N F S L L K Q A G D V E E N P G P）、及びB - C S R - 1 B（配列番号38）をコードする配列を含む。（以下に再現される表12の行3も

10

20

30

40

50

参照のこと）。

【0451】

B-C S R-1 B + A x 2 - c a T C R-1 をコードする核酸は、（5' から 3' まで）B-C S R-1 B（配列番号 38）、配列番号 133 の P 2 A 自己切断ペプチドに融合したフューリン切断部位、及び配列番号 47（A x 2 - c a T C R-1）を含むポリペプチドをコードする配列を含む。（以下に再現される表 12 の行 4 も参照のこと）。

【0452】

表12

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
1	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR (例えば、配列番号 89)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1A (配列番号70)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
2	B-CSR-1A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR (例えば、パラグラ フ[0445]を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1A (配列番号70)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
3	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR (例えば、パラグラ フ[0446]を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1B (配列番号38)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
4	B-CSR-1B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR (例えば、パラグラ フ[0447]を参照)	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-1B (配列番号38)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
5	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2A (配列番号71)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
6	B-CSR-2A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2A (配列番号71)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
7	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2B (配列番号72)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
8	B-CSR-2B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-2B (配列番号72)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
					(配列番号133)
9	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3A (配列番号73)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
10	B-CSR-3A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3A (配列番号73)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
11	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3B (配列番号74)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
12	B-CSR-3B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-3B (配列番号74)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
13	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4A (配列番号75)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
14	B-CSR-4A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4A (配列番号75)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
15	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4B (配列番号76)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
16	B-CSR-4B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-4B (配列番号76)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
17	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-5A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5A (配列番号77)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
18	B-CSR-5A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5A (配列番号77)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
19	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5B (配列番号78)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
20	B-CSR-5B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-5B (配列番号78)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
21	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6A (配列番号79)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
22	B-CSR-6A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6A (配列番号79)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
23	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6B (配列番号80)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
24	B-CSR-6B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-6B (配列番号80)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
25	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-7A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7A (配列番号81)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
26	B-CSR-7A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7A (配列番号81)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
27	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7B (配列番号82)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
28	B-CSR-7B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-7B (配列番号82)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
29	Ax2-caTCR-1	caTCR-リンカー-	Ax2-caTCR-1	B-CSR-8A	P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	+ B-CSR-8A	CSR	(配列番号47)	(配列番号83)	(配列番号132)
30	B-CSR-8A + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-8A (配列番号83)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
31	Ax2-caTCR-1 + B-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-8B (配列番号84)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
32	B-CSR-8B + Ax2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-1 (配列番号47)	B-CSR-8B (配列番号84)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
33	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR (例えば、配列番号 90)	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1A (配列番号55)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
34	A-CSR-1A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1A (配列番号55)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
35	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1B (配列番号37)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
36	A-CSR-1B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-1B (配列番号37)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
37	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2A (配列番号56)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
38	A-CSR-2A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2A (配列番号56)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
39	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2B (配列番号57)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
40	A-CSR-2B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-2B (配列番号57)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
41	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3A (配列番号58)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
42	A-CSR-3A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3A (配列番号58)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
43	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3B (配列番号59)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
44	A-CSR-3B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-3B (配列番号59)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
45	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4A (配列番号60)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
46	A-CSR-4A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4A (配列番号60)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
47	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4B (配列番号61)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
48	A-CSR-4B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-4B (配列番号61)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
49	Bx2-caTCR-1	caTCR-リンカー-	Bx2-caTCR-1	A-CSR-5A	P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	+ A-CSR-5A	CSR	(配列番号49)	(配列番号62)	(配列番号132)
50	A-CSR-5A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-5A (配列番号62)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
51	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-5B (配列番号63)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
52	A-CSR-5B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-5B (配列番号63)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
53	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6A (配列番号64)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
54	A-CSR-6A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6A (配列番号64)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
55	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6B (配列番号65)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
56	A-CSR-6B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-6B (配列番号65)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
57	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-7A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7A (配列番号66)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
58	A-CSR-7A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7A (配列番号66)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
59	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7B (配列番号67)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
60	A-CSR-7B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-7B (配列番号67)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
61	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-8A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8A (配列番号68)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
62	A-CSR-8A + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8A (配列番号68)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
63	Bx2-caTCR-1 + A-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8B (配列番号69)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
64	A-CSR-8B + Bx2-caTCR-1	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-1 (配列番号49)	A-CSR-8B (配列番号69)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
65	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1A (配列番号70)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
66	B-CSR-1A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1A (配列番号70)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
67	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1B (配列番号38)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
68	B-CSR-1B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-1B (配列番号38)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
69	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2A (配列番号71)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
70	B-CSR-2A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2A (配列番号71)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
71	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2B (配列番号72)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
72	B-CSR-2B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-2B (配列番号72)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
73	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3A (配列番号73)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
74	B-CSR-3A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3A (配列番号73)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
75	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3B (配列番号74)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
76	B-CSR-3B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-3B (配列番号74)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
77	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-4A (配列番号75)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
78	B-CSR-4A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-4A (配列番号75)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
79	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-4B (配列番号76)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
80	B-CSR-4B +	CSR-リンカー-	Ax2-caTCR-2	B-CSR-4B	フューリン切断部位

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	Ax2-caTCR-2	caTCR	(配列番号48)	(配列番号76)	+P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
81	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-5A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5A (配列番号77)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
82	B-CSR-5A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5A (配列番号77)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
83	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5B (配列番号78)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
84	B-CSR-5B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-5B (配列番号78)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
85	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6A (配列番号79)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
86	B-CSR-6A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6A (配列番号79)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
87	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6B (配列番号80)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
88	B-CSR-6B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-6B (配列番号80)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
89	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-7A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7A (配列番号81)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
90	B-CSR-7A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7A (配列番号81)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
					(配列番号133)
91	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7B (配列番号82)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
92	B-CSR-7B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-7B (配列番号82)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
93	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-8A	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8A (配列番号83)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
94	B-CSR-8A + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8A (配列番号83)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
95	Ax2-caTCR-2 + B-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8B (配列番号84)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
96	B-CSR-8B + Ax2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Ax2-caTCR-2 (配列番号48)	B-CSR-8B (配列番号84)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
97	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-1A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1A (配列番号55)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
98	A-CSR-1A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1A (配列番号55)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
99	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-1B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1B (配列番号37)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
100	A-CSR-1B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-1B (配列番号37)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
101	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-2A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2A (配列番号56)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
102	A-CSR-2A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2A (配列番号56)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
103	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-2B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2B (配列番号57)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
104	A-CSR-2B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-2B (配列番号57)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
105	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-3A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3A (配列番号58)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
106	A-CSR-3A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3A (配列番号58)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
107	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-3B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3B (配列番号59)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
108	A-CSR-3B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-3B (配列番号59)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
109	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-4A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4A (配列番号60)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
110	A-CSR-4A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4A (配列番号60)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
111	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-4B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4B (配列番号61)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
112	A-CSR-4B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-4B (配列番号61)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
113	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-5A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5A (配列番号62)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
114	A-CSR-5A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5A (配列番号62)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
115	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-5B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5B (配列番号63)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
116	A-CSR-5B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-5B (配列番号63)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
117	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-6A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6A (配列番号64)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
118	A-CSR-6A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6A (配列番号64)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
119	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-6B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6B (配列番号65)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
120	A-CSR-6B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-6B (配列番号65)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
121	Bx2-caTCR-2	caTCR-リンカー-	Bx2-caTCR-2	A-CSR-7A	P2A自己切断ペプチド

10

20

30

40

caTCR + CSR 核酸によってコード される組み合わせ		核酸によってコード されるポリペプチド 中の構成成分の順序 (N末端からC末端)	例示的な抗PSMA caTCR	例示的な抗PSMA CSR	例示的なリンカー
	+ A-CSR-7A	CSR	(配列番号50)	(配列番号66)	(配列番号132)
122	A-CSR-7A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-7A (配列番号66)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
123	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-7B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-7B (配列番号67)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
124	A-CSR-7B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-7B (配列番号67)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
125	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-8A	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8A (配列番号68)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
126	A-CSR-8A + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8A (配列番号68)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)
127	Bx2-caTCR-2 + A-CSR-8B	caTCR-リンカー- CSR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8B (配列番号69)	P2A自己切断ペプチド (配列番号132)
128	A-CSR-8B + Bx2-caTCR-2	CSR-リンカー- caTCR	Bx2-caTCR-2 (配列番号50)	A-CSR-8B (配列番号69)	フューリン切断部位 +P2A自己切断ペプチド (配列番号133)

10

20

30

【0453】

表12の行1-128のいずれか1つの抗PSMA caTCR+抗PSMA CSRをコードする単一の核酸は、(例えば、caTCRの鎖1及び/又は鎖2をコードする配列の上流及び/又は抗PSMA CSRをコードする配列の上流に)1つ又は複数のシグナルペプチドをさらにコードし得る。特定のリンカーは、表12の行1-128に記載されているが、代替リンカーが使用されてもよい(例えば、表6Aを参照)。表12の行1-128のいずれか1つの抗PSMA caTCR+抗PSMA CSRをコードする単一の核酸は、1つ又は複数のペプチドリンカー(例えば、切断可能なリンカー)及び/又はペプチドタグをさらにコードし得る。例えば、表6A及び6Bを参照のこと。

40

【0454】

この実施例に記載のcaTCR+CSR構築物の組み合わせのいくつかを発現するT細胞は、対応する核酸を含むウイルスを一次ヒトT細胞に形質導入することによって生成され、それらの特徴及び機能は、実施例3及び7に記載の方法を使用して評価された。このようなタグを保持するCSR構築物中のmycタグは、発現マーカーとして使用された。

50

このようなT細胞は、コード化されたc a T C R及びC S R構築物を発現し、良好に増殖し、T細胞の特異性をリダイレクトし、陽性のP S M A特異的な細胞傷害性／腫瘍死滅活性を示した。

【0455】

実施例10に記載の2つの代表的な腫瘍細胞死滅実験において、モック形質導入T細胞及びc a T C Rをコードする核酸で形質導入されたT細胞とともに、いくつかの一次T細胞は、様々なc a T C R + C S Rの組み合わせをコードする核酸で形質導入され、また、60%の受容体陽性に正規化され、同じ3つの標的細胞株と2：1のE：T比（受容体陽性エフェクター：標的比1．2：1）で16時間インキュベートされた。これらの実験の結果は、これらのT細胞の陽性のP S M A特異的な細胞傷害性を示した図6及び図7に示されている。c a T C Rを単独で発現するT細胞と比較して、抗P S M A c a T C Rと抗P S M A C S Rの両方を発現するT細胞は、ほとんどの場合、より高い割合でP S M A + 腫瘍細胞を死滅させた。

【0456】

別の代表的な腫瘍細胞死滅実験では、A x 2 - c a T C R + B - C S R又はB x 2 - c a T C R + A - C S Rの組み合わせをコードする核酸で形質導入されたT細胞は、配列番号29のアミノ酸配列を含む抗P S M A C A R構築物又は配列番号30のアミノ酸配列を含む抗P S M A C A R構築物を発現するT細胞とともに、53%受容体陽性に正規化され、標的細胞と2：1のE：T比（0．2 M：0．1 M、受容体陽性エフェクター：標的比1．06：1）で16時間インキュベートされた。2つのP S M A + 標的細胞株：L N C a P及びP C 3 - P M S Aを使用した。この腫瘍細胞死滅実験の結果を図8に示す。これは、これらのT細胞の陽性のP S M A特異的な細胞傷害性を示している。さらに、この1つの重複実験の細胞をスピンドウンし、L u m i n e xアッセイのために上清を収集し、I L - 6などのいくつかの炎症性サイトカインを含む様々なサイトカインの放出レベルを測定した。結果は、c a T C R + C S Rをコードする核酸で形質導入されたT細胞は、C A Rをコードする核酸で形質導入されたT細胞よりも、I L - 6を含む低レベルの炎症性サイトカインを分泌したことを示している（データは非表示）。

【0457】

腫瘍細胞死滅実験に加えて、実施例7に記載される蛍光ベースのフローサイトメトリーアッセイが、構築物の組み合わせのA x 1 - c a T C R + B - C S R（別名A x 1 - c a T C R + B - C S R - 1 A、配列番号86）又はB x 1 - c a T C R + A - C S R（別名B x 1 - c a T C R + A - C S R - 1 A、配列番号87）を発現するT細胞を、T細胞の増殖を評価するために、50%受容体陽性になるようにモック形質導入T細胞で全て正規化された、クローンA C A R（配列番号29）又はクローンB C A R（配列番号30）を発現するT細胞とともに用いて行われた。L N C a PをP S M A + 標的細胞株として使用した。E：T比は2：1（0．1 M／0．05 M、受容体陽性エフェクター：標的比1：1）である。T細胞をC F S Eで染色した。T細胞は、最大4サイクル（4回のエンゲージメント）まで7日ごとに0．1 Mの標的細胞で再チャレンジされた。C F S Eシグナル伝達を、各エンゲージメント期間のD3、D5、及びD7においてフローサイトメトリーによって調べた。結果は図5に示されており、c a T C R + C S R構築物の組み合わせとC A Rの両方が抗原認識を介してT細胞増殖を刺激することができたことを示している。

【0458】

上記の実験は、表12に示されるc a T C R + C S R構築物の組み合わせを発現するT細胞を使用して繰り返される。

【0459】

実施態様の一覧

- 1． 配列番号44に記載のアミノ酸配列を含む細胞表面結合P S M Aの細胞外ドメインを特異的に認識する抗体部分を含む抗前立腺特異的な膜抗原（P S M A）構築物。
- 2． P S M Aが、がん細胞の表面上に発現される、実施態様1に記載の抗P S M A構築

10

20

30

40

50

物。

3. がん細胞が、前立腺がん細胞、腎細胞がん細胞、子宮がん細胞、又は肝臓がん細胞である、実施態様3に記載の抗PSMA構築物。

4. がん細胞が、前立腺がん細胞である、実施態様3に記載の抗PSMA構築物。

5. 前立腺がん細胞が、ホルモン抵抗性前立腺がん細胞又は転移性前立腺がん細胞である、実施態様4に記載の抗PSMA構築物。

6. がん細胞が、腎がん細胞である、実施態様3に記載の抗PSMA構築物。

7. 腎がん細胞が、腎明細胞がん(CCRC C)細胞である、実施態様6に記載の抗PSMA構築物。

8. PSMAが、LNCaP、MDA PCa 2b、VCaP、22Rv1、Caki-1; HCC1482; 及びHuH-7からなる群から選択される細胞の表面上に発現される、実施態様1-7のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。 10

9. 抗体部分が、

i) 配列番号1-2のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-H1、又は最大約5個のアミノ酸置換を含むその変異体、配列番号3-4のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-H2、又は最大約5個のアミノ酸置換を含むその変異体、及び配列番号5-6のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-H3、又は最大約5個のアミノ酸置換を含むその変異体を含む重鎖可変ドメイン(V_H) ; 並びに

ii) 配列番号7-8のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-L1、又は最大約5個のアミノ酸置換を含むその変異体、アミノ酸配列GNS若しくはSSNを含むCDR-L2、又は約2個のアミノ酸置換を含むその変異体、及び配列番号9-10のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-L3、又は最大約5個のアミノ酸置換を含むその変異体を含む軽鎖可変ドメイン(V_L) 20

を含む、実施態様1-8のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

10. 抗体部分が、i) 配列番号1-2のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号3-4のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-H2、及び配列番号5-6のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-H3を含むV_H ; 並びにii) 配列番号7-8のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-L1、GNS又はSNNのアミノ酸配列を含むCDR-L2、及び配列番号9-10のいずれか1つのアミノ酸配列を含むCDR-L3を含むV_Lを含む、実施態様9に記載の抗PSMA構築物。 30

11. 抗体部分が、以下

i) 配列番号1のアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号3のアミノ酸配列を含むCDR-H2、及び配列番号5のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含むV_H ; 並びに

ii) 配列番号7のアミノ酸配列を含むCDR-L1、アミノ酸配列GNSを含むCDR-L2、及び配列番号9のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含む軽鎖可変ドメイン(V_L)

を含む、実施態様9又は10に記載の抗PSMA構築物。

12. 抗体部分が、

i) 配列番号2のアミノ酸配列を含むCDR-H1、配列番号4のアミノ酸配列を含むCDR-H2、及び配列番号6のアミノ酸配列を含むCDR-H3を含むV_H ; 並びに 40

ii) 配列番号8のアミノ酸配列を含むCDR-L1、アミノ酸配列SNNを含むCDR-L2、及び配列番号10のアミノ酸配列を含むCDR-L3を含むV_L

を含む、実施態様9又は10に記載の抗PSMA構築物。

13. 抗体部分が、配列番号16又は17に記載の重鎖可変ドメイン(V_H)のCDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3、並びに配列番号18又は19に記載の軽鎖可変ドメイン(V_L)のCDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む、実施態様1-8のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

14. 抗体部分が、配列番号16に記載のV_HのCDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3、並びに配列番号18に記載のV_LのCDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む、実施態様13に記載の抗PSMA構築物。 50

15. 抗体部分が、配列番号17に記載の V_H のCDR-H1、CDR-H2、及びCDR-H3、並びに配列番号19に記載の V_L のCDR-L1、CDR-L2、及びCDR-L3を含む、実施態様13に記載の抗PSMA構築物。

16. 抗体部分が、i) 配列番号16又は17に対して少なくとも約85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H 、及びii) 配列番号18又は19に対して少なくとも約85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L を含む、実施態様1-8のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

17. 抗体部分が、i) 配列番号16又は17に対して少なくとも約90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H 、及びii) 配列番号18又は19に対して少なくとも約90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L を含む、実施態様1-16のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

18. 抗体部分が、i) 配列番号16又は17に対して少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_H 、及びii) 配列番号18又は19に対して少なくとも約95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V_L を含む、実施態様1-17のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

19. 抗体部分が、配列番号16のアミノ酸配列を含む V_H 及び配列番号18のアミノ酸配列を含む V_L を含む、実施態様1-8に記載の抗PSMA構築物。

20. 抗体部分が、配列番号17のアミノ酸配列を含む V_H 及び配列番号18のアミノ酸配列を含む V_L を含む、実施態様1-8に記載の抗PSMA構築物。

21. 抗体部分が、

i) 配列番号1、3、及び5のアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメイン(V_H)、並びに配列番号7、GNS、及び配列番号9のアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメイン(V_L)；又は

ii) 配列番号2、4、及び6のアミノ酸配列を含む V_H 、並びに配列番号8、SSN、及び配列番号10のアミノ酸配列を含む V_L を含む、実施態様1-8のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

22. PSMAへの特異的結合について実施態様19又は実施態様20に記載の抗PSMA構築物と競合する抗体部分を含む抗PSMA構築物。

23. PSMAを特異的に認識する抗体部分が、キメラである、ヒトである、部分的にヒト化されている、完全にヒト化されている、又は半合成である、実施態様1-22のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

24. PSMAを特異的に認識する抗体部分が、完全長抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、又は単鎖Fv(scFv)である、実施態様1-23のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

25. PSMAを特異的に認識する抗体部分が、scFvである、実施態様24に記載の抗PSMA構築物。

26. scFvが、配列番号20に記載のアミノ酸配列、又は配列番号20に対して少なくとも85%、90%、又は95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様25に記載の抗PSMA構築物。

27. scFvが、配列番号21に記載のアミノ酸配列、又は配列番号21に対して少なくとも85%、90%、又は95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様25に記載の抗PSMA構築物。

28. PSMAを特異的に認識する抗体部分が、Fab又はFab'である、実施態様24に記載の抗PSMA構築物。

29. PSMAを特異的に認識する抗体部分が、任意選択でリンカーを介してFc断片に融合される、実施態様1-28のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

30. Fc断片が、ヒトIgG Fc断片である、実施態様29に記載の抗PSMA構築物。

31. ヒトIgGが、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4である、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

10

20

30

40

50

32. 抗PSMA抗体部分が、完全長抗体である、実施態様1-23のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

33. 完全長抗体が、配列番号39のアミノ酸配列又は配列番号39に対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号40のアミノ酸配列又は配列番号40に対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

34. 完全長抗体が、配列番号39に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号40に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

35. 完全長抗体が、配列番号39に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号40に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

36. 完全長抗体が、配列番号41に対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号42に対して少なくとも85%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

37. 完全長抗体が、配列番号41に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号42に対して少なくとも90%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

38. 完全長抗体が、配列番号41に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号42に対して少なくとも95%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、実施態様30に記載の抗PSMA構築物。

39. 構築物が単一特異性である、実施態様1-38のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

40. 構築物が多重特異性である、実施態様1-38のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

41. 構築物が二重特異性である、実施態様40に記載の抗PSMA構築物。

42. 構築物が、タンデムscFv、ダイアボディ(Db)、単鎖ダイアボディ(scDb)、二重親和性リターゲティング(dual-affinity retargeting)(DART)抗体、F(ab')₂、二重可変ドメイン(DVD)抗体、ノブイントゥホール(KiH)抗体、ドックアンドロック(DNL)抗体、化学的に架橋された抗体、ヘテロ多量体抗体、又はヘテロコンジュゲート抗体である、実施態様40又は41に記載の抗PSMA構築物。

43. 構築物が、ペプチドリンカーによって連結された2つのscFvを含むタンデムscFvである、実施態様42に記載の抗PSMA構築物。

44. 構築物が、第2の抗原を特異的に認識する第2の抗体部分をさらに含む、実施態様40-43のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

45. 第2の抗原が、T細胞の表面上の抗原である、実施態様44に記載の抗PSMA構築物。

46. 第2の抗原が、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD28、OX40、GITR、CD137、CD27、CD40L、及びHVEMからなる群から選択される、実施態様45に記載の抗PSMA構築物。

47. 第2の抗原がCD3 ϵ である、実施態様46に記載の抗PSMA構築物。

48. 構築物が、PSMAを特異的に認識するN末端scFv及びCD3 ϵ を特異的に認識するC末端scFvを含むタンデムscFvである、実施態様47に記載の抗PSMA構築物。

49. 配列番号25又は26に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様48に記載の抗PSMA構築物。

50. 配列番号27又は28に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様48に記載の抗PSMA構築物。

51. T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、及びナチュラルキラーT細胞か

10

20

30

40

50

らなる群から選択される、実施態様 45 に記載の抗 P S M A 構築物。

52. 抗 P S M A 構築物の発現が、操作された T 細胞の活性化によって誘導される、実施態様 45-51 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

53. 操作された T 細胞が、キメラ抗原受容体 (C A R) を含む T 細胞である、実施態様 52 に記載の抗 P S M A 構築物。

54. C A R が P S M A に特異的に結合する、実施態様 53 に記載の抗 P S M A 構築物。

55. C A R が P S M A 以外の抗原に結合する、実施態様 53 に記載の抗 P S M A 構築物。

56. 操作された T 細胞が、キメラ抗体-T細胞受容体 (T C R) 構築物 (c a T C R) を含む T 細胞である、実施態様 52 に記載の抗 P S M A 構築物。 10

57. c a T C R が P S M A に特異的に結合する、実施態様 56 に記載の抗 P S M A 構築物。

58. c a T C R が P S M A 以外の抗原に結合する、実施態様 56 に記載の抗 P S M A 構築物。

59. 第 2 の抗原が、B 細胞、ナチュラルキラー細胞、樹状細胞、マクロファージ、単球、又は好中球の表面上の抗原である、実施態様 44 に記載の抗 P S M A 構築物。

60. 構築物が、

(a) 抗 P S M A 抗体部分を含む細胞外ドメイン；

(b) 膜貫通ドメイン；及び

(c) 細胞内シグナル伝達ドメイン

を含む C A R である、実施態様 1-27 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。 20

61. 細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 3 ζ、T C R ζ、F c R γ、F c R β、C D 3 γ、C D 3 δ、C D 3 ε、C D 5、C D 22、C D 79 a、C D 79 b、又は C D 66 d に由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列を含む、実施態様 60 に記載の抗 P S M A 構築物。

62. 細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 28、4-1 B B、I C O S、又は O X 40 に由来する共刺激シグナル伝達配列をさらに含む、実施態様 61 に記載の抗 P S M A 構築物。

63. 細胞内シグナル伝達ドメインが、C D 3 ζ に由来する一次免疫細胞シグナル伝達配列及び C D 28 に由来する共刺激シグナル伝達配列を含む、実施態様 60、61、又は 62 に記載の抗 P S M A 構築物。 30

64. 配列番号 29 に対して少なくとも 85%、90%、95%、又は 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様 60-63 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

65. 配列番号 30 に対して少なくとも 85%、90%、95%、又は 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様 60-63 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。

66. 構築物が、

(a) 抗 P S M A 抗体部分を含む細胞外ドメイン；及び

(b) 第 1 の T C R 膜貫通ドメイン (T C R-TM) を含む第 1 の T C R ドメイン (T C R D) 及び第 2 の T C R-TM を含む第 2 の T C R D を含む T 細胞受容体モジュール (T C R M)、を含み、ここで、該 T C R M が少なくとも 1 つの T C R 会合シグナル伝達分子の動員を促進する、c a T C R である、実施態様 1-23 のいずれか一項に記載の抗 P S M A 構築物。 40

67. 第 1 の T C R-TM が、第 1 の天然に存在する T C R の膜貫通ドメインの 1 つに由来し、第 2 の T C R-TM が、第 1 の天然に存在する T C R の他の膜貫通ドメインに由来する、実施態様 66 に記載の抗 P S M A 構築物。

68. T C R-TM の少なくとも 1 つが、天然には存在しない、実施態様 67 に記載の抗 P S M A 構築物。 50

69. 少なくとも1つの天然には存在しないTCR-TMを含むTCRMが、第1の天然に存在するT細胞受容体膜貫通ドメインを含むTCRMと比較して、少なくとも1つのTCR会合シグナル伝達分子の増強された動員を可能にする、実施態様68に記載の抗PSMA構築物。

70. 第1及び第2のTCR-TMが、天然に存在する、実施態様66又は67に記載の抗PSMA構築物。

71. 第1のTCR-TM及び第2のTCR-TMが、 γ/δ TCRに由来し、任意選択で、第1のTCR-TMがTCR γ 鎖に由来し、第2のTCR-TMがTCR δ 鎖に由来し、又は

任意選択で、第1のTCR-TMがTCR δ 鎖に由来し、第2のTCR-TMがTCR γ 鎖に由来する、実施態様66-70のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

72. 構築物が、配列番号31に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号32に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

73. 構築物が、配列番号34に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号35に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

74. 構築物が、配列番号165に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号166に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

75. 構築物が、配列番号167に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号168に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

76. 構築物が、配列番号169に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号170に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

77. 構築物が、配列番号171に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号172に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

78. 構築物が、配列番号173に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号174に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

79. 構築物が、配列番号175に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号176に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

80. 構築物が、配列番号177に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号178に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

81. 構築物が、配列番号179に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第1のポリペプチド鎖及び配列番号180に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

10

20

30

40

50

ノ酸配列を含む第2のポリペプチド鎖を含む、実施態様71に記載の抗PSMA構築物。

82. 第1のTCR-TM及び第2のTCR-TMが、 α/β TCRに由来し、

任意選択で、第1のTCR-TMがTCR α 鎖に由来し、第2のTCR-TMがTCR β 鎖に由来し、又は

任意選択で、第1のTCR-TMがTCR β 鎖に由来し、第2のTCR-TMがTCR α 鎖に由来する、実施態様66-70のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

83. TCR会合シグナル伝達分子が、CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 、及びCD3 $\zeta\zeta$ からなる群から選択される、実施態様66-82のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

84. c a TCRが、機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている、実施態様66-83のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

85. 構築物が、

i) PSMAと結合又は相互作用することができるリガンド結合モジュール；

i i) 膜貫通モジュール；及び

i i i) 共刺激シグナルをエフェクター細胞に提供することができる共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュール

を含み、

ここで、該リガンド結合モジュールと共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが同じ分子に由来せず、該CSRが機能的な一次免疫細胞シグナル伝達ドメインを欠いている、キメラシグナル伝達受容体(CSR)である、実施態様1-23のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

86. CSRが、任意の一次免疫細胞シグナル伝達配列を欠いている、実施態様85に記載の抗PSMA構築物。

87. リガンド結合モジュールが、実施態様1-25のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物を含む、実施態様85又は86に記載の抗PSMA構築物。

88. CSRの膜貫通モジュールとCSRの共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが同じ分子に由来する、実施態様85から87のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

89. 分子が、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD27、CD40、PD-1、ICOS、リンパ球機能関連抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、及びCD83と特異的に結合するリガンドからなる群から選択される、実施態様88に記載の抗PSMA構築物。

90. 分子が、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、及びCD27からなる群から選択される、実施態様89に記載の抗PSMA構築物。

91. CSRの膜貫通モジュールとCSRの共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが異なる分子に由来する、実施態様85から87のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

92. CSRの膜貫通モジュールが、CD28、CD3 ϵ 、CD3 ζ 、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD27、CD30、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154、4-1BB、OX40、又はT細胞受容体の α 、 β 、 δ 、 γ 、若しくは ζ 鎖に由来する膜貫通ドメインを含む、実施態様85-91のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

93. CSRの膜貫通モジュールが、CD8、4-1BB、CD27、CD28、CD30、又はOX40に由来する膜貫通ドメインを含む、実施態様85-92のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

94. CSRの膜貫通モジュールが、配列番号94-99のいずれか1つに対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有する配列を含む、実施態様93に記載の抗PSMA構築物。

95. 共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが、TCRの共刺激受容体の細胞内ドメインに由来する、実施態様85-94のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

96. 共刺激受容体が、4-1BB、CD27、CD28、CD30、OX40、ICOS、及びCD40からなる群から選択される、実施態様95に記載の抗PSMA構築物

10

20

30

40

50

。

97. CSRの共刺激免疫細胞シグナル伝達モジュールが、配列番号100-103及び183のいずれか1つに対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有する配列を含む、実施態様96に記載の抗PSMA構築物。

98. CSRの発現が、操作されたT細胞の活性化の際に誘導可能である、実施態様85-97のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

99. 操作されたT細胞が、CARを含むT細胞である、実施態様98に記載の抗PSMA構築物。

100. CARがPSMAに特異的に結合する、実施態様99に記載の抗PSMA構築物。

101. CARがPSMA以外の抗原に結合する、実施態様99に記載の抗PSMA構築物。

102. 操作されたT細胞が、caTCRを含むT細胞である、実施態様98に記載の抗PSMA構築物。

103. caTCRがPSMAに特異的に結合する、実施態様102に記載の抗PSMA構築物。

104. caTCRがPSMA以外の抗原に結合する、実施態様102に記載の抗PSMA構築物。

105. 配列番号3、55-69、93、及び184-186のいずれか1つに対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様85-104のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

106. 配列番号37に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様105に記載の抗PSMA構築物。

107. 配列番号38、70-84、93、及び184-186のいずれか1つに対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様85-104のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

108. 配列番号38に対して少なくとも85%、90%、95%、又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、実施態様107に記載の抗PSMA構築物。

109. シグナルペプチドを含む、実施態様85-108のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

110. シグナルペプチドが、METDTLLLVVLLLVVPGSTG 配列番号128の配列を含む、実施態様109に記載の抗PSMA構築物。

111. エフェクター分子にコンジュゲートされた、実施態様1-42のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物。

112. エフェクター分子が、薬物、毒素、放射性同位元素、タンパク質、ペプチド、及び核酸からなる群から選択される治療剤である、実施態様111に記載の抗PSMA構築物。

113. 治療剤が、薬物又は毒素である、実施態様112に記載の抗PSMA構築物。

114. エフェクター分子が、検出可能な標識である、実施態様111に記載の抗PSMA構築物。

115. 実施態様60-65のいずれか一項に記載の抗PSMA CAR、又は実施態様66-84のいずれか一項に記載の抗PSMA caTCRをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞。

116. 抗PSMA CAR又は抗PSMA caTCRをコードする1つ又は複数の核酸がまた、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含むCSRをコードする、実施態様115に記載のエフェクター細胞。

117. 標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含むCSRをコードする1つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている、実施態様115に記載のエフェクター細胞。

118. 標的抗原がPSMAである、実施態様116又は117に記載のエフェクター

10

20

30

40

50

細胞。

119. 標的抗原が、P S M A 以外の抗原である、実施態様 116 又は 117 に記載のエフェクター細胞。

120. 抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸がまた、標的抗原に結合する第 1 の s c F v を含むタンデム s c F v をコードする、実施態様 115 に記載のエフェクター細胞。

121. 標的抗原に結合する第 1 の s c F v を含むタンデム s c F v をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている、実施態様 115 に記載のエフェクター細胞。

122. 標的抗原が P S M A である、実施態様 120 又は 121 に記載のエフェクター細胞。 10

123. 標的が、P S M A 以外の抗原である、実施態様 120 又は 121 に記載のエフェクター細胞。

124. 実施態様 43-59 のいずれか一項に記載の抗 P S M A タンデム s c F v 、又は実施態様 85-110 のいずれか一項に記載の抗 P S M A C S R をコードする 1 つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞

125. 抗 P S M A タンデム s c F v 又は抗 P S M A C S R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、C A R をコードする、実施態様 124 に記載のエフェクター細胞。

126. C A R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている、実施態様 124 に記載のエフェクター細胞。 20

127. C A R が P S M A に特異的に結合する、実施態様 125 又は 126 に記載のエフェクター細胞。

128. C A R が P S M A 以外の抗原に特異的に結合する、実施態様 125 又は 126 に記載のエフェクター細胞。

129. 抗 P S M A タンデム s c F v 又は抗 P S M A C S R をコードする 1 つ又は複数の核酸はまた、c a T C R をコードする、実施態様 124 に記載のエフェクター細胞。

130. c a T C R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で遺伝子改変されている、実施態様 124 に記載のエフェクター細胞。

131. c a T C R が P S M A に特異的に結合する、実施態様 129 又は 130 に記載のエフェクター細胞。 30

132. c a T C R が P S M A 以外の抗原に特異的に結合する、実施態様 129 又は 130 に記載のエフェクター細胞。

133. エフェクター細胞が免疫細胞である、実施態様 115-132 のいずれか一項に記載のエフェクター細胞。

134. 免疫細胞が、T 細胞である、実施態様 133 に記載のエフェクター細胞。

135. T 細胞が、細胞傷害性 T 細胞、ヘルパー T 細胞、又はナチュラルキラー T 細胞である、実施態様 122 に記載のエフェクター細胞。

136. 実施態様 60-65 のいずれか一項に記載の抗 P S M A C A R 、又は実施態様 66-84 のいずれか一項に記載の抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸で遺伝子改変することを含む、エフェクター細胞を生成する方法。 40

137. 抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の核酸がまた、標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含む C S R をコードする、実施態様 136 に記載の方法。

138. 標的抗原に結合するリガンド結合モジュールを含む C S R をコードする 1 つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む、実施態様 136 に記載の方法。

139. 標的抗原が P S M A である、実施態様 137 又は 138 に記載の方法。

140. 標的抗原が、P S M A 以外の抗原である、実施態様 137 又は 138 に記載の方法。

141. 抗 P S M A C A R 又は抗 P S M A c a T C R をコードする 1 つ又は複数の 50

核酸がまた、標的抗原に結合する第1のs c F vを含むタンデムs c F vをコードする、実施態様136に記載の方法。

142. 標的抗原に結合する第1のs c F vを含むタンデムs c F vをコードする1つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む、実施態様136に記載の方法。

143. 標的抗原がPSMAである、実施態様141又は142に記載の方法。

144. 標的が、PSMA以外の抗原である、実施態様141又は142に記載の方法。

145. 実施態様37-53のいずれか一項に記載の抗PSMAタンデムs c F v、又は実施態様85-110のいずれか一項に記載の抗PSMA CSRをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変することを含む、エフェクター細胞を生成する方法。 10

146. 抗PSMAタンデムs c F v又は抗PSMA CSRをコードする1つ又は複数の核酸はまた、CARをコードする、実施態様145に記載の方法。

147. CARをコードする1つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む、実施態様145に記載の方法。

148. CARがPSMAに特異的に結合する、実施態様146又は147に記載の方法。

149. CARがPSMA以外の抗原に特異的に結合する、実施態様146又は147に記載の方法。

150. 抗PSMA CAR又は抗PSMA ca TCRをコードする1つ又は複数の核酸はまた、ca TCRをコードする、実施態様145に記載の方法。 20

151. ca TCRをコードする1つ又は複数の追加の核酸で細胞をさらに遺伝子改変することを含む、実施態様145に記載の方法。

152. ca TCRがPSMAに特異的に結合する、実施態様150又は151に記載の方法。

153. ca TCRがPSMA以外の抗原に特異的に結合する、実施態様150又は151に記載の方法。

154. エフェクター細胞が免疫細胞である、実施態様136-153のいずれか一項に記載の方法。

155. 免疫細胞が、T細胞である、実施態様154に記載の方法。 30

156. T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である、実施態様155に記載の方法。

157. 実施態様1-110のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物のポリペプチド部分をコードする核酸。

158. 実施態様157に記載の核酸を含むベクター。

159. 実施態様157に記載の核酸、又は158に記載のベクターを含む宿主細胞。

160. 抗PSMA構築物が発現される条件下で実施態様159に記載の宿主細胞を培養すること、及び宿主細胞によって産生された抗PSMA構築物を回収することを含む、実施態様1-59のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物を産生する方法。

161. 実施態様1-59及び111-113のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物、実施態様115-135のいずれか一項に記載のエフェクター細胞、実施態様157に記載の核酸、又は実施態様158に記載のベクター及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物。 40

162. 実施態様1-59及び111-113のいずれか一項に記載の抗PSMA構築物、実施態様115-135のいずれか一項に記載のエフェクター細胞、実施態様157に記載の核酸、実施態様158に記載のベクター及び／又は実施態様159に記載の宿主細胞を含むキット。

163. 試料を実施態様114に記載の抗PSMA構築物と接触させること、及び標識の存在を検出することを含む、試料中のPSMAを検出する方法。

164. 試料がPSMAを発現する細胞を含む、実施態様163に記載の方法。 50

165. 実施態様161に記載の薬学的組成物の有効量を個体に投与することを含む、PSMA関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法。

166. 実施態様60-65のいずれか一項に記載の抗PSMA CAR、又は実施態様66-84のいずれか一項に記載の抗PSMA caTCRをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞を個体に投与することを含む、PSMA関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法。

167. 投与前に1つ又は複数の核酸でエフェクター細胞を遺伝子改変することを含む、実施態様166に記載の方法。

168. 抗PSMA CAR又は抗PSMA caTCRをコードする1つ又は複数の核酸がまた、CSR又はタンデムscFvをコードする、実施態様167に記載の方法。

169. CSR又はタンデムscFvをコードする1つ又は複数の追加の核酸でエフェクター細胞をさらに遺伝子改変することを含む、実施態様167に記載の方法。

170. タンデムscFvがPSMAに特異的に結合する、実施態様168又は169に記載の方法。

171. タンデムscFvがPSMA以外の抗原に特異的に結合する、実施態様168又は169に記載の方法。

172. CSRがPSMAに特異的に結合する、実施態様168又は169に記載の方法。

173. CSRがPSMA以外の抗原に特異的に結合する、実施態様168又は169に記載の方法。

174. 実施態様43-59のいずれか一項に記載の抗PSMA タンデムscFv、又は実施態様85-110のいずれか一項に記載の抗PSMA CSRをコードする1つ又は複数の核酸で遺伝子改変されているエフェクター細胞を個体に投与することを含む、PSMA関連疾患又は障害を有する個体を治療する方法。

175. 投与前に1つ又は複数の核酸でエフェクター細胞を遺伝子改変することを含む、実施態様174に記載の方法。

176. 抗PSMA CSR又は抗PSMAタンデムscFvをコードする1つ又は複数の核酸がまた、CAR又はcaTCRをコードする、実施態様175に記載の方法。

177. CAR又はcaTCRをコードする1つ又は複数の追加の核酸でエフェクター細胞をさらに遺伝子改変することを含む、実施態様175に記載の方法。

178. CARがPSMAに特異的に結合する、実施態様176又は177に記載の方法。

179. CARがPSMA以外の抗原に特異的に結合する、実施態様176又は177に記載の方法。

180. caTCRがPSMAに特異的に結合する、実施態様176又は177に記載の方法。

181. caTCRがPSMA以外の抗原に特異的に結合する、実施態様176又は177に記載の方法。

182. エフェクター細胞が免疫細胞である、実施態様166-181のいずれか一項に記載の方法。

183. 免疫細胞が、T細胞である、実施態様182に記載の方法。

184. T細胞が、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、又はナチュラルキラーT細胞である、実施態様183に記載の方法。

185. 方法が、エフェクター細胞を遺伝子改変して投与する前に、個体からエフェクター細胞を得ることをさらに含む、実施態様166-184のいずれか一項に記載の方法。

186. エフェクター細胞が得られる個体が、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体である、実施態様185に記載の方法。

187. エフェクター細胞が得られる個体が、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体ではない、実施態様186に記載の方法。

10

20

30

40

50

188. 遺伝子改変されたエフェクター細胞が、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体に関して同種異系である、実施態様187に記載の方法。

189. 遺伝子改変されたエフェクター細胞が、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体に関して同系である、実施態様188に記載の方法。

190. 遺伝子改変されたエフェクター細胞が、遺伝子改変されたエフェクター細胞が投与される個体に関して異種である、実施態様188に記載の方法。

191. 個体に追加の治療を投与することをさらに含む、実施態様165-184のいずれか一項に記載の方法。1

192. P S M A 関連疾患又は障害ががんである、実施態様165-191のいずれか一項に記載の方法。

193. がんが、前立腺がん、腎がん細胞、子宮がん及び肝臓がんからなる群から選択される、実施態様192に記載の方法。

194. がんが、前立腺がんである、実施態様193に記載の方法。

195. 前立腺がんが、ホルモン抵抗性前立腺がん又は転移性前立腺がんである、実施態様194に記載の方法。

196. がんが、腎がんである、実施態様193に記載の方法。

197. 腎がんが、腎明細胞がん (C C R C C) である、実施態様196に記載の方法。

198. P S M A 関連疾患又は障害を有する個体が、哺乳動物である、実施態様165-197のいずれか一項に記載の方法。

199. 哺乳動物が、ヒトである、実施態様198に記載の方法。

200. P S M A 関連疾患又は障害を有すると疑われる個体を診断する方法であって、
a) 実施態様114に記載の抗 P S M A 構築物の有効量を個体に投与すること；及び
b) 個体における標識のレベルを決定することであって、ここで、閾値レベルを上回る標識のレベルが、個体が P S M A 関連疾患又は障害を有することを示す、決定することを含む方法。

201. P S M A 関連疾患又は障害を有すると疑われる個体を診断する方法であって、
(a) 個体に由来する細胞を含む試料を、実施態様114に記載の抗 P S M A 構築物と接触させること；及び

b) 抗 P S M A 構築物と結合した試料中の細胞の数を決定することであって、ここで、閾値レベルを上回る、抗 P S M A 構築物と結合した細胞の数の値が、個体が P S M A 関連疾患又は障害を有することを示す、決定することを含む方法。

202. P S M A 関連疾患又は障害ががんである、実施態様200又は201に記載の方法。

203. がんが、前立腺がん、腎がん細胞、子宮がん及び肝臓がんからなる群から選択される、実施態様202に記載の方法。

204. がんが、前立腺がんである、実施態様203に記載の方法。

205. 前立腺がんが、ホルモン抵抗性前立腺がん又は転移性前立腺がんである、実施態様204に記載の方法。

206. がんが、腎がんである、実施態様203に記載の方法。

207. 腎がんが、腎明細胞がん (C C R C C) である、実施態様206に記載の方法。

208. P S M A の発現、異常な発現、及び／又は異常な活性に関連する疾患又は障害を有すると疑われる個体が、哺乳動物である、実施態様200-207のいずれか一項に記載の方法。

209. 哺乳動物が、ヒトである、実施態様208に記載の方法。

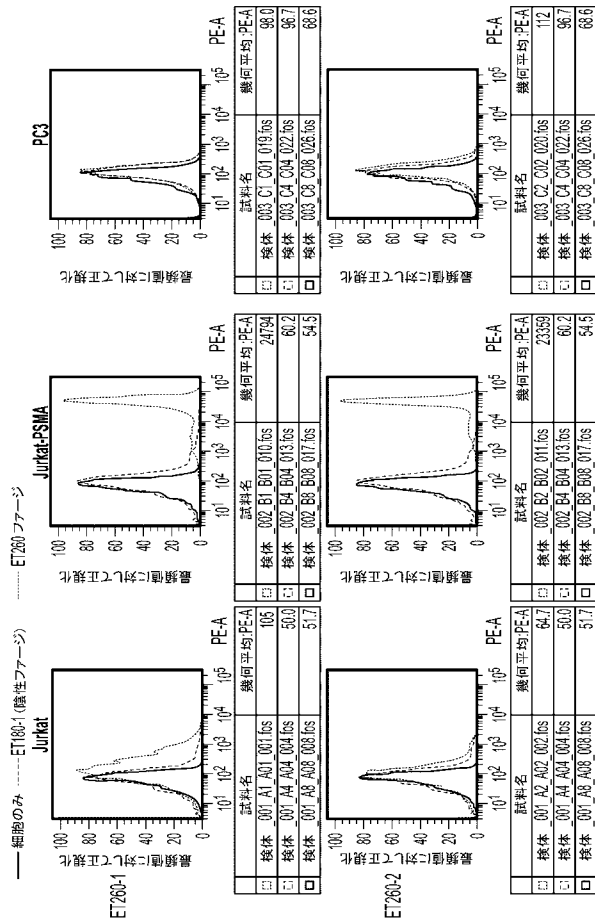
10

20

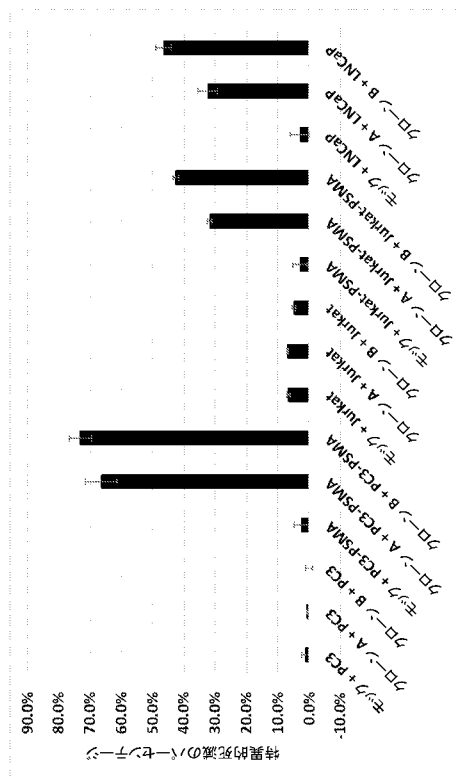
30

40

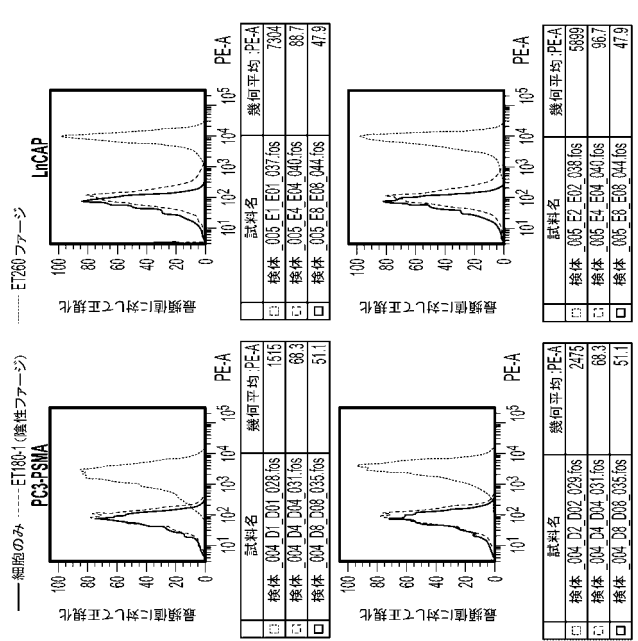
【図 1 - 1】



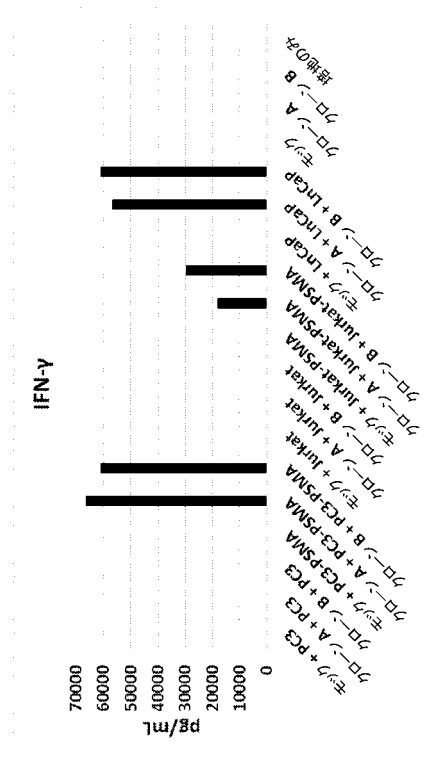
【図 2】



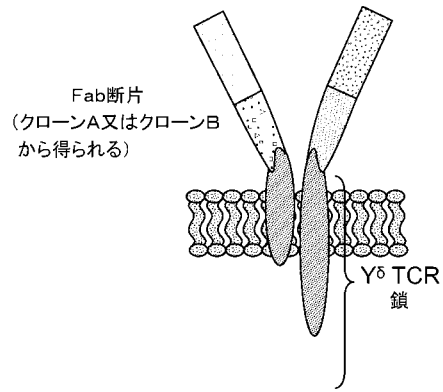
【図 1 - 2】



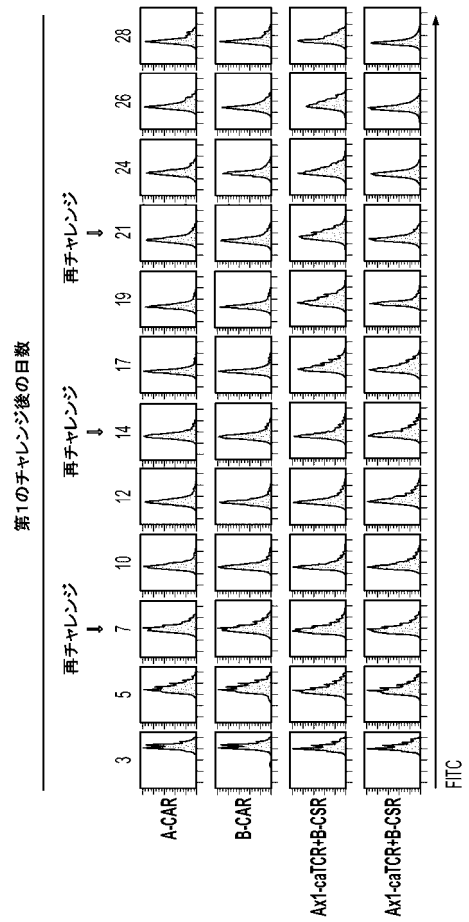
【図 3】



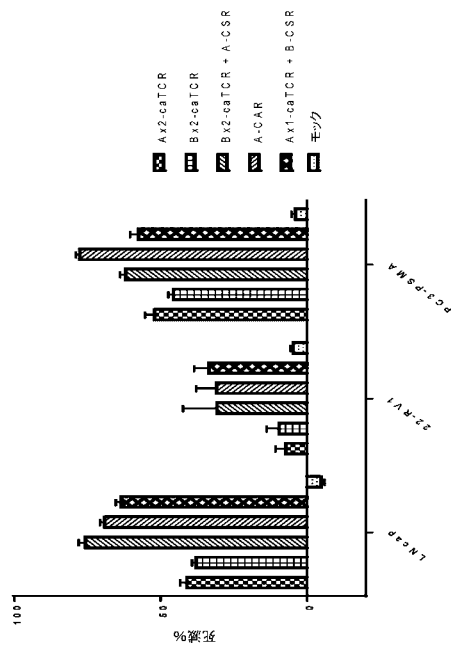
【図 4】



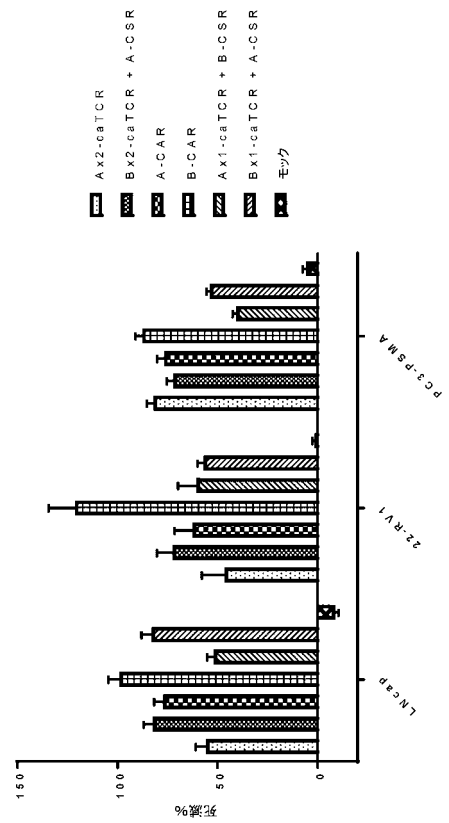
【圖 5】



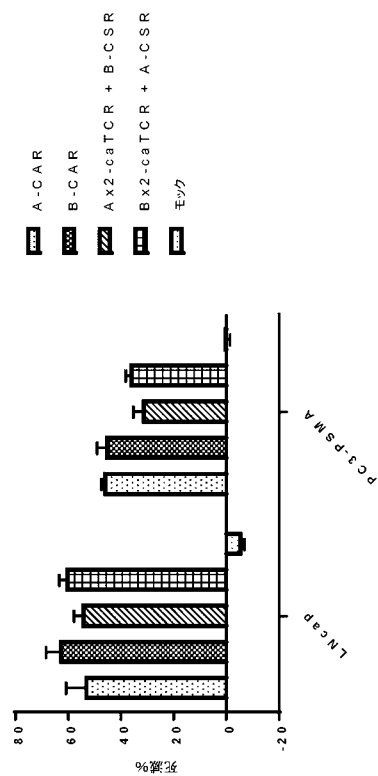
【 図 6 】



【圖 7】



【図 8】



【配列表】

2021526844000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/037534

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. ☒ forming part of the international application as filed:
☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NOs: 1-10, 16-21, 39-42, and 44 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2019/037534

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.: 7, 9-50
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:

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.:

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/US2019/037534

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 39/395; C07K 16/28; C07K 16/30; C07K 16/32 (2019.01)

CPC - A61K 39/39541; A61K 39/3955; A61K 39/39558; C07K 16/3069; C07K 16/3076 (2019.08)

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

USPC - 530/387.1; 530/387.7; 530/388.2; 530/388.8; 530/388.85 (keyword delimited)

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.
X	WO 2010/037837 A2 (MICROMET AG et al) 08 April 2010 (08.04.2010) entire document	1
A	US 2008/0286284 A1 (MADDON et al) 20 November 2008 (20.11.2008) entire document	1-6, 8
A	WO 1999/047554 A1 (NORTHWEST BIOTHERAPEUTICS, INC. et al) 23 September 1999 (23.09.1999) entire document	1-6, 8
A	LIU et al. "Monoclonal Antibodies to the Extracellular Domain of Prostate-specific Membrane Antigen Also React with Tumor Vascular Endothelium," Cancer Research, 01 September 1997 (01.09.1997), Vol. 57, Iss. 17, Pgs. 3629-3634. entire document	1-6, 8
A	WO 1997/035616 A1 (PACIFIC NORTHWEST CANCER FOUNDATION) 02 October 1997 (02.10.1997) entire document	1-6, 8
P, A	WU et al. "A novel fully human antibody targeting extracellular domain of PSMA inhibits tumor growth in prostate cancer," Molecular Cancer Therapy, 02 May 2019 (02.05.2019), Vol. 18, Iss. 7, Pgs. 1289-1301, Abstract only. entire document	1-6, 8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 September 2019

Date of mailing of the international search report

18 SEP 2019

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Blaine R. Copenhaver

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 14/725 (2006.01)	C 0 7 K 14/725	4 C 0 8 5
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	4 C 0 8 7
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	4 H 0 4 5
C 1 2 N 5/0783 (2010.01)	C 1 2 N 5/0783	
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 N 15/63	Z
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	
C 1 2 Q 1/68 (2018.01)	C 1 2 Q 1/68	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	Z
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 35/76 (2015.01)	A 6 1 K 35/76	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	
G 0 1 N 33/573 (2006.01)	G 0 1 N 33/573	A
G 0 1 N 33/531 (2006.01)	G 0 1 N 33/531	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

- (72)発明者 ユン, ホンルオ
アメリカ合衆国 9 4 1 1 2 カリフォルニア, サンフランシスコ, ファクソン アヴェニュー 4 8 1
- (72)発明者 ゲ, シアオメイ
アメリカ合衆国 9 4 4 0 4 カリフォルニア, フォスター シティ, ロス レーン 2 6 0
- (72)発明者 ヤン, ジュアン
アメリカ合衆国 9 4 7 0 6 カリフォルニア, オールバニー, ピアス ストリート 5 5 5, アpartment 5 0 5
- (72)発明者 リュー, リャンシン
アメリカ合衆国 9 4 1 2 2 カリフォルニア, サンフランシスコ, 2 0 番 アヴェニュー 1 3 8 5
- (72)発明者 ジャン, ペンボー
アメリカ合衆国 9 4 5 5 5 カリフォルニア, フリーモント, ロウシロン アヴェニュー 4 6 5 9
- (72)発明者 シュ, イーシアン
アメリカ合衆国 7 7 5 8 4 テキサス, パーランド, ランジング サークル 2 5 0 6

(72)発明者 リー, シャン
アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 カリフォルニア, エメリービル, シェルマウンド ストリート
6 4 0 1, アpartment 8 1 2 2

(72)発明者 ホラン, ルーカス
アメリカ合衆国 9 4 6 0 8 カリフォルニア, エメリービル, パウエル ストリート 2 3
4 0, 1 5 6 番

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA19 QQ02 QQ08 QQ61 QR32 QR35 QR48 QS05 QS10
QS33 QS38
4B064 AG20 AG27 CA10 CA19 DA01 DA13
4B065 AA94X AA94Y AB01 AC14 CA24 CA25 CA44 CA46
4C076 AA95 CC27 EE41 EE59
4C084 AA13 AA17 MA05 NA13 NA14 ZA811 ZA812 ZB211 ZB212 ZB261
ZB262
4C085 AA14 AA16 BB11 BB41 BB43 CC23 DD62 KA04 KA26 LL18
4C087 AA01 AA02 BB37 BB65 BC83 NA14 ZA81 ZB21 ZB26
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 EA20 FA74