(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7440509号
(P7440509)

(45)発行日　令和6年2月28日(2024.2.28)

(24)登録日　令和6年2月19日(2024.2.19)

(51)国際特許分類		FI		
C07K 16/30	*(2006.01)*	C07K	16/30	ZNA
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/10	
C12N 15/13	*(2006.01)*	C12N	15/13	
C12N 15/63	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08	

請求項の数　25　（全146頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-525787(P2021-525787)
(86)(22)出願日　令和1年11月7日(2019.11.7)
(65)公表番号　特表2022-507294(P2022-507294A)
(43)公表日　令和4年1月18日(2022.1.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/060276
(87)国際公開番号　WO2020/097336
(87)国際公開日　令和2年5月14日(2020.5.14)
審査請求日　令和4年10月19日(2022.10.19)
(31)優先権主張番号　62/758,442
(32)優先日　平成30年11月9日(2018.11.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　507316413
ベス イスラエル デアコネス メディカル センター
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボストン ブルックリン アベニュー ３３０
(73)特許権者　510069249
ファイザー・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国１００１７ニューヨーク州ニューヨーク市イースト・フォーティセカンド・ストリート２３５
(73)特許権者　508057896
コーネル・ユニバーシティー
ＣＯＲＮＥＬＬ ＵＮＩＶＥＲＳＩＴＹ
アメリカ合衆国１４８５０ニューヨーク州イサカ、パイン・トゥリー・ロード３

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＣＤＣＰ１－標的化療法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

ＣＵＢドメイン含有タンパク質－１（ＣＤＣＰ１）に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、

（ｉ）

（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲＨ１）、

（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲＨ２）、及び

（ｃ）配列番号２７、配列番号４、配列番号４０、及び配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲＨ３）を含む、重鎖可変領域（ＶＨ）と、

（ｉｉ）

（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域１（ＣＤＲＬ１）、

（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域２（ＣＤＲＬ２）、及び

（ｃ）配列番号３１及び配列番号１４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域３（ＣＤＲＬ３）を含む、軽鎖可変領域（ＶＬ）と、

を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項２】

ＣＤＣＰ１に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、

（ｉ）

（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、

（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び
（ｃ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、
（ｉｉ）
（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、
（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び
（ｃ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項３】

配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３０または３６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む、請求項１または２に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項４】

配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、請求項１～３のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項５】

配列番号２９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項１～４のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項６】

配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項１～５のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項７】

配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４または３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％（例えば、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％）同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項１～４のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項８】

ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

【請求項９】

請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする、単離された核酸。

【請求項１０】

ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片のＶＨ、ＶＬ、または両方をコードする単離された核酸であって、前記核酸が、配列番号７９の核酸配列、配列番号

８３の核酸配列、または両方を含む、前記単離された核酸。
【請求項１１】
ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の重鎖、軽鎖、または両方をコードする単離された核酸であって、前記核酸が、配列番号８５の核酸配列、配列番号８６の核酸配列、または両方を含む、前記単離された核酸。
【請求項１２】
請求項９～１１のいずれか１項に記載の核酸を含む、ベクター。
【請求項１３】
請求項１２に記載のベクターを含む、宿主細胞。
【請求項１４】
前記宿主細胞が、ＣＨＯ細胞、ＣＯＳ細胞、ＨＥＫ－２９３細胞、ＮＳ０細胞、ＰＥＲ．Ｃ６（登録商標）細胞、またはＳｐ２．０細胞からなる群から選択される哺乳動物細胞である、請求項１３に記載の宿主細胞。
【請求項１５】
抗体、またはその抗原結合断片が宿主細胞によって発現される条件下で請求項１３または１４に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記抗体またはその抗原結合断片を作製する、方法。
【請求項１６】
前記抗体またはその抗原結合断片を単離することをさらに含む、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記抗体が、薬物部分にコンジュゲートされる、請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。
【請求項１８】
前記抗体が、リンカーを介して前記薬物部分にコンジュゲートされる、請求項１７に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【請求項１９】
リンカーが、バリン－シトルリン（ｖａｌ－ｃｉｔ）、６－マレイミドカプロイル（ｍｃ）、メトキシ－ポリエチレングリコールマレイミド６（ＭａｌＰｅｇ６）、ｐ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）、ジメチルアミノエタノール（ＤＭＡＥ）、マレイミドプロパノイル（ＭＰ）、加水分解ペグ－マレイミド、アラニン－フェニルアラニン（ａｌａ－ｐｈｅ）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ－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）、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ）、及び６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ）からなる群から選択される、請求項１８に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【請求項２０】
前記薬物部分が、細胞傷害性剤、免疫調節剤、イメージング剤、化学療法剤、または治療用タンパク質である、請求項１７～１９のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【請求項２１】
ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体を含む抗体薬物コンジュゲートであって、前記抗体が、少なくとも１つの操作されたシステイン、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、前記抗体が、前記少なくとも１つの操作されたシステインを介してリンカー－薬物部分ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１にコンジュゲートされる、前記抗体薬物コンジュゲート。
【請求項２２】

前記抗体が、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って抗体重鎖定常ドメインの２９０位に、かつＫａｂａｔの番号付けに従って軽鎖定常ドメインの１８３位に位置する２つの操作されたシステインを含む、請求項２１に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【請求項２３】

請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗体結合断片、または請求項１７～２２のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物。

【請求項２４】

請求項１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗体結合断片、または請求項１７～２２のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲートを含む、がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患の治療に使用するための薬学的組成物であって、

前記治療は、前記薬学的組成物を、それを必要とする対象に治療有効量投与することを含む、薬学的組成物。

【請求項２５】

請求項１７～２２のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲート、または請求項２３に記載の薬学的組成物を含む、それを必要とする対象における細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、または関連する疾患もしくは障害の治療に使用するための薬学的組成物であって、

前記治療は、前記薬学的組成物を、それを必要とする対象に治療有効量投与することを含む、薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本開示は、ＣＵＢドメイン含有タンパク質１（ＣＤＣＰ１）標的化療法のための材料及び方法に関する。

【０００２】

関連出願の相互参照

本出願は、２０１８年１１月９日に出願された米国仮出願第６２／７５８，４４２号に対する優先権を主張し、その内容全体は、参照により本明細書に組み込まれる。

【０００３】

共同研究声明の当事者

現在請求されている発明は、部分的には、以下に列挙された当事者によって、またはその代理として、共同研究合意に対してなされた。共同研究合意は、部分的には、共同研究合意の範囲内で行われた活動の結果として、請求された発明が行われ、請求された発明が行われた日またはそれ以前に有効であった。共同研究合意に対する当事者は、ＢＥＴＨ ＩＳＲＡＥＬ ＤＥＡＣＯＮＥＳＳ ＭＥＤＩＣＡＬ ＣＥＮＴＥＲ及びＰＦＩＺＥＲ ＩＮＣ．である。

【０００４】

電子的に提出されたテキストファイルの記載

本出願は、ＥＦＳ－Ｗｅｂを介してＡＳＣＩＩ形式で提出されている配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。２０１９年１０月３０日頃に作成された該ＡＳＣＩＩコピーは、「ＢＩＤ－００９ＰＣ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ」と命名され、約１２６ＫＢのサイズである。

【背景技術】

【０００５】

多くの化学療法剤が開発されてきたが、それらはしばしば容認できない毒性及び／または非がん組織を超えるがん細胞に対する特異性の欠如を実証する。化学療法剤の非特異的な細胞傷害性効果を回避するために、標的化抗体療法は、臨床的可能性を実証するいくつかのモノクローナル抗体でのがん治療に革命をもたらした。腫瘍特異的抗原に対する抗体がしばしば治療活性を欠くため、それらは、化学療法の有効性を抗体の標的化と組み合わ

せるために細胞傷害性剤にコンジュゲートされている。原則として、抗体結合による特定の腫瘍組織への細胞傷害性剤の選択的送達は、伝統的な小分子化学療法剤の全身傷害性を低減するはずである。成功した抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）アプローチが非標的細胞に顕著に結合することなく標的細胞に傷害性ペイロードを送達するために標的抗原にうまく結合しなくてはならないため、ＡＤＣが、標的細胞に傷害性ペイロードを送達することを可能にし、それによって内在化され、次いで細胞内の適切なコンパートメントの内側に一度ペイロードを放出することができることは、重大である。

【発明の概要】

【０００６】

本開示は、とりわけ、前述の必要性を満たす。ＣＤＣＰ１は、多様ながん、特にＣＤＣＰ１発現に依存しているものを有する患者における治療的介入のための標的である。興味深いことに、本発明者らは、とりわけ、ＣＤＣＰ１が制御された方式において細胞によって内在化され、したがって、この特性が抗がん療法の開発のために活用され得ることを発見している。さらに、本発明者らは、ＣＤＣＰ１が、ＬＫＢ１、ＫＲＡＳ、及びＡＫＴを限定なく含む、がんに関連する様々なマーカーによって影響を受けるか、またはそれらに影響を与え、細胞上で発現したＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体を含むがこれらに限定されないＣＤＣＰ１薬剤を使用する新しい治療モダリティを提供することを発見している。さらに、本発明者らは、Ｓｒｃ、ＰＰＰ４Ｒ２及びＰＡＲＧ１を含むがんマーカーとのＣＤＣＰ１の相互作用を発見しており、かかる相互作用は、活性化状態依存的であり、特異的がん治療を可能にする。

【０００７】

一態様では、本開示は、（ａ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量について腫瘍試料を評価することと、（ｂ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量が参照試料よりも多い場合、がん患者にＣＵＢドメイン含有タンパク質１（ＣＤＣＰ１）に結合する薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供する。

【０００８】

いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、凍結された腫瘍組織生検、培養された細胞、循環腫瘍細胞、及びホルマリン固定されパラフィン包埋された腫瘍組織生検から選択される生検である。

【０００９】

いくつかの実施形態では、変異体ＫＲＡＳは、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｃ、及びＧ１３Ｄ変異体から選択される。いくつかの実施形態では、評価することは、腫瘍試料、もしくは変異を含むことが疑われるその断片からのＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳ核酸を増幅すること、ならびに該増幅された核酸を配列決定することによって行われる。いくつかの実施形態では、評価することは、ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳを指向する抗体またはその形式を腫瘍試料に接触させること、ならびに結合する抗体またはその形式を定量化することによって行われる。

【００１０】

一態様では、本開示は、患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することを含む、肺癌の治療を必要とする患者において肺癌を治療する方法を提供し、肺癌はＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤はＣＤＣＰ１活性化剤である。

【００１１】

いくつかの実施形態では、肺癌は、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である。いくつかの実施形態では、方法は、ＡＫＴ活性化について肺癌の試料を評価することをさらに含む。

【００１２】

一態様では、本開示は、患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することを含む、前立腺癌の治療を必要とする患者において前立腺癌を治療する方法を提供し、前立腺癌はＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤はＣＤＣＰ１活性化剤である。いくつかの実施形態では、方法は、ＡＫＴ活性化について前立腺癌の試料を評価するこ

とをさらに含む。
【００１３】
いくつかの実施形態では、方法は、ＡＫＴ阻害剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、患者は、ＡＫＴ阻害剤での治療を受けている。いくつかの実施形態では、ＡＫＴ阻害剤は、アフレセルチブ、ＡＲＱ　７５１、ＡＲＱ　０９２、ＡＺＤ５３６３、ＢＡＹ１１２５９７６、ＧＳＫ２１４１７９５、ＧＳＫ６９０６９３、イパタセルチブ、ＬＹ２７８０３０１、ＭＫ２２０６、及びペリフォシンから選択される。
【００１４】
一態様では、本開示は、（ａ）標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合し、それが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される薬剤を選択することと（ｂ）がん患者に薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供する。
【００１５】
一態様では、本開示は、（ａ）標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合し、それが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される薬剤を選択することと、（ｂ）がん患者に薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供し、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤は、ＣＤＣＰ１を活性化する抗体であり、セリン／トレオニン－タンパク質ホスファターゼ４制御性サブユニット２（ＰＰＰ４Ｒ２）調節剤にコンジュゲートされる。
【００１６】
一態様では、本開示は、（ａ）ＣＤＣＰ１に結合する薬剤がＣＤＣＰ１を活性化しない抗体である、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することと、（ｂ）ポリ（ＡＤＰ－リボース）グリコヒドロラーゼ（ＰＡＲＧ）を調節する薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、ＰＡＲＧを調節する薬剤は、ＰＡＲＧ阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＰＡＲＧ阻害剤は、オラパリブ、タラゾパリブ、ベリパリブ、ルカパリブ、イニパリブ、Ｅ７０１６、ＣＥＰ９７２２、ＢＧＢ－２９０及び３－アミノベンズアミドから選択される。
【００１７】
いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤は、ＣＤＣＰ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。
【００１８】
いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ、ダイアボディ、線状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、及び抗体の抗原結合部分を含む融合タンパク質のうちの１つ以上から選択される。
【００１９】
いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、細胞傷害性剤または細胞増殖抑制剤とコンジュゲートする。いくつかの実施形態では、方法は、細胞傷害性剤または細胞増殖抑制剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、投与は、連続的または同時的である。
【００２０】
いくつかの実施形態では、細胞傷害性剤は、パクリタキセル（タキソール）、リシン、シュードモナス外毒素、ゲムシタビン、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン（ｄｉｈｙｄｒｏｘｙ　ａｎｔｈｒａｃｉｎ　ｄｉｏｎｅ）、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、及びそれらの混合物から選択される。

【００２１】
いくつかの実施形態では、細胞傷害性剤は、メトトレキサート、アミノプテリン、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン；メクロレタミン、チオエパ（ｔｈｉｏｅｐａ）クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）、マイトマイシンＣ、ロムスチン（ＣＣＮＵ）、１－メチルニトロソウレア、シクロホスファミド、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、シス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン及びカルボプラチン（パラプラチン）などのアルキル化剤；ダウノルビシン、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン、及びビサントレンを含むアントラサイクリン；ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ブレオマイシン、カリケアマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（ＡＭＣ）を含む抗生物質；ビンカアルカロイド、ビンクリスチン、ビンブラスチンなどの抗有糸分裂剤、ならびにそれらの混合物から選択される抗腫瘍剤である。いくつかの実施形態では、方法は、抗腫瘍剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、投与は、連続的または同時的である。いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、化学療法剤である。

【００２２】
いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、チェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ４、ＧＩＴＲ、ガレクチン－９、ＨＶＥＭ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ２４４、ＣＤ１６０、ＴＩＧＩＴ、ＳＩＲＰα、ＩＣＯＳ、ＣＤ１７２ａ、及びＴＭＩＧＤ２のうちの１つを標的とする薬剤である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１を標的とする薬剤は、任意選択で、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、及びピジリズマブから選択される、ＰＤ－１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、標的とし、薬剤がＰＤ－Ｌ１を標的とする薬剤は、任意選択で、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、及びＢＭＳ－９３６５５９から選択される、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、ＣＴＬＡ－４を標的とする薬剤は、任意選択で、イピリムマブ及びトレメリムマブから選択される、ＣＴＬＡ－４に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。

【００２３】
いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、低酸素誘導因子－２（ＨＩＦ－２）阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＨＩＦ－２阻害剤は、ＰＴ２３８５及びＰＴ２９７７から選択される。いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、任意選択で、ＫＸ２－３９１、ボスチニブ、サラカチニブ、及びダサチニブから選択されるＳｒｃ阻害剤でない。
いくつかの実施形態では、がんは、低酸素によって特徴付けられる腫瘍である。
いくつかの実施形態では、がんは、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、大腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ　ｃａｎｃｅｒ）（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓または腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、膵癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ　ｃａｎｃｅｒ）、精巣癌、甲状腺癌、子宮もしくは子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）を含むリンパ腫、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／濾胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非分割細胞ＮＨＬ、巨大腫瘤病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、及びワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、ヘアリーセル白血病、慢性骨髄芽球性白血病、同様に他の癌腫及び肉腫、ならびに移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、同様に母斑症、浮腫に関連する異常な血管増殖（例えば、脳

腫瘍に関連するもの）、ならびにメグズ症候群のうちの１つ以上から選択される。
【００２４】
いくつかの実施形態では、がんは、頭頸部癌である。
【００２５】
一態様では、本開示は、腫瘍の試料において変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の存在、不在、または量を決定することを含む、該腫瘍がＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答するかどうかを決定する方法を提供し、それによって変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの存在、あるいは参照試料に対する変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の増加した量は、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答する可能性を示している。
【００２６】
いくつかの態様では、本発明は、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片、かかる抗体を含む抗体薬物コンジュゲート、同様にそのための使用及び関連する方法を提供する。当業者は、ほんの日常的な実験を使用して、本明細書に記載される本発明の具体的な実施形態に対する多くの等価物を認識するか、または確認することができるであろう。かかる等価物は、以下の実施形態（Ｅ）を包含するように意図される。
【００２７】
Ｅ１．ＣＤＣＰ１に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、
（ｉ）
（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲＨ１）、
（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲＨ２）、及び
（ｃ）配列番号４、配列番号２７、配列番号４０、及び配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸破裂を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲＨ３）を含む、重鎖可変領域（ＶＨ）と、
（ｉｉ）
（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域１（ＣＤＲＬ１）、
（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域２（ＣＤＲＬ２）、及び
（ｃ）配列番号１４及び配列番号３１からなる群から選択されるアミノ酸破裂を含むＶＬ相補性決定領域３（ＣＤＲＬ３）を含む、軽鎖可変領域（ＶＬ）と、を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００２８】
Ｅ２．ＣＤＣＰ１に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、
（ｉ）
（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、
（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び
（ｃ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、
（ｉｉ）
（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、
（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び
（ｃ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００２９】
Ｅ３．配列番号１、配列番号２６、配列番号３９または配列番号４４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＨを含む、Ｅ１またはＥ２に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００３０】

Ｅ４．配列番号１１、配列番号３０、配列番号３６または配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ３のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３１】

Ｅ５．配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３０または３６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ４のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３２】

Ｅ６．配列番号３３のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ５のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３３】

Ｅ７．配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ５のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３４】

Ｅ８．配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ５のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３５】

Ｅ９．配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ４のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３６】

Ｅ１０．配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ４のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３７】

Ｅ１１．配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ１～Ｅ４のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００３８】

Ｅ１２．Ｆｃドメインを含む、Ｅ１～Ｅ１１のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００３９】

Ｅ１３．Ｆｃドメインが、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、またはＩｇＧのＦｃドメインである、Ｅ１２に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４０】

Ｅ１４．Ｆｃドメインが、ＩｇＧ　Ｆｃドメインである、Ｅ１３に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４１】

Ｅ１５．ＩｇＧが、IgG_1、IgG_2、IgG_3、またはIgG_4からなる群から選択される、Ｅ１４に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００４２】
Ｅ１６．ＩｇＧが、ＩｇＧ$_1$である、Ｅ１５に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００４３】
Ｅ１７．配列番号１０、２９、４１または４６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１６のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００４４】
Ｅ１８．配列番号１７、３２、または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００４５】
Ｅ１９．配列番号２９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００４６】
Ｅ２０．配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１９のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００４７】
Ｅ２１．配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１９のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００４８】
Ｅ２２．配列番号４１のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００４９】
Ｅ２３．配列番号４６のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００５０】
Ｅ２４．配列番号１０のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ１～Ｅ１８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００５１】
Ｅ２５．ＣＤＣＰ１上のエピトープに結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、エピトープが、配列番号９０の番号付けに従って、Ｔｈｒ１２４、Ｔｈｒ１６０、Ｓｅｒ１６２、Ａｌａ１９５、Ｌｅｕ１９６、及びＨｉｓ１９７からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基を含む、単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００５２】
Ｅ２６．エピトープが、配列番号９０の番号付けに従って、Ｌｙｓ４５、Ｌｅｕ４６、

Ｇｌｙ４７、Ｔｈｒ４８、Ｐｒｏ４９、Ｔｈｒ５０、Ａｌａ５３、Ｐｒｏ５５、Ｇｌｕ９２、Ａｒｇ１７３、及びＧｌｕ２４２からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基をさらに含む、Ｅ２５に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５３】

Ｅ２７．エピトープが、配列番号９０の番号付けに従って、Ｔｈｒ５６、Ｔｙｒ５７、Ｔｈｒ６６、Ｍｅｔ６７、Ｉｌｅ１２６、Ｖａｌ１７１、Ａｒｇ１７３からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基をさらに含む、Ｅ２４またはＥ２５に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５４】

Ｅ２８．エピトープが、配列番号９０の番号付けに従って、Ａｓｎ１２２に結合したグリカンをさらに含む、Ｅ２５～Ｅ２７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５５】

Ｅ２９．抗体またはその抗原結合断片が、

（ｉ）

（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、

（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び

（ｃ）配列番号４、配列番号２７、配列番号４０、及び配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸破裂を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、

（ｉｉ）

（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、

（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び

（ｃ）配列番号１４及び配列番号３１からなる群から選択されるアミノ酸破裂を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む、Ｅ２５～Ｅ２８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５６】

Ｅ３０．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３０または３６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ２５～Ｅ２９のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５７】

Ｅ３１．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、Ｅ２５～Ｅ３０のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５８】

Ｅ３２．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号２９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸を含む軽鎖を含む、Ｅ２５～Ｅ３１のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００５９】

Ｅ３３．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ２５～Ｅ３２のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６０】

Ｅ３４．Ｅ１～Ｅ３３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片とＣＤＣＰ１への結合について競合する、単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６１】

Ｅ３５．ＣＰ１３Ｅ１０、ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１、抗体２３、抗体２４及び抗体７６からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片とＣＤＣＰ１への結合について競合する、単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６２】

Ｅ３６．抗体またはその抗原結合断片が、Ｅ１～Ｅ３５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片と実質的に同じエピトープに結合する、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６３】

Ｅ３７．抗体またはその抗原結合断片が、ＣＰ１３Ｅ１０、ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１、抗体２３、抗体２４及び抗体７６からなる群から選択される抗体またはその抗原結合断片と実質的に同じエピトープに結合する、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６４】

Ｅ３８．抗体またはその抗原結合断片が、約３５０ｎＭ、約３２５ｎＭ、約３２３．１０ｎＭ、約３００ｎＭ、約２８６．４４ｎＭ、約２７５ｎＭ、約２５０ｎＭ、約２３２．１３ｎＭ、約２２５ｎＭ、約２１９．１３ｎＭ、約２００ｎＭ、約１９５．５４ｎＭ、約１７５ｎＭ、約１５８ｎＭ、約１５０ｎＭ、約１２５ｎＭ、または約１００ｎＭ以下の結合親和性（K_D）値でＣＤＣＰ１に結合する、先行実施形態のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６５】

Ｅ３９．抗体またはその抗原結合断片が、約９５ｎＭ、約９０ｎＭ、約８０ｎＭ、約７９．８９ｎＭ、約７５ｎＭ、約７０ｎＭ、約６９．５０ｎＭ、約６５ｎＭ、約６３．４４ｎＭ、約６０ｎＭ、約５５ｎＭ、約５２．８８ｎＭ、約５０ｎＭ、約４５ｎＭ、約４４．５０ｎＭ、約４１．９９ｎＭ、約４０ｎＭ、約３５ｎＭ、約３０ｎＭ、約２５ｎＭ、約２０ｎＭ、約１０ｎＭ、約５ｎＭ、または約１ｎＭ以下のK_D値でＣＤＣＰ１に結合する、先行実施形態のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６６】

Ｅ４０．抗体またはその抗原結合断片が、約５ｎＭ、約４．５ｎＭ、約４ｎＭ、約３．５ｎＭ、約３．１２ｎＭ、約３ｎＭ、約２．９０ｎＭ、約２．５ｎＭ、約２ｎＭ、約１．

５ｎＭ、約１ｎＭ、約９００ｐＭ、約８００ｐＭ、約７００ｐＭ、約６００ｐＭ、約５００ｐＭ、約４００ｐＭ、約３００ｐＭ、約２５０ｐＭ、約２００ｐＭ、約１５０ｐＭ、約１００ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐＭ、約３０ｐＭ、約２５ｐＭ、約２０ｐＭ、約１５ｐＭ、約１０ｐＭ、約５ｐＭ、または約１ｐＭ以下のK_D値でＣＤＣＰ１に結合する、先行実施形態のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６７】

Ｅ４１．該K_D値が、任意選択でＢｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００機器を使用する、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって測定される、Ｅ３８～Ｅ４０のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

【００６８】

Ｅ４２．該K_D値が、任意選択でＦｏｒｔｅＢｉｏ　Ｏｃｔｅｔ機器を使用する、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって測定される、Ｅ３８～Ｅ４０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００６９】

Ｅ４３．該ＣＤＣＰ１が、ヒトＣＤＣＰ１、カニクイザルＣＤＣＰ１またはマウスＣＤＣＰ１である、Ｅ３８～Ｅ４２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７０】

Ｅ４４．該ＣＤＣＰ１がヒトＣＤＣＰ１であり、K_D値が、約４０ｎＭ、約４５ｎＭまたは約５０ｎＭである、Ｅ３８～Ｅ４２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７１】

Ｅ４５．該ＣＤＣＰ１がカニクイザルＣＤＣＰ１であり、K_D値が、約６２ｎＭ、約６４ｎＭ、約６６ｎＭ、約６８ｎＭ、または約７０ｎＭである、Ｅ３８～Ｅ４２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７２】

Ｅ４６．抗体またはその抗原結合断片が、哺乳動物細胞上のＣＤＣＰ１に結合すると内在化する、先行実施形態のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７３】

Ｅ４７．抗体またはその抗原結合断片が、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って２９０位で操作されたシステイン残基を含む抗体重鎖定常ドメインを含む、先行実施形態のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７４】

Ｅ４８．定常ドメインが、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、またはＩｇＭ重鎖ドメインを含む、Ｅ４７に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７５】

Ｅ４９．定常ドメインが、IgG_1、IgG_2、IgG_3、またはIgG_4重鎖ドメインを含む、Ｅ４８に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７６】

Ｅ５０．定常ドメインが、IgA_1またはIgA_2重鎖ドメインを含む、Ｅ４８に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７７】

Ｅ５１．定常ドメインが、ヒト抗体定常ドメインである、Ｅ４７～Ｅ５０のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７８】

Ｅ５２．定常ドメインが、ＩｇＧ１重鎖CH_2ドメイン及びＩｇＧ１重鎖CH_3ドメインを含む、Ｅ４７～Ｅ５１のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００７９】

Ｅ５３．抗体またはその抗原結合断片が、Ｋａｂａｔの番号付けに従って１８３位で操作されたシステイン残基を含む抗体軽鎖定常ドメインをさらに含む、Ｅ４７～Ｅ５２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００８０】
Ｅ５４．軽鎖定常ドメインが、カッパ軽鎖定常ドメイン（ＣＬκ）を含む、Ｅ５３に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８１】
Ｅ５５．軽鎖定常ドメインが、ラムダ軽鎖定常ドメイン（ＣＬλ）を含む、Ｅ５３に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００８２】
Ｅ５６．配列番号１９、３３、または４２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖を含む、Ｅ４６～Ｅ５４のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８３】
Ｅ５７．配列番号２１、３４、または３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ４７～Ｅ５６のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８４】
Ｅ５８．配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４または３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ４７～Ｅ５７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８５】
Ｅ５９．配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ４７～Ｅ５８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８６】
Ｅ６０．配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ４７～Ｅ５８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８７】
Ｅ６１．配列番号４２のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ４７～Ｅ５７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８８】
Ｅ６２．配列番号１９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号２１のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ４７～Ｅ５７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００８９】
Ｅ６３．抗体またはその抗原結合断片が、該抗体のＦｃ領域における特定の部位で操作されたアシルドナーグルタミン含有タグ配列を含む、Ｅ１～Ｅ４６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９０】
Ｅ６４．グルタミン含有タグ配列が、ＬＬＱＧ（配列番号９１）を含む、Ｅ６３に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【００９１】
Ｅ６５．グルタミン含有タグが、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従ってアミノ酸残基番号１３５の後かつアミノ酸残基番号１３６の前に操作される、Ｅ６３またはＥ６４に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９２】
Ｅ６６．抗体のＦｃドメインまたはその抗原結合断片が、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従ってＮ２９７Ａ及びＫ２２２Ｒからなる群から選択される１つ以上のアミノ酸置換を含む、Ｅ６３～Ｅ６５のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【００９３】
Ｅ６７．配列番号２５、３５、または４３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６６のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００９４】
Ｅ６８．配列番号１７、３２、または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００９５】
Ｅ６９．配列番号３５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００９６】
Ｅ７０．配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６９のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００９７】
Ｅ７１．配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６９のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００９８】
Ｅ７２．配列番号４３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【００９９】
Ｅ７３．配列番号２５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、Ｅ６３～Ｅ６８のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。
【０１００】
Ｅ７４．Ｅ１～Ｅ７３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする１つ以上の核酸配列を含む、単離された核酸分子。
【０１０１】
Ｅ７５．配列番号７５のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。

【０１０２】
Ｅ７６．配列番号７６のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０３】
Ｅ７７．配列番号７７のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０４】
Ｅ７８．配列番号７８のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０５】
Ｅ７９．配列番号７９のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０６】
Ｅ８０．配列番号８０のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０７】
Ｅ８１．配列番号８１のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０８】
Ｅ８２．配列番号８２のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１０９】
Ｅ８３．配列番号８３のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１１０】
Ｅ８４．配列番号８４のヌクレオチド配列を含む、単離された核酸。
【０１１１】
Ｅ８５．Ｅ７４～Ｅ８４のいずれか１つに記載の核酸を含む、ベクター。
【０１１２】
Ｅ８６．Ｅ７４～８４のいずれか１つに記載の少なくとも１つの核酸を含む、宿主細胞。
【０１１３】
Ｅ８７．配列番号８５の核酸及び配列番号８６のヌクレオチド配列を含む核酸を含む、宿主細胞。
【０１１４】
Ｅ８８．該細胞が、哺乳動物細胞である、Ｅ８６またはＥ８７に記載の宿主細胞。
【０１１５】
Ｅ８９．該宿主細胞が、ＣＨＯ細胞、ＨＥＫ－２９３細胞、またはＳｐ２．０細胞である、Ｅ８８に記載の宿主細胞。
【０１１６】
Ｅ９０．該抗体またはその抗原結合断片が該宿主細胞によって発現される条件下で、Ｅ８６～８９に記載の宿主細胞を培養することを含む、抗体またはその抗原結合断片を作製する方法。
【０１１７】
Ｅ９１．抗体が薬物部分にコンジュゲートされる、Ｅ１～Ｅ４６のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。
【０１１８】
Ｅ９２．抗体が、リンカーを介して薬物部分にコンジュゲートされる、Ｅ８０に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１１９】
Ｅ９３．抗体が、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされる、Ｅ９１またはＥ９２に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１２０】
Ｅ９４．抗体またはその抗原結合断片が、Ｅ４７～６２のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片を含む、Ｅ９３に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１２１】
Ｅ９５．リンカーが、バリン－シトルリン（ｖａｌ－ｃｉｔ）、６－マレイミドカプロイル（ｍｃ）、メトキシ－ポリエチレングリコールマレイミド６（ＭａｌＰｅｇ６）、ｐ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）、ジメチルアミノエタノール（ＤＭＡＥ）、

マレイミドプロパノイル（ＭＰ）、加水分解ペグ－マレイミド、アラニン－フェニルアラニン（ａｌａ－ｐｈｅ）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ－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）、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ）、及び６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ）からなる群から選択される、Ｅ９１～Ｅ９４のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１２２】

Ｅ９６．抗体が、抗体上に操作されたアシルドナーグルタミン含有タグ配列を使用してリンカーにコンジュゲートされる、Ｅ９１またはＥ９２に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１２３】

Ｅ９７．タグ配列が、ＬＬＱＧ（配列番号９１）である、Ｅ９６に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１２４】

Ｅ９８．抗体またはその抗原結合断片が、Ｅ６３～７３のいずれか１つに記載の抗体またはその抗原結合断片を含む、Ｅ９６またはＥ９７に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１２５】

Ｅ９９．リンカーが、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ（アセチル－リジン－グリシン）、アミノカプロン酸、Ａｃ－Ｌｙｓ－ｐ－Ａｌａ（アセチル－リジン－ｐ－アラニン）、アミノ－ＰＥＧ２（ポリエチレングリコール）－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ３－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２（またはアミノＰＥＧ６－プロピオニル）、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ（アセチル－リジン－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル）、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、アミノカプロイル－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｒ，５Ｒ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｓ，５Ｓ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、プトレシン、及びＡｃ－Ｌｙｓ－プトレシンからなる群から選択される、Ｅ９６～Ｅ９８のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１２６】

Ｅ１００．薬物部分が、細胞傷害性剤、免疫調節剤、イメージング剤、化学療法剤、または治療用タンパク質である、Ｅ９１～Ｅ９９のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１２７】

Ｅ１０１．アントラサイクリン、アウリスタチン、ＣＣ－１０６５、ドラスタチン、デュオカルマイシン、エンジイン、ゲルダナマイシン、メイタンシン、ピューロマイシン、タキサン、ビンカアルカロイド、ＳＮ－３８、ツブリシン、ヘミアステリン、及びそれらの立体異性体、アイソスター、類似体または誘導体からなる群から選択される、Ｅ１００に記載の抗体薬物コンジュゲート。

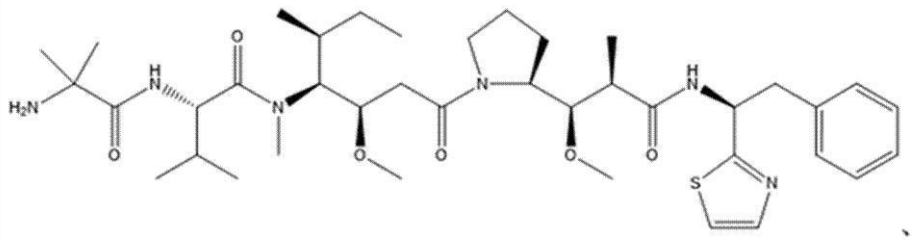
【０１２８】

Ｅ１０２．細胞傷害性剤が、以下からなる群から選択されるアウリスタチンである、Ｅ１０１に記載の抗体薬物コンジュゲート：
ＭＭＡＤ（モノメチルアウリスタチンＤ）、

【０１２９】

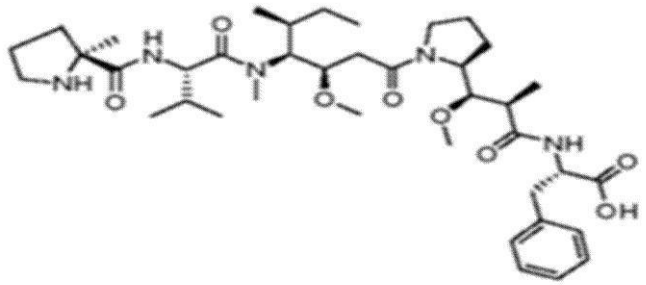
【化１】

０１０１



、及び

０１３１



。

【０１３０】

Ｅ１０３．リンカーが、バリン－シトルリン（ｖａｌ－ｃｉｔ）、６－マレイミドカプロイル（ｍｃ）、メトキシ－ポリエチレングリコールマレイミド６（ＭａｌＰｅｇ６）、ｐ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）、ジメチルアミノエタノール（ＤＭＡＥ）、マレイミドプロパノイル（ＭＰ）、加水分解ペグ－マレイミド、アラニン－フェニルアラニン（ａｌａ－ｐｈｅ）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ－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）、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ）、及び６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ）からなる群から選択され、薬物部分がアウリスタチンである、Ｅ９１～Ｅ１０２のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１３１】

Ｅ１０４．リンカーがｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣであり、薬物部分が０１０１または０１３１である、Ｅ１０３に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１３２】

Ｅ１０５．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分がｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１である、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。

【０１３３】

Ｅ１０６．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分がｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１である、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。

【０１３４】

Ｅ１０７．リンカーが、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ（アセチル－リジン－グリシン）、アミノカプロン酸、Ａｃ－Ｌｙｓ－ｐ－Ａｌａ（アセチル－リジン－ｐ－アラニン）、アミノ－ＰＥＧ２（ポリエチレングリコール）－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ３－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２（またはアミノＰＥＧ６－プロピオニル）、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ（アセチル－リジン－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル）、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、アミノカプロイル－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｒ，５Ｒ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｓ，５Ｓ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、プトレシン、及びＡｃ－Ｌｙｓ－プトレシンからなる群から選択され、薬物部分がアウリスタチンである、Ｅ９１～Ｅ１０２のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１３５】

Ｅ１０８．リンカーがアミノＰＥＧ６－プロピオニル（すなわち、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２またはＡＭＰｅｇ６Ｃ２）であり、薬物部分が０１０１または０１３１である、Ｅ１０７に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１３６】

Ｅ１０９．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分がアミノＰＥＧ６－プロピオニル－０１３１（ＡｍＰｅｇ６Ｃ２－０１３１）である、抗体上の特定の部位で操作されたアシルドナーグルタミン含有タグを使用してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。

【０１３７】

Ｅ１１０．抗体またはその抗原結合断片が、配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分がアミノＰＥＧ６－プロピオニル－０１３１（すなわち、ＡｍＰｅｇ６Ｃ２－０１３１）である、抗体上の特定の部位で操作されたアシルドナーグルタミン含有タグを使用してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。

【０１３８】

Ｅ１１１．該抗体薬物コンジュゲートが、少なくとも６０℃、少なくとも６５℃、少なくとも７０℃、少なくとも７５℃、少なくとも８０℃、少なくとも８５℃または少なくとも９０℃超の融解転移温度を有する、Ｅ９１～Ｅ１１０のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１３９】

Ｅ１１２．該抗体薬物コンジュゲートが、約６５℃超の第１の融解転移温度を有する、Ｅ１１１に記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１４０】

Ｅ１１３．該抗体薬物コンジュゲートが、約５０ｎＭ、約４８ｎＭ、約４６ｎＭ、約４５ｎＭ、約４４ｎＭ、約４２ｎＭ、または約４０ｎＭ以下のK_D値でｐＨ７．４でＣＤＣＰ１に結合する、Ｅ９１～Ｅ１１２のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１４１】

Ｅ１１４．該抗体薬物コンジュゲートが、約７０ｎＭ、約６８ｎＭ、約６６ｎＭ、約６５ｎＭ、約６４ｎＭ、約６２ｎＭ、または約６０ｎＭ以下のK_D値でｐＨ６．８でＣＤＣＰ１に結合する、Ｅ９１～Ｅ１１３のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。

【０１４２】

Ｅ１１５．抗体薬物コンジュゲートが、約２００００ｐＭ、約１５０００ｐＭ、約１００００ｐＭ、約９５００ｐＭ、８０００ｐＭ、７０００ｐＭ、６０００ｐＭ、５０００ｐＭ、４０００ｐＭ、３０００ｐＭ、２０００ｐＭ、１０００ｐＭ、９００ｐＭ、８００ｐＭ、７００ｐＭ、６５０ｐＭ、６００ｐＭ、５００ｐＭ、４００ｐＭ、３００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、または１００ｐＭ以下の最大半量阻害濃度（IC_{50}）値を有する

、Ｅ９１～Ｅ１１４のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。
Ｅ１１６．該抗体薬物コンジュゲートが、約１００ｐＭ、約９０ｐＭ、約８０ｐＭ、約７０ｐＭ、約６０ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐｍ、約３０ｐＭ、約２０ｐＭ、約１０ｐＭ、約９ｐＭ、約８ｐＭ、約７ｐＭ、約６ｐＭ、約５ｐＭ、約４ｐＭ、約３ｐＭ、約２ｐＭ、または約１ｐＭ以下のＩＣ５０値を有する、Ｅ９１～Ｅ１１４のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１４３】
Ｅ１１７．ＩＣ５０値がＣＤＣＰ１発現細胞を使用して決定される、Ｅ１１５またはＥ１１６に記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１４４】
Ｅ１１８．該抗体薬物コンジュゲートが、平均腫瘍体積を、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）患者由来の異種移植モデルを使用する他の点では同一の未治療の腫瘍における平均腫瘍体積と比較して、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％低減する、Ｅ９１～Ｅ１１７のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１４５】
Ｅ１１９．該抗体薬物コンジュゲートが、平均腫瘍体積を、頭頸部癌患者由来の異種移植モデルにおける他の点では同一の未治療腫瘍における平均腫瘍体積と比較して、治療された腫瘍において少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％低減する、Ｅ９１～Ｅ１１８のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲート。
【０１４６】
Ｅ１２０．Ｅ９１～Ｅ１１９のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物。
【０１４７】
Ｅ１２１．細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、もしくは関連する、がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患を治療する方法であって、Ｅ９１～Ｅ１１９のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲートまたはＥ１２０に記載の組成物の治療有効量を、それを必要とする対象に投与することを含む、方法。
【０１４８】
Ｅ１２２．細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、もしくは関連する、がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患を治療することにおける使用のための、Ｅ９１～Ｅ１１９のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲートまたはＥ１２０に記載の組成物。
【０１４９】
Ｅ１２３．細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、もしくは関連する、がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患を治療するための、Ｅ８９～Ｅ１１２のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲートまたはＥ１１３に記載の組成物。
【０１５０】
Ｅ１２４．細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、もしくは関連する、がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患を治療するための医薬の製造における、Ｅ８９～Ｅ１１２のいずれか１つに記載の抗体薬物コンジュゲートまたはＥ１１３に記載の組成物。
【０１５１】
Ｅ１２５．がんが、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、大腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ　ｃａｎｃｅｒ）（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝癌、肝細胞腫、上皮内新生物、腎臓または腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例え

ば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、膵癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ　ｃａｎｃｅｒ）、精巣癌、甲状腺癌、子宮または子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、同様にＢ細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／濾胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非分割細胞ＮＨＬ、巨大腫瘤病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、及びワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症を含む、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、ヘアリーセル白血病、慢性骨髄芽球性白血病、同様に他の癌腫及び肉腫、ならびに移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、同様に母斑症、浮腫に関連する異常な血管増殖（例えば、脳腫瘍に関連するもの）、ならびにメグズ症候群からなる群から選択される、Ｅ１２１～Ｅ１２４のいずれか１つに記載のがん。

【図面の簡単な説明】

【０１５２】

【図１】ＣＤＣＰ１発現が、野生型と比較して発がん性ＫＲＡＳ及び／またはＬＫＢ１を発現する細胞中で増加することを示している、サンガー細胞株プロジェクトにおける７９０のがん細胞株からの発現マイクロアレイデータの生物情報学分析の箱ひげ図である。

【図２】ＣＤＣＰ１をサイレンシングすることが確立したＨ２００９　ＮＳＣＬＣ腫瘍を縮小することを示す。

【図３】分析的疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）法によって検出された溶出時間に基づく抗ＣＤＣＰ１抗体の相対的疎水性を示しているグラフである。３つの点変異（Ｙ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（Ｈ１００Ｈ）Ｈ）のＣＰ１３Ｅ１０　ＣＤＲＨ３（ＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアント）への組み込みは、溶出時間の低減によって実証されるように、疎水性を顕著に低減した。

【図４】分析的疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）法によって検出された抗ＣＤＣＰ１バリアントについての溶出時間を示す。３つの点変異（Ｙ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（Ｈ１００Ｈ）Ｈ）のＣＰ１３Ｅ１０　ＣＤＲＨ３（ＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアント）への組み込みは、溶出時間の低減によって実証されるように、疎水性を顕著に低減した。

【図５】Ｖ（Ｈ９７）Ｅの重鎖ＣＤＲ３への組み込みが、親野生型ＣＰ１３Ｅ１０抗体のものへのバリアントＣＰ１３Ｅ１０－５４のＣＤＣＰ１結合特性を回復したことを実証する線グラフである。

【図６】組換えヒト、カニクイザル及びマウスのＣＤＣＰ１－ＥＣＤタンパク質について決定された抗ＣＤＣＰ１抗体の結合動態を示す。

【図７】ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１に組み込まれたＩＧＫＶ１４６生殖系列置換が、ＣＤＣＰ１結合特性を改変しないことを実証している線グラフを示す。

【図８】ＰＣ３前立腺癌細胞の表面上に発現されたＣＤＣＰ１に結合する生殖系列ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１が、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣと同一であったことを実証している線グラフを示す。

【図９】ＣＤＲＨ３における推定異性化部位を除去するためのＧ（Ｈ９６）Ａ変異を含むＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１が、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１に対してＣＤＣＰ１結合特性を保持することを実証している線グラフを示す。

【図１０】ＣＤＣＰ１細胞外ドメイン（ＥＣＤ）及び抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂ断片によって形成された複合体の概要を提供する。図の上部にあるＣ－アルファトレースは、標識された終端を有するＣＤＣＰ１の位置を示す。球及び棒の表示は、抗体のアミノ酸残基の重原子の４Å以内に少なくとも１つの重原子（非水素）を有する抗原アミノ酸残基を示す。リボン表示は抗体を示し、左側の黒はＦａｂ重鎖を示し、右側の薄い灰色はＦａｂ軽鎖を示す。標識は、ＣＤＲＨ１及びＣＤＲＨ３の位置を示す。

【図１１】ＣＤＣＰ１　ＥＣＤと抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂ断片との間の界面の抗原中心の拡大図である。配向は図１０におけるものと同じである。薄い灰色の棒は、ＣＤＣＰ１のＡｓｎ１２２に結合したグリカンを示す。他のレンダリングは、図１０の記載に示されたものと同じである。

【図１２】ＣＤＣＰ１　ＥＣＤと抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂ断片との間の界面の抗体中心の拡大図である。配向は図１０におけるものと同じである。薄い灰色の空間充填モデルは、ＣＤＣＰ１のＡｓｎ１２２に結合したグリカンを示す。球及び棒モデルは、ＣＤＣＰ１のアミノ酸残基の重原子から４Å以内に少なくとも１つの重原子を有する抗体残基を示す。いかなる特定の理論にも拘束されることを望まないが、標識された残基Ｐｈｅ（Ｈ１００Ａ）は、６つの抗原残基とファンデルワールス接触することにおいて重要な役割を果たしているように見える（表５を参照されたい）。

【図１３】ＣＤＣＰ１　ＥＣＤと抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂ断片との間の界面の逆拡大図である。図１２に対して、この展望図は、垂直ページ軸に平行な軸の周りの１８０°の回転を反映する。レンダリングは、図１２におけるものと同じである。ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ３、及びＣＤＲＨ２の位置は、抗原と接触する重鎖のフレームワーク３（ＦＷ３）の順番と同様に標識される。ＣＤＲＬ２は、この図においてＣＤＲＬ３に隠れるため、示されない（ＣＤＲＬ２を示している異なる展望図について図１４を参照されたい）。

【図１４】ＣＤＣＰ１　ＥＣＤと抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＶＬとの間の界面の逆拡大図である。図１３に対して、この展望図は、垂直ページ軸に平行な軸の周りの１８０°の回転を反映する。レンダリングは、図１２におけるものと同じである。ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、及びＣＤＲＬ３の位置は、標識される。ＣＤＣＰ１のアミノ酸残基４６～５４（配列番号９０を参照して番号付けされた）は、ＣＤＲＬ１のＴｙｒ（Ｌ３２）の周りを包む。

【図１５】Ａは、ＣＤＣＰ１　ＥＣＤと抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂとの間の相互作用のサブセットを示す。棒及びＣ－アルファのトレースはＣＤＣＰ１を示し、リボンならびにボール及びスティックの表示は抗体を示す。重要なアミノ酸残基は標識され、抗体標識のみが括弧を組み込んでいる。点線は、ある特定の水素結合または塩架橋を示し、距離はオングストロームで標識する。Ｂは、ＣＤＣＰ１　ＥＣＤと抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂとの間の相互作用のサブセットを示す。これは、図１５Ａに示される同じモデルの代替図であり、異なる距離が示される。ＣＤＣＰ１のアミノ酸残基４６～５４（配列番号９０を参照して番号付けされた）は、ＣＤＲＬ１のＴｙｒ（Ｌ３２）の周りを包む。

【図１６】「膜」及び「内部」細胞区画において検出されたシグナルの蛍光強度中央値の比率における時間依存的増加の代表的な分析を示す。回帰直線の傾きは、内在化速度（Ｋｅ）を表す。

【図１７】ＣＤＣＰ１－ＡＤＣ（ＣＰ１３Ｅ１０－ＳＳ３－ＬＰ１５）がＮＳＣＬＣ　ＰＤＸモデルにおいて腫瘍増殖を遮断したことを示している棒グラフを示す。

【図１８Ａ】Ｈ１２９９細胞（図１８Ａ）、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞（図１８Ｂ）及びＭＣＦ１０Ａ細胞（図１８Ｃ）における抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣでの細胞の短期（５分）治療によるＣＤＣＰ１活性化を示しているウエスタンブロット画像を示す。

【図１８Ｂ】Ｈ１２９９細胞（図１８Ａ）、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞（図１８Ｂ）及びＭＣＦ１０Ａ細胞（図１８Ｃ）における抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣでの細胞の短期（５分）治療によるＣＤＣＰ１活性化を示しているウエスタンブロット画像を示す。

【図１８Ｃ】Ｈ１２９９細胞（図１８Ａ）、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞（図１８Ｂ）及びＭＣＦ１０Ａ細胞（図１８Ｃ）における抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣでの細胞の短期（５分）治療によるＣＤＣＰ１活性化を示しているウエスタンブロット画像を示す。

【図１９】抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣでの乳癌細胞、ＭＤＡ－ＭＢ－２３１（図１９Ａ）及びＭＤＡ－ＭＢ－４６８（図１９Ｂ）の長期治療によるＣＤＣＰ１分解を示しているウエスタンブロット画像を示す。
【図２０】抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣでのＨ１２９９細胞の長期治療によるＣＤＣＰ１分解、ＣＤＣＰ１発現及びチロシンリン酸化の時間依存的減少、ならびにＳｒｃ活性化の喪失を示しているウエスタンブロット画像を示す。
【図２１】ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣがＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞（図２１Ａ）及びＨ１２９９細胞（図２１Ｂ）の遊走を低減することを示している免疫組織化学的画像及び棒グラフを示す。
【図２２】３Ｄマトリゲルアッセイにおいて、ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－２９１及びＣＰＥ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣがＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞（図２２Ａ）及びＨ１２９９細胞（図２２Ｂ）の浸潤を減少させることを示している画像及び棒グラフを示す。
【図２３】ＣＤＣＰ１活性化抗体（ＣＰ１３Ｅ１０－２９１、ＣＵＢ１及び抗体２３）がいくつかの細胞中のみで基礎ＡＫＴ活性を減少させることを示しているウエスタンブロット画像を示す。図２３ＡはＨ１３７３及びＨ１２９９細胞の減少を示し、一方で、図２３Ｂは、ＭＣＦ１０Ａ、Ｈ１９７５及びＨＣＴ１１６細胞中で効果を示さない。
【図２４】ＣＤＣＰ１を活性化する抗体が、ＰＣ３細胞中で基礎ＡＫＴ活性及びＡＫＴ基質リン酸化もまた低減することを示す。図２４Ａは、２９１、７６、２３、ＣＵＢ１を含む活性化抗体及びＰ－ＡＫＴに影響を及ぼさない非活性化抗体２４を示す。図２４Ｂ及び２４Ｃは、阻害が２０分以内の８０％低減後に一過性であり、さらに、長期の抗体曝露中に、ＡＫＴリン酸化がＣＤＣＰ１タンパク質発現の発現の低減と一致する初期レベルに戻ったことを示す。
【図２５】無傷のＰＣ３細胞に結合した活性化（「７６」）及び（「２４」）抗ＣＤＣＰ１抗体を使用することによって新しいＣＤＣＰ１結合パートナーを特定する実験を示す。
【図２６Ａ】フローサイトメトリーによって決定された、ＣＤＣＰ１発現細胞への抗ＣＤＣＰ１抗体の用量依存的結合を示す。
【図２６Ｂ】フローサイトメトリーによって決定された、ＣＤＣＰ１発現細胞への抗ＣＤＣＰ１抗体の用量依存的結合を示す。
【図２７】抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０抗体及び組換えヒトＣＤＣＰ１－ＥＣＤタンパク質について決定されたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣの結合動態を示す。
【図２８Ａ】抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０またはＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１とのＰＣ３細胞のインキュベーションが、共インキュベートされたＮＫ細胞による用量依存的な様式で細胞殺滅（死んだ細胞％）を媒介することを実証する。ＰＣ３細胞に結合できないアイソタイプ対照抗体は、ＮＫ細胞による殺滅を誘導しないことに注意されたい。
【図２８Ｂ】抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０またはＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１のＰＣ３細胞とのインキュベーションが、レポーターＪｕｒｋａｔバイオアッセイエフェクター細胞中で、用量依存的様式でルシフェラーゼ（相対ルミノメーター単位（ＲＬＵ）として測定される）の誘導を媒介することを実証する。ルシフェラーゼ誘導は、ＰＣ３細胞に結合した抗体によるレポーター細胞上のＦｃγＲＩＩＩ受容体の会合を示している。ＰＣ３細胞に結合できないアイソタイプ対照抗体は、ルシフェラーゼ活性を誘導しないことに注意されたい。
【図２９Ａ】ＣＤＣＰ１抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）で治療された膵癌患者由来の異種移植（ＰＤＸ）モデルにおける腫瘍増殖を示す。膵癌ＰＤＸモデルＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５１３は、大量のＣＤＣＰ１を発現する（Ｈスコアは示されるとおりである）。平均腫瘍サイズがおよそ２００ｍｍ^{3}に達した際、マウスコホートに、腫瘍細胞を移植し、治療に対して無作為化した（治療群あたりｎ＝１０）。各群は、示された濃度で示された化合物の静脈内（ｉ．ｖ．）注射を受けた。合計４回のｉ．ｖ．注射を、４日間隔で行った

。腫瘍増殖を、示された時間経過にわたって記載されるように追跡した。
【図２９Ｂ】ＣＤＣＰ１抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）で治療された膵癌患者由来の異種移植（ＰＤＸ）モデルにおける腫瘍増殖を示す。膵癌ＰＤＸモデルＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５１３は、大量のＣＤＣＰ１を発現する（Ｈスコアは示されるとおりである）。平均腫瘍サイズがおよそ２００ｍｍ^{3}に達した際、マウスコホートに、腫瘍細胞を移植し、治療に対して無作為化した（治療群あたりｎ＝１０）。各群は、示された濃度で示された化合物の静脈内（ｉ．ｖ．）注射を受けた。合計４回のｉ．ｖ．注射を、４日間隔で行った。腫瘍増殖を、示された時間経過にわたって記載されるように追跡した。
【図３０】ＣＤＣＰ１抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）で治療された膵癌ＰＤＸモデルにおける腫瘍増殖を示す。膵癌ＰＤＸモデルＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５０９は、大量のＣＤＣＰ１を発現する（Ｈスコアは示されるとおりである）。平均腫瘍サイズがおよそ２００ｍｍ^{3}に達した際、コホートに、腫瘍細胞を移植し、治療に対して無作為化した（治療群あたりｎ＝１０）。各群は、示された濃度で示された化合物の静脈内（ｉ．ｖ．）注射を受けた。合計４回のｉ．ｖ．注射を、４日間隔で行った。腫瘍増殖を、示された時間経過にわたって記載されるように評価した。
【図３１】３ｍｇ／ｋｇ（ミリグラム／キログラム）でＡＤＣを投与された図３０からの膵癌モデルＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５０９コホート、またはＡＤＣを有しないリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）が投与された未治療の陰性対照の生存を示す。統計的に有意な生存ベネフィットは、ＰＢＳを受けた未治療の対照（平均±ＳＥ、１６．９±０．９９日；ログランク、ｐ＜０．０００１）または３ｍｇ／ｋｇのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１（平均±ＳＥ、２０．８±０．６８日；ログランク、ｐ＜０．０００１）と比較して、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１（平均±ＳＥ、４７．１±０．７２日）に関連していた。
【図３２】図３２Ａは、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）モデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０１における腫瘍増殖を示す。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１の全ての用量は、進行性疾患（ＰＤ）をもたらす。図３２Ｂは、ＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０１における腫瘍増殖を示す。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１もまた、０．３及び１ｍｇ／ｋｇで投与される際に進行性疾患（ＰＤ）をもたらす。しかしながら、３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の投薬は、一過性の腫瘍退縮を引き起こし、最終用量を少なくとも２週間超えて部分奏効（ＰＲ）をもたらした（図３２Ｂ）。
【図３３】Ａは、ＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３における腫瘍増殖を示す。０．３及び１ｍｇ／ｋｇのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１の用量はＰＤをもたらし、一方で、３ｍｇ／ｋｇで、一過性の退縮及びＰＲは２５日目（最後の用量から１３日後）まで見られる。Ｂは、ＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３における腫瘍増殖を示す。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の０．３及び１ｍｇ／ｋｇの両方の用量は、ＰＤをもたらす。３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の投薬は、一過性の腫瘍退縮を引き起こし、少なくとも４２日目（最後の用量から２９日後）まで見られたＰＲをもたらした。
【図３４】図３４Ａは、ＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－１５１３７における腫瘍増殖を示す。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の１．５ｍｇ／ｋｇ及び４．５ｍｇ／ｋｇの用量は、ＰＲをもたらす。３５日目までに、ＰＲは、パクリタキセル治療されたコホートにおける腫瘍が開始体積超のサイズで増加した時点で、４．５ｍｇ／ｋｇ用量で未だに見られた。図３４Ｂは、頭頸部癌モデルＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１５における腫瘍増殖を示す。４．５ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１及び３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の両方は、シスプラチンでの治療よりも優れていた。
【図３５】Ａは、ＰＤＸ腫瘍モデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３（Ｈスコア２２７）にお

ける腫瘍増殖を示す。腫瘍モデルを、確立し、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を、０．３、１、及び３ｍｇ／ｋｇで４日間隔（ｑ４ｄｘ４）で、各々４回投与した。部分奏効は、４２日目に３ｍｇ／ｋｇ用量で見られた。この後、腫瘍は、持続的な増殖を開始し、ＮＯＤ／ＳＣＩＤマウスのナイーブコホートへの再移植のために５６日目に採取された。Ｂは、Ａにおける３ｍｇ／ｋｇコホートから回収された腫瘍細胞を移植されたナイーブコホートを示す。平均腫瘍サイズが２００mm^3に達した際、マウスを、治療に対して無作為化した。部分奏効は、３及び６ｍｇ／ｋｇコホートで見られ、腫瘍がＡＤＣに対して感受性を維持していること、及び図３５Ａに見られる再増殖がＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１に対する抵抗性の発達の結果でなかったことを示している。

【図３６】膵臓（ＰＡＸ）、頭頸部（ＨＮＸ）または非小細胞肺癌（ＮＳＸ）患者由来の異種移植（ＰＤＸ）腫瘍モデルにおいて観察された腫瘍サイズの最大平均変化を示す。これらのモデルを、マウスのコホートにおいて確立した（＊ｎ＝１０；他のものについてはｎ＝４～５）。平均腫瘍サイズが２００mm^3に達した際、ｑ４ｄｘ４の３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１での治療が、開始した。開始体積からの変化パーセントを、本文において記載されるように決定した。ＣＤＣＰ１発現レベルを示しているＨスコアは各バー内に与えられる。Ｒｅｃｉｓｔ基準：完全奏効１／１４、部分奏効１０／１４、進行性疾患３／１４、奏効率７９％（１１／１４）。

【図３７】ＰＡＸ、ＨＮＸ、ＮＳＸ、卵巣（ＯＶＸ）、乳房（ＢＲＸ）、膀胱（ＢＬＡ）、及び小細胞肺癌（ＳＣＸ）ＰＤＸ腫瘍モデルにおいて観察された腫瘍サイズの最大平均変化を示す。これらのモデルを、マウスのコホートにおいて確立した（ｎ＝４～５）。平均腫瘍サイズが２００mm^3に達した際、ｑ４ｄｘ４の３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１での治療が、開始した。ＣＤＣＰ１発現に対するＨスコアは、決定された場合、個々のバー内またはバーの上に与えられる。Ｒｅｃｉｓｔ基準：完全奏効８／４０、部分奏効１７／４０、安定疾患７／４０、進行性疾患８／４０、奏効率６３％（２５／４０）。

【発明を実施するための形態】

【０１５３】

本発明は、部分的に、ＣＤＣＰ１が様々ながんの状況において興味深い生物学的活性を示し、特定の治療方法及び患者の選択を可能にするという驚くべき発見に基づいている。加えて、本発明は、ＣＤＣＰ１に特異的に結合し、それらが、細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、または関連する疾患及び状態に対する潜在的な新規のヒト治療薬であることを実証する特徴を呈する、新規の抗体及びそれに基づいてコンジュゲートした抗体薬物を提供する。

【０１５４】

ＣＤＣＰ１はある特定の薬剤を細胞に内在化する能力を有し、かかる内在化はがんの治療における有用性を提供する。この内在化は、理論に束縛されることを望まないが、例えば、Ｓｒｃによって、例えば、ＣＤＣＰ１のチロシン７３４でのＣＤＣＰ１のリン酸化によって媒介される。ＣＤＣＰ１のこのリン酸化は、そのがん促進効果と関連していることが、以前に示唆されている。驚くべきことに、本発明者らは、抗腫瘍有効性が、そのＣＤＣＰ１がリン酸化され、したがって内在化に適格であるはずであることを発見している。さらに、内在化のためのＣＤＣＰ１の標的化は、ＣＤＣＰ１の広範な発現にもかかわらず、標的化された抗腫瘍効果を提供した。したがって、とりわけ、本発明は、ある特定の細胞、例えば、Ｔｙｒ７３４リン酸化ＣＤＣＰ１を発現する細胞中のＣＤＣＰ１の内在化の発見を活用して、オフターゲット効果を軽減する方式における薬物送達を可能にする。さらに、本発明者らは、ある特定のＣＤＣＰ１標的化剤が、おそらく理論に拘束されることを望まないが、内在化されていることによって、ＣＤＣＰ１を減少させるために長期曝露を必要とすることを示している。したがって、生物学的効果のかかるペーシングは、本明細書に記載されるようなレジメン及び併用療法を支持する。また、本発明者らは、ＣＤＣ

Ｐ１の内在化が、腫瘍のもののような低酸素環境において好都合であり（例えば、ＨＩＦ－２の発現によって特徴付けられるように）、目的の腫瘍学指標の選択を提供することを示している。

【０１５５】

様々な態様では、本発明は、（ａ）腫瘍細胞の表面上のＣＤＣＰ１、例えば、Ｔｙｒ－７３４リン酸化ＣＤＣＰ１の発現について腫瘍試料を評価することと、（ｂ）ＣＤＣＰ１に結合する薬剤をがん患者に投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法に関する。

【０１５６】

したがって、様々な態様では、本開示は、（ａ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量について腫瘍試料を評価することと、（ｂ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量が参照試料よりも多い場合、がん患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法に関する。いくつかの実施形態では、腫瘍試料は、凍結腫瘍組織生検、培養された細胞、循環腫瘍細胞、及びホルマリン固定されパラフィン包埋された腫瘍組織生検から選択される生検である。いくつかの実施形態では、変異体ＫＲＡＳは、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｃ、及びＧ１３Ｄ変異体から選択される。いくつかの実施形態では、評価することは、腫瘍試料、もしくは変異を含むことが疑われるその断片からのＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳ核酸を増幅すること、ならびに該増幅された核酸を配列決定することによって行われる。いくつかの実施形態では、評価することは、ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳを指向する抗体またはその形式を腫瘍試料に接触させること、ならびに結合する抗体またはその形式を定量化することによって行われる。

【０１５７】

一態様では、本開示は、患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することを含む、肺癌の治療を必要とする患者において肺癌を治療する方法を提供し、肺癌はＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤はＣＤＣＰ１活性化剤である。いくつかの実施形態では、肺癌は、ＮＳＣＬＣである。いくつかの実施形態では、方法は、ＡＫＴ活性化について肺癌の試料を評価することをさらに含む。

【０１５８】

一態様では、本開示は、患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することを含む、前立腺癌の治療を必要とする患者において前立腺癌を治療する方法を提供し、前立腺癌はＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤はＣＤＣＰ１活性化剤である。いくつかの実施形態では、方法は、ＡＫＴ活性化について前立腺癌の試料を評価することをさらに含む。いくつかの実施形態では、方法は、ＡＫＴ阻害剤を投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、患者は、ＡＫＴ阻害剤での治療を受けている。いくつかの実施形態では、ＡＫＴ阻害剤は、アフレセルチブ、ＡＲＱ　７５１、ＡＲＱ　０９２、ＡＺＤ５３６３、ＢＡＹ１１２５９７６、ＧＳＫ２１４１７９５、ＧＳＫ６９０６９３、イパタセルチブ、ＬＹ２７８０３０１、ＭＫ２２０６、及びペリフォシンから選択される。

【０１５９】

いくつかの実施形態では、患者は、任意選択で、ＫＸ２－３９１、ボスチニブ、サラカチニブ、及びダサチニブから選択されるＳｒｃ阻害剤での治療を受けていない。いくつかの実施形態では、患者は、任意選択で、ＫＸ２－３９１、ボスチニブ、サラカチニブ、及びダサチニブから選択されるＳｒｃ阻害剤での治療を以前に受けていない。

【０１６０】

一態様では、本開示は、（ａ）標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合し、それが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される薬剤を選択することと、（ｂ）がん患者に薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供し、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤は、ＣＤＣＰ１を活性化する抗体であり、ＰＰＰ４Ｒ２調節剤にコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１活性化抗体は、ＣＰ１３Ｅ１０ならびにＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０

及びＣＰ１３Ｅ１０－２９１を含むそのバリアント、ＣＵＢ１、抗体２３及び抗体７６を含むが、これらに限定されない。

【０１６１】

一態様では、本開示は、（ａ）ＣＤＣＰ１に結合する薬剤がＣＤＣＰ１を活性化しない抗体である、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することと、（ｂ）ＰＡＲＧを調節する薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、非活性化ＣＤＣＰ１抗体は、抗体２４を含むが、これに限定されない。

【０１６２】

一態様では、本開示は、腫瘍の試料において変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の存在、不在、または量を決定することを含む、該腫瘍がＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答するかどうかを決定する方法を提供し、それによって変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの存在、あるいは参照試料に対する変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の増加した量は、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答する可能性を示している。

【０１６３】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤は、ＣＤＣＰ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。

【０１６４】

いくつかの実施形態では、本開示は、薬剤が、標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合する能力、及びそれが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される能力について選択される、患者のがんを治療し、かつがん患者に薬剤を投与するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、内在化は、例えば、Ｓｒｃによって、例えば、ＣＤＣＰ１のチロシン７３４でのＣＤＣＰ１のリン酸化によって媒介される。

【０１６５】

様々な実施形態では、本発明は、標的細胞上のＣＤＣＰ１、例えば、Ｔｙｒ－７３４リン酸化ＣＤＣＰ１に結合し、かつそれが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される能力について選択される、チェックポイント阻害剤及び薬剤の併用療法で患者におけるがんを治療するための方法に関する。様々な実施形態では、標的細胞上のＣＤＣＰ１、例えば、Ｔｙｒ－７３４リン酸化ＣＤＣＰ１に結合し、かつそれが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される能力について選択された薬剤は、チェックポイント阻害剤に対する応答について免疫系を増強する。様々な実施形態では、標的細胞上のＣＤＣＰ１、例えば、Ｔｙｒ－７３４リン酸化ＣＤＣＰ１に結合し、かつそれが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される能力について選択された薬剤は、チェックポイント阻害剤に対する患者奏効を改善する（例えば、限定なく、チェックポイント阻害剤の治療効果を高め、チェックポイント阻害剤の副作用を低減し、及び／または非奏効者もしくは奏効不良者をチェックポイント阻害剤に対する応答者に変換することによる）。

【０１６６】

ＣＵＢドメイン含有タンパク質１（ＣＤＣＰ１）

ＣＤＣＰ１は、タンパク質間相互作用を媒介し、かつ細胞接着及び細胞外マトリックスとの相互作用に関与することが認識されている、細胞外部分における３つのＣＵＢドメインを含む大きな細胞外ドメイン（６６５アミノ酸のサイズ）を有する。ＣＤＣＰ１遺伝子は、がん、例えば、肺癌及び頭頸部癌において強く発現する遺伝子として見いだされている。

【０１６７】

膜貫通タンパク質ＣＤＣＰ１はＳｒｃ及びＰＫＣδに関連し、ＣＤＣＰ１が活性化する際、全ての３つのタンパク質はチロシンリン酸化の増加を示す。Ｓｒｃは、リン酸化し、ＣＤＣＰ１に結合し、その後にＰＫＣδの制御性ドメインの一部であるＣ２ドメインへのＣＤＣＰ１の結合が続く。Ｔｙｒ－７３４はＳｒｃ及びＳｒｃファミリーキナーゼによってリン酸化される部位として特定され、したがって、Ｐ－Ｔｙｒ－７３４はＣＤＣＰ１活

性化のバイオマーカーである。完全長ＣＤＣＰ１タンパク質は１３５ｋＤａであるが、いくつかの細胞では、細胞外ドメインは約７５ｋＤａ膜貫通タンパク質にタンパク質分解的に切断される。ＣＤＣＰ１抗体または抗体薬物コンジュゲートを、ＣＤＣＰ１をノックダウンするか、またはその他の点でＣＤＣＰ１を発現する腫瘍細胞を標的とするために開発した。いくつかの実施形態では、抗体またはＡＤＣは、効果的な薬物であるように内在化されなければならない。ＣＤＣＰ１をがんに対する治療標的として検証し、その細胞外ドメインに結合する標的抗体によるＣＤＣＰ１の活性化によって影響を受ける新しいシグナル伝達経路も発見した。

【０１６８】

いくつかの態様では、ＣＤＣＰ１は、ヒトＣＤＣＰ１である。いくつかの態様では、ＣＤＣＰ１はカニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｏｇｕｓ　ｍｏｎｋｅｙ）（カニクイザル（ｃｙｎｏ））ＣＤＣＰ１である。いくつかの態様では、ＣＤＣＰ１は、マウスＣＤＣＰ１である。いくつかの態様では、ＣＤＣＰ１は、霊長類ＣＤＣＰ１である。例示的なＣＤＣＰ１配列が、表１０に提供される。

【０１６９】

ＣＤＣＰ１抗体

本明細書における「抗体」という用語は、最も広義に使用され、特に、それらが所望の生物学的活性を呈する限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、多量体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片を包含する。抗体は、マウス、ヒト、ヒト化、キメラであり得るか、または他の種に由来し得る。抗体は、特定の抗原を認識し、それに結合することができる、免疫系によって生成されたタンパク質である。（Ｊａｎｅｗａｙ，Ｃ．，Ｔｒａｖｅｒｓ，Ｐ．，Ｗａｌｐｏｒｔ，Ｍ．，Ｓｈｌｏｍｃｈｉｋ（２００１）Ｉｍｍｕｎｏ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，５ｔｈ　Ｅｄ．，Ｇａｒｌａｎｄ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ）。標的抗原は、一般に、複数の抗体上のＣＤＲによって認識される、エピトープとも呼ばれる多数の結合部位を有する。異なるエピトープに特異的に結合する各抗体は、異なる構造を有する。したがって、１つの抗原は、２つ以上の対応する抗体を有し得る。抗体は、完全長免疫グロブリン分子、または完全長免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、目的の標的の抗原またはその一部に免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子を含み、かかる標的は、自己免疫疾患に関連する自己免疫抗体を産生するがん細胞（複数可）を含むが、これらに限定されない。本明細書に開示される免疫グロブリンは、免疫グロブリン分子の任意の型（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、及びＩｇＡ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、及びＩｇＡ２）、またはサブクラスのものであり得る。免疫グロブリンは、任意の種に由来し得る。しかしながら、一態様では、免疫グロブリンは、ヒト、マウス、またはウサギ起源のものである。

【０１７０】

抗体の「抗原結合断片」は、抗原に特異的に結合する（好ましくは、実質的に同じ結合親和性で）能力を保持する完全長抗体の断片を指す。抗原結合断片の例は、（ｉ）Ｆａｂ断片、ＶＬ、ＶＨ、ＣＬ、及びＣＨ１ドメインからなる一価の断片、（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）２断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価の断片、（ｉｉｉ）ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、（ｉｖ）抗体の単一アームのＶＬ及びＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９　Ｎａｔｕｒｅ　３４１：５４４－５４６）、ならびに（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）、ジスルフィド連結したＦｖ（ｄｓＦｖ）、ならびに抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体及びイントラボディを含む。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメイン、ＶＬ及びＶＨは、別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、ＶＬ及びＶＨ領域が対合して一価の分子（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる）を形成する単一のタンパク質鎖としてそれらが作製されることを可能にする合成リンカーによる組換え法を使用して接合でき、例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－４２６（１９８８）及びＨｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８８，Ｐｒｏｃ

．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照されたい。ダイアボディなどの一本鎖抗体の他の形態もまた、包含される。ダイアボディは、ＶＨ及びＶＬドメインが単一のポリペプチド鎖上で発現される二価の二重特異性抗体であるが、同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用しており、それにより、ドメインを別の鎖の相補的ドメインと対合させ、２つの抗原結合部位を作成している（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８、Ｐｏｌｊａｋ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１－１１２３を参照されたい）。

【０１７１】

抗体「可変領域」は、抗体軽鎖（ＶＬ）の可変領域または抗体重鎖（ＶＨ）の可変領域を、単独または組み合わせるいずれかで指す。当該技術分野で既知のように、重鎖及び軽鎖の可変領域は、各々、３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）によってつながれた４つのフレームワーク領域(ＦＲ)からなり、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。

【０１７２】

「相補性決定領域」（ＣＤＲ）は、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａの定義、Ｋａｂａｔ及びＣｈｏｔｈｉａの両方の蓄積、ＡｂＭ、接触、Ｎｏｒｔｈ、及び／または立体配座の定義、または当該技術分野で周知のＣＤＲ決定の任意の方法に従って特定され得る。例えば、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ ｅｄ．（ｈｙｐｅｒｖａｒｉａｂｌｅ ｒｅｇｉｏｎｓ）、Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７７－８８３（ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｌｏｏｐ ｓｔｒｕｃｔｕｒｅｓ）を参照されたい。ＣＤＲを構成する特定の抗体におけるアミノ酸残基の同一性は、当該技術分野で周知の方法を使用して決定され得る。ＣＤＲのＡｂＭ定義は、ＫａｂａｔとＣｈｏｔｈｉａとの間の妥協案であり、Ｏｘｆｏｒｄ ＭｏｌｅｃｕｌａｒのＡｂＭ抗体モデリングソフトウェア（Ａｃｃｅｌｒｙｓ（登録商標））を使用する。ＣＤＲの「接触」定義は、ＭａｃＣａｌｌｕｍ ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２６２：７３２－７４５に定められた、観察された抗原接触に基づいている。ＣＤＲの「立体構造」定義は、抗原結合にエンタルピー的に寄与する残基に基づいている（例えば、Ｍａｋａｂｅ ｅｔ ａｌ．，２００８，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２８３：１１５６－１１６６を参照されたい）。Ｎｏｒｔｈは、ＣＤＲ定義の異なる好ましいセットを使用してカノニカルなＣＤＲ立体構造を特定した（Ｎｏｒｔｈ ｅｔ ａｌ．，２０１１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４０６：２２８－２５６）。本明細書でＣＤＲの「立体構造定義」と称される別のアプローチでは、ＣＤＲの位置は、抗原結合にエンタルピー的に寄与する残基として特定され得る（Ｍａｋａｂｅ ｅｔ ａｌ．，２００８，Ｊ Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２８３：１１５６－１１６６）。さらなる他のＣＤＲ境界定義は、上記のアプローチのうちの１つに厳密に従わない場合があるが、Ｋａｂａｔ ＣＤＲの少なくとも一部と重複するであろうが、それらは、特定の残基もしくは残基の群またはＣＤＲ全体でさえ抗原結合に顕著に影響を与えないという予測または実験結果に照らして、短縮あるいは延長され得る。本明細書で使用される場合、ＣＤＲは、アプローチの組み合わせを含む、当該技術分野で既知の任意のアプローチによって定義されるＣＤＲを指す場合がある。本明細書で使用される方法は、これらのアプローチのうちのいずれかに従って定義されたＣＤＲを利用し得る。２つ以上のＣＤＲを含む任意の所与の実施形態について、ＣＤＲ（または抗体の他の残基）は、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、Ｎｏｒｔｈ、延長、ＡｂＭ、接触、及び／または立体構造の定義のうちのいずれかに従って定義され得る。

【０１７３】

可変ドメインの残基は、抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインのために使用される番号付けシステムであるＫａｂａｔに従って番号付けされる。Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈ

ｅｓｄａ，ＭＤを参照されたい。この番号付けシステムを使用して、実際の線状アミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲもしくはＣＤＲの短縮またはそれへの挿入に対応する、より少ないあるいは追加のアミノ酸を含有し得る。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２後に単一のアミノ酸挿入（Ｋａｂａｔに従って残基５２ａ）、及び重鎖ＦＲ残基８２後に挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔに従って残基８２ａ、８２ｂ、及び８２ｃ）を含み得る。残基のＫａｂａｔ番号付けは、抗体の配列の「標準の」Ｋａｂａｔ番号付けされた配列との相同性の領域でのアラインメントによって所与の抗体に対して決定され得る。Ｋａｂａｔ番号付けを割り当てるための様々なアルゴリズムが、利用可能である。Ａｂｙｓｉｓのバージョン２．３．３リリース（ｗｗｗ．ａｂｙｓｉｓ．ｏｒｇ）において実装されたアルゴリズムは、可変領域ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、ＣＤＲＬ３、ＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、及びＣＤＲＨ３に対するＫａｂａｔ番号付けを割り当てるために本明細書で使用される。

【０１７４】

抗体における特定のアミノ酸残基位置もまた、Ｋａｂａｔに従って番号付けされ得る。

【０１７５】

「フレームワーク」（ＦＲ）残基は、ＣＤＲ残基以外の抗体可変ドメイン残基である。ＶＨまたはＶＬドメインフレームワークは、４つのフレームワークサブ領域、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４を含み、以下の構造、ＦＲ１－ＣＤＲ１－ＦＲ２－ＣＤＲ２－ＦＲ３－ＣＤＲ３－ＦＲ４においてＣＤＲと共に点在する。

【０１７６】

「エピトープ」は、抗体が特異的に結合する抗原の面積または領域、例えば、抗体と相互作用する残基を含む面積または領域を指す。エピトープは、線状または立体構造であり得る。

【０１７７】

「パラトープ」という用語は、視点を逆にすることによって「エピトープ」の上記の定義に由来し、抗原の結合に関与する抗体分子の面積または領域、例えば、抗原と相互作用する残基を含む面積または領域を指す。パラトープは、線状または立体構造（ＣＤＲにおける不連続残基など）であり得る。

【０１７８】

所与の抗体／抗原結合対に対するエピトープ／パラトープは、多様な実験的及び計算的エピトープマッピング法を使用して、詳細の異なるレベルで定義及び特徴付けられ得る。実験方法は、変異誘発、Ｘ線結晶学、核磁気共鳴（ＮＭＲ）分光法、水素／重水素交換質量分析法（ＨＸ－ＭＳ）及び様々な競合結合法を含む。

【０１７９】

最も詳細なレベルでは、抗体（Ａｂ）及び抗原（Ａｇ）の間の相互作用のためのエピトープ／パラトープは、Ａｇ－Ａｂ相互作用に存在する原子接触を定義する空間座標、同様に結合熱力学へのそれらの相対的な寄与に関する情報によって定義され得る。一レベルでは、エピトープ／パラトープ残基は、ＡｇとＡｂとの間の原子接触を定義する空間座標によって特徴付けられ得る。一態様では、エピトープ／パラトープ残基は、特定の基準、例えば、Ａｂ及びＡｇにおける原子間の距離（例えば、同族抗体の重原子及び抗原の重原子から約４Å以下の距離）によって定義され得る。別の態様では、エピトープ／パラトープ残基は、同族の抗体／抗原との、または同族の抗体／抗原にも水素結合している（水媒介性水素結合）水分子との水素結合相互作用に関与していると特徴付けられ得る。別の態様では、エピトープ／パラトープ残基は、同族の抗体／抗原の残基と塩架橋を形成することとして特徴付けられ得る。さらに別の態様では、エピトープ／パラトープ残基は、同族抗体／抗原との相互作用により、埋没表面積（ＢＳＡ）の非ゼロ変化を有する残基として特徴付けられ得る。より詳細でないレベルでは、エピトープ／パラトープは、機能を通じて、例えば、他の抗体との競合結合によって特徴付けられ得る。エピトープ／パラトープはまた、別のアミノ酸による置換がＡｂとＡｇとの間の相互作用（例えば、アラニンスキャニング）の特徴を改変するであろうアミノ酸残基を含むこととしてより一般に定義され得

る。

【０１８０】

エピトープに「優先的に結合する」または「特異的に結合する」（本明細書で交換可能に使用される）抗体は当該技術分野で十分に理解される用語であり、かかる特異的または優先的結合を決定するための方法もまた当該技術分野で周知である。分子は、それが代替の細胞または物質と行うよりも、それが、より頻繁に、より迅速に、より長い持続時間で、及び／または特定の細胞もしくは物質とのより大きな親和性で反応あるいは会合する場合、「特異的結合」あるいは「優先的結合」を呈すると言われる。抗体は、それが他の物質に結合するよりも、それが、より大きな親和性、アビディティで、より容易に、及び／またはより長い持続時間で結合する場合、標的に「特異的に結合する」または「優先的に結合する」。例えば、ＣＤＣＰ１エピトープに特異的または優先的に結合する抗体は、それが他のＣＤＣＰ１エピトープまたは非ＣＤＣＰ１エピトープに結合するよりも大きな親和性、アビディティで、より容易に、及び／またはより長い持続時間でこのエピトープに結合する抗体である。この定義を読むことによって、例えば、第１の標的に特異的もしくは優先的に結合する抗体（または部分もしくはエピトープ）は、第２の標的に特異的もしくは優先的に結合してもしなくてもよいことも、理解される。したがって、「特異的結合」または「優先的結合」は、必ずしも排他的結合を必要としない（それは含み得るが）。一般に、必ずしもそうでないが、結合への参照は、優先的結合を意味する。「特異的結合」または「優先的結合」は、特定の分子を認識し、それに結合するが、試料中の他の分子を実質的に認識するか、またはそれに結合しない化合物、例えば、タンパク質、核酸、抗体などを含む。例えば、試料中のその同族抗原を認識して結合するが、試料中の他の分子を実質的に認識または結合しない抗体は、その同族抗原に特異的に結合する。したがって、指定されたアッセイ条件下で、指定された結合部分（例えば、抗体またはその抗原結合部分）は、特定の標的分子に優先的に結合し、試験試料に存在する他の成分に顕著な量で結合しない。

【０１８１】

多様なアッセイが、目的の分子に特異的に結合する抗体またはペプチドを選択するために使用され得る。例えば、固相ＥＬＩＳＡ免疫アッセイ、免疫沈降、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）（ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）、蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）、Ｏｃｔｅｔ（商標）（ＦｏｒｔｅＢｉｏ，Ｉｎｃ．，Ｍｅｎｌｏ Ｐａｒｋ，ＣＡ）、ウエスタンブロット分析は、同族のリガンドもしくは結合パートナーに特異的に結合する、抗原もしくは受容体、またはそのリガンド結合部分と特異的に反応する抗体を特定するために使用され得る多くのアッセイの中にある。典型的には、特異的または選択的反応は、バックグラウンドシグナルまたはノイズの少なくとも２倍、より典型的にはバックグラウンドの１０倍超であり、さらにより具体的には、平衡解離定数（K_D）値が、１００ｎＭ以下、１０ｎＭ以下、１００ｐＭ以下、１０ｐＭ以下、または１ｐＭ以下などの１μＭ以下の際、抗体は抗原に「特異的に結合」すると言われる。

【０１８２】

抗体に関して本明細書で使用される場合、「競合する」という用語は、第１の抗体またはその抗原結合部分の抗原への結合が、第２の抗体またはその抗原結合部分による同じ抗原のその後の結合を低減することを意味する。一般に、第１の抗体に結合することは、立体障害、立体構造変化、または共通のエピトープ（またはその部分）への結合を生じさせ、そのため、同じ抗原への第２の抗体の結合は、低減する。標準的競合アッセイは、２つの抗体が互いに競合するかどうかを決定するために使用され得る。抗体競合に対する１つの好適なアッセイは、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）技術を使用して、典型的には、バイオセンサーシステム（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）システムなど）を使用して相互作用の程度を測定できるＢｉａｃｏｒｅ技術の使用を伴う。例えば、ＳＰＲは、第２の抗体の結合を阻害する１つの抗体の能力を決定するために、インビトロ競合性結合阻害アッセイにおいて使用され得る。抗体競合を測定するための別のアッセイは、ＥＬＩＳＡベースのアプローチを使用する。

【０１８３】
さらに、それらの競合に基づいて抗体を「ビニング」するための高スループットプロセスは、国際特許出願第ＷＯ２００３／４８７３１号に記載される。１つの抗体（または断片）が別の抗体（または断片）のＣＤＣＰ１への結合を低減する場合、競合が存在する。例えば、連続的結合競合アッセイが使用され得、異なる抗体が連続的に添加される。第１の抗体は、飽和に近い結合に達するために添加され得る。次いで、第２の抗体が、添加される。ＲＯＢＯ２への第２の抗体の結合が、検出されないか、または第１の抗体の不在下における並行アッセイ（その値は１００％として設定される）と比較して顕著に低減する場合（例えば、少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、または少なくとも約９０％の低減）、２つの抗体は、互いに競合していると見なされる。
【０１８４】
「抗原結合断片」は、完全長抗体の部分、一般に、その抗原結合または可変領域を含む。抗原結合部分の例は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、及びＦｖ断片；ダイアボディ；線状抗体；Ｆａｂ発現ライブラリによって産生された断片、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、ＣＤＲ（相補性決定領域）、及びがん細胞抗原、ウイルス抗原、または微生物抗原に免疫特異的に結合する上記のうちのいずれかのエピトープ結合断片、一本鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合部分は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ、ダイアボディ、線状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、及び抗体の抗原結合部分を含む融合タンパク質のうちの１つ以上から選択され得る。
【０１８５】
本明細書で使用される場合、モノクローナル抗体という用語は、実質的に均一な抗体の集団から取得された抗体を指し、すなわち、集団を含む個々の抗体は、少量で存在し得る、可能な天然に生じる変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、非常に特異的であり、単一の抗原部位に対して指向している。さらに、異なる決定基（エピトープ）に対して指向する異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して指向する。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、それらが他の抗体が混入することなく合成され得るという点で有利である。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均一な抗体集団から取得されるという抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものと解釈されるべきでない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製され得るか、または組換えＤＮＡ法によって作製され得る。
【０１８６】
「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。この領域は、緊密な非共有結合性会合にある１つの重鎖及び１つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。各可変ドメインの３つの超可変領域が相互作用してＶＨ－ＶＬ二量体の表面上の抗原結合部位を定義するのは、この構成においてである。集合的に、６つの超可変領域は、抗体に抗原結合特異性を付与する。しかしながら、単一可変ドメイン（または抗原に特異的な超可変領域を３つのみ含むＦｖの半分）でさえも、抗原を認識してそれに結合する能力を有するが、全結合部位よりも親和性が低い。
【０１８７】
Ｆａｂ断片もまた、軽鎖の定常ドメイン及び重鎖の第１の定常ドメイン（ＣＨ１）を含む。Ｆａｂ’断片は、抗体ヒンジ領域からの１つ以上のシステインを含む重鎖ＣＨ１ドメインのカルボキシ末端での数個の残基の付加によって、Ｆａｂ断片とは異なる。Ｆａｂ’－ＳＨは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が少なくとも１つの遊離チオール基を有するＦａｂ’に対する、本明細書における表記である。Ｆ（ａｂ’）２抗体断片は、元来、

それらの間にヒンジシステインを有するＦａｂ’断片の対として産生された。抗体断片の他の化学的共役もまた、既知である。

【０１８８】

任意の脊椎動物種からの抗体の軽鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる、２つの明確に異なる型のうちの１つに割り当てられ得る。

【０１８９】

「一本鎖Ｆｖ」または「ｓｃＦｖ」抗体断片は、抗体のＶＨ及びＶＬドメインを含む一本鎖可変領域抗体断片を意味し、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖に存在する。Ｆｖ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ＶＨ及びＶＬドメインの間にポリペプチドリンカーをさらに含む。

【０１９０】

ダイアボディという用語は、２つの抗原結合部位を有する小さな抗体断片を指し、この断片は、同じポリペプチド鎖（ＶＨ－ＶＬ）において、可変軽ドメイン（ＶＬ）に接続した可変重ドメイン（ＶＨ）を含む。同じ鎖上の２つのドメインの間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用することによって、ドメインは、別の鎖の相補的ドメインと対合し、かつ２つの抗原結合部位を作成するようにさせられる。

【０１９１】

非ヒト（例えば、齧歯類）抗体のヒト化形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小の配列を含むキメラ抗体である。ほとんどの部分について、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域からの残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）の超可変領域からの残基によって置き換えられる、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。いくつかの事例では、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（ＦＲ）残基は、対応する非ヒト残基に置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見いだされない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体性能をさらに改良するために行われる。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み、超可変ループの全てまたは実質的に全ては、非ヒト免疫グロブリンの超可変ループに対応し、ＦＲの全てまたは実質的に全ては、ヒト免疫グロブリン配列のものである。

【０１９２】

単離された抗体は、その自然環境の成分から識別及び分離及び／または回収されているものである。その自然環境の混入成分は、抗体の診断的または治療的使用を妨げる材料であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性溶質を含み得る。抗体は、（１）Ｌｏｗｒｙ法によって決定された場合に９５重量％超の、または９９重量％まで、（２）回転カップタンパク質配列決定装置の使用によってＮ末端または内部アミノ酸配列の少なくとも１５の残基を取得するのに十分な程度まで、あるいは（３）クーマシーブルーもしくは銀染色を使用する還元または非還元条件下でＳＤＳ－ＰＡＧＥによる均一性まで、精製され得る。単離された抗体は、抗体の自然環境の少なくとも１つの成分が存在しないため、組換え細胞内でインサイツの抗体を含む。しかしながら、通常、単離された抗体は、少なくとも１つの精製ステップによって調製されるであろう。

【０１９３】

いくつかの態様では、本発明は、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体及びその抗原結合断片を提供する。例示的な抗体の配列が、表１０に示される。実施例（例えば、実施例１１及び１９を参照されたい）に示されるように、いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、哺乳動物細胞上のＣＤＣＰ１に結合すると内在化する。

【０１９４】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片は、（ｉ）（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、ならびに（ｃ）配列番号４、配列番号２７、配列番号４０及び配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含

む、ＶＨと、（ｉｉ）（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、ならびに（ｃ）配列番号１４　及び配列番号３１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む。

【０１９５】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片は、（ｉ）（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び（ｃ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、（ｉｉ）（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び（ｃ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む。

【０１９６】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片は、（ｉ）（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び（ｃ）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、（ｉｉ）（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び（ｃ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む。

【０１９７】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片は、（ｉ）（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び（ｃ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、（ｉｉ）（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び（ｃ）配列番号１４のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む。

【０１９８】

抗体またはその抗原結合断片は、ヒト生殖系列ＶＨフレームワーク配列を含むＶＨフレームワークを含み得る。ＶＨフレームワーク配列は、ヒトのＶＨ１生殖系列、ＶＨ３生殖系列、ＶＨ５生殖系列、またはＶＨ４生殖系列に由来し得る。例えば、以下の生殖系列からのＶＨフレームワークが、使用され得る：ＩＧＨＶ１－４６、ＩＧＨＶ３－２３、ＩＧＨＶ３－７、またはＩＧＨＶ１－６９（生殖系列名はＩＭＧＴ生殖系列の定義に基づく）。いくつかの実施形態では、ＶＨフレームワークは、完全に、ＣＤＲＨ３の排除を伴うＩＧＨＶ１－４６＊０１（ＤＰ－７）である。

【０１９９】

好ましいヒト生殖系列軽鎖フレームワークは、ＶκまたはＶλ生殖系列に由来するフレームワークである。例えば、以下の生殖系列からのＶＬフレームワークが、使用され得る：ＩＧＫＶ３Ｄ－７、ＩＧＫＶ１－３９、またはＩＧＫＶ３－２０（生殖系列名はＩＭＧＴ生殖系列の定義に基づく）。いくつかの実施形態では、ＶＬフレームワークは、ＩＧＫＶ３Ｄ－７＊０１（ＤＰＫ２３）である。代替的にまたは加えて、フレームワーク配列は、Ｖλ１コンセンサス配列、ＶＫ１コンセンサス配列、ＶＫ２コンセンサス配列、ＶＫ３コンセンサス配列、ＶＨ３生殖系列コンセンサス配列、ＶＨ１生殖系列コンセンサス配列、ＶＨ５生殖系列コンセンサス配列、またはＶＨ４生殖系列コンセンサス配列などの、ヒト生殖系列コンセンサスフレームワーク配列であり得る。ヒト生殖系列フレームワークの配列は、Ｖ－ｂａｓｅ、ＩＭＧＴ、ＮＣＢＩ、またはＡｂｙｓｉｓなどの様々な公開データベースから入手可能である。

【０２００】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１、配列番号２６、配列番号３９または配列番号４４のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＨを含む。

【０２０１】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１１、配列番号３０、配列番号３６または配列番号１１のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む。
【０２０２】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３０または３６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む。
【０２０３】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。
【０２０４】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号３０のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。
【０２０５】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３９のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。
【０２０６】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号４４のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。
【０２０７】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＨドメイン、及び配列番号１１のアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む。
【０２０８】
これらのＶＨ及びＶＬ配列の任意の組み合わせもまた、本発明に包含される。
【０２０９】
ある特定の実施形態では、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片は、Ｆｃドメインを含む。Ｆｃドメインは、ＩｇＡ（例えば、IgA_1またはIgA_2）、ＩｇＧ、ＩｇＥ、またはＩｇＧ（例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、またはIgG_4）に由来し得る。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、Ｆｃドメインの野生型配列を含む。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、改変された生物学的活性をもたらす１つ以上の変異を含む。例えば、変異は、組換えタンパク質の産生中の均一性を増加させるためにＦｃドメインに導入され得る。いくつかの実施形態では、Ｆｃドメインは、ヒトＩｇＧ１のＦｃドメインである。いくつかの実施形態では、ＦｃドメインのＣ末端位置に位置するリジンは、組換えタンパク質の産生中の均一性を高めるために欠失される。いくつかの実施形態では、ＦｃドメインのＣ末端位置に位置するリジンは、存在する。
【０２１０】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０、

２９、４１または４６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【０２１１】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１７、３２、または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１２】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２１３】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む（本明細書で抗体「ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１」と称される）。

【０２１４】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む（本明細書で抗体「ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ」と称される）。

【０２１５】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号４１のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む（本明細書で抗体「ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１」と称される）。

【０２１６】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号４６のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む（本明細書で抗体「ＣＰ１３Ｅ１０－２９１」と称される）。

【０２１７】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１０のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む（本明細書で抗体「ＣＰ１３Ｅ１０」と称される）。

【０２１８】

結晶構造の研究は、ＣＤＣＰ１が三日月形状を採用し、ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体が三日月の内側に配置されていることを示している。６つのＣＤＣＰ１残基は、界面の中心近くで抗体と相互作用する。いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、ＣＤＣＰ１上のエピトープに結合し、エピトープは、配列番号９０の番号付けに従って、Ｔｈｒ１２４、Ｔｈｒ１６０、Ｓｅｒ１６２、Ａｌａ１９５、Ｌｅｕ１９６、及びＨｉｓ１９７からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基を含む。

【０２１９】

いくつかの実施形態では、エピトープは、配列番号９０の番号付けに従って、Ｌｙｓ４５、Ｌｅｕ４６、Ｇｌｙ４７、Ｔｈｒ４８、Ｐｒｏ４９、Ｔｈｒ５０、Ａｌａ５３、Ｐｒ

ｏ５５、Ｇｌｕ９２、Ａｒｇ１７３、及びＧｌｕ２４２からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基をさらに含む。いくつかの実施形態では、エピトープは、配列番号９０の番号付けに従って、Ｔｈｒ５６、Ｔｙｒ５７、Ｔｈｒ６６、Ｍｅｔ６７、Ｉｌｅ１２６、Ｖａｌ１７１、Ａｒｇ１７３からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基をさらに含む。

【０２２０】

いくつかの実施形態では、エピトープは、配列番号９０の番号付けに従って、Ａｓｎ１２２に結合したグリカンをさらに含む。

【０２２１】

本明細書で提供される抗体（またはその抗原結合断片）のうちのいずれか１つなどの、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片のいずれかとＣＤＣＰ１への結合について競合する抗体またはその抗原結合断片もまた、本発明によって提供される。例えば、抗体またはその抗原結合部分のＣＤＣＰ１への結合が、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１によるＣＤＣＰ１へのその後の結合を妨げる場合、抗体またはその抗原結合部分は、ＣＤＣＰ１結合についてＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１と競合する。

【０２２２】

本明細書で提供される抗体またはその抗原結合断片のうちのいずれか１つなどの、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合断片のいずれかと同じＣＤＣＰ１に結合する抗体またはその抗原結合断片もまた、本発明によって提供される。例えば、抗体競合アッセイ（及び重複エピトープ分析）は、本明細書に詳細に記載されるように、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）またはバイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）によって評価され得る。

【０２２３】

本発明によって提供される抗体及び抗原結合断片は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、Ｆｃなど）、キメラ抗体、二重特異性抗体、ヘテロコンジュゲート抗体、一本鎖（ＳｃＦｖ）、その変異体、抗体部分を含む融合タンパク質、ドメイン抗体（ｄＡｂｓ）、ヒト化抗体、ならびに抗体のグリコシル化バリアント、抗体のアミノ酸配列バリアント、及び共有結合的に修飾された抗体を含む、必要とされる特異性の抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子の任意の他の修飾された構成を含む。抗体及び抗原結合断片は、マウス、ラット、ヒト、または他の任意の起源（キメラまたはヒト化抗体を含む）であり得る。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、キメラ、ヒト化またはヒト抗体である。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト抗体である。ある特定の実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。

【０２２４】

抗体の結合親和性は、平衡解離定数（K_D）値として表され得、特定の抗原抗体相互作用の解離速度を指す。K_Dは、「オフレート（$k_{オフ}$）」とも呼ばれる解離速度の、会合速度または「オンレート（$k_{オン}$）」に対する比率である。したがって、K_Dは、$K_{オフ}／k_{オン}$（解離／会合）に等しく、モル濃度（Ｍ）で表され、K_Dが小さいほど結合の親和性が強くなる。抗体に対するK_D値は、当該技術分野で十分に確立された方法を使用して決定され得る。別段明記されない限り、「結合親和性」は、一価の相互作用（固有の活性；例えば、一価の相互作用を通じた抗体の抗原への結合）を指す。

【０２２５】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、約３５０ｎＭ、約３２５ｎＭ、約３２３．１０ｎＭ、約３００ｎＭ、約２８６．４４ｎＭ、約２７５ｎＭ、約２５０ｎＭ、約２３２．１３ｎＭ、約２２５ｎＭ、約２１９．１３ｎＭ、約２００ｎＭ、約１９５．５４ｎＭ、約１７５ｎＭ、約１５８ｎＭ、約１５０ｎＭ、約１２５ｎＭ、または約１００ｎＭ以下の親和性（K_D）値を有する。

【０２２６】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、約９５ｎＭ、約９０ｎＭ、約８０ｎＭ、約７９．８９ｎＭ、約７５ｎＭ、約７０ｎＭ、約６９．５０ｎＭ、約６５ｎ

Ｍ、約６３．４４ｎＭ、約６０ｎＭ、約５５ｎＭ、約５２．８８ｎＭ、約５０ｎＭ、約４５ｎＭ、約４４．５０ｎＭ、約４１．９９ｎＭ、約４０ｎＭ、約３５ｎＭ、約３０ｎＭ、約２５ｎＭ、約２０ｎＭ、約１０ｎＭ、約５ｎＭ、または約１ｎＭ以下のK_D値でＣＤＣＰ１に結合する。

【０２２７】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、約５ｎＭ、約４．５ｎＭ、約４ｎＭ、約３．５ｎＭ、約３．１２ｎＭ、約３ｎＭ、約２．９０ｎＭ、約２．５ｎＭ、約２ｎＭ、約１．５ｎＭ、約１ｎＭ、約９００ｐＭ、約８００ｐＭ、約７００ｐＭ、約６００ｐＭ、約５００ｐＭ、約４００ｐＭ、約３００ｐＭ、約２５０ｐＭ、約２００ｐＭ、約１５０ｐＭ、約１００ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐＭ、約３０ｐＭ、約２５ｐＭ、約２０ｐＭ、約１５ｐＭ、約１０ｐＭ、約５ｐＭ、または約１ｐＭ以下のK_D値でＣＤＣＰ１に結合する。

【０２２８】

K_Dの値は、周知の方法で直接決定され得、複雑な混合物についてさえも、例えば、Ｃａｃｅｃｉ ｅｔ ａｌ．，（１９８４，Ｂｙｔｅ ９：３４０－３６２）に定められるものなどの方法によって計算され得る。例えば、K_Dは、Ｗｏｎｇ ＆ Ｌｏｈｍａｎ（１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：５４２８－５４３２）によって開示されたものなどのダブルフィルタニトロセルロースフィルタ結合アッセイを使用して確立され得る。標的抗原に対する抗体などのリガンドの結合能力を評価するための他の標準的アッセイは、当該技術分野で既知であり、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウエスタンブロット、ＲＩＡ、及びフローサイトメトリー分析、及び本明細書の他の場所で例示される他のアッセイを含む。

【０２２９】

結合親和性（K_D）値を測定するための１つの例示的な方法は、典型的には、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）システムなどのバイオセンサーシステムを使用する表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）である。ＳＰＲは、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）システムを使用する、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の改変の検出によって、リアルタイムの生体特異的相互作用の分析を可能にする光学現象を指す。ＢＩＡｃｏｒｅ動態分析は、それらの表面上に固定化された分子（例えば、抗原結合ドメインを含む分子）を有するチップからの抗原の結合及び解離、または、固定化された抗原を有するチップからの抗体またはその抗原結合断片の解離を分析することを含む。

【０２３０】

ある特定の実施形態では、ＳＰＲ測定は、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｔ１００またはＴ２００機器を使用して行われる。例えば、表面プラズモン共鳴に対する標準的アッセイ条件は、ＳＰＲチップ上のＩｇＧのおよそ１００～５００応答単位（ＲＵ）の抗体固定化に基づくことができる。精製された標的タンパク質は、最終濃度の範囲まで緩衝液中で希釈され、必要な流量（例えば、１０～１００μｌ／分）で注入されてＫａの計算を可能にする。解離は、オフレートを確立するように進行することができ、その後にチップ表面の再生のための３ＭのＭｇ$Ｃｌ_2$（または２０ｍＭのＮａＯＨ）が続く。次いで、センサーグラムが、動態評価ソフトウェアパッケージを使用して分析される。例示的な実施形態では、ＳＰＲアッセイは、実施例に定められた条件に従う。

【０２３１】

ある特定の実施形態では、結合親和性（K_D）値は、溶液ベースの動態排除アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ（商標））を使用して測定される。特定の実施形態では、ＫｉｎＥｘＡ測定は、ＫｉｎＥｘＡ（商標）３２００機器（Ｓａｐｉｄｙｎｅ）を使用して行われる。動態排除アッセイ（ＫｉｎＥｘＡ（商標））は、抗原／抗体相互作用に対する平衡解離定数ならびに会合及び解離速度定数を測定することができる汎用イムノアッセイプラットフォーム（基本的にはフロー分光蛍光光度計）である。ＫｉｎＥｘＡ（商標）は平衡が取得された後に実行されるため、相互作用のオフレートが非常に遅くなり得る高親和性相互作用のK_Dを測定するために使用することは、有利な技法である。ＫｉｎＥｘＡ（商標）方法論

は、一般に、Ｄｒａｋｅ ｅｔ ａｌ．，（２００４）Ａｎａｌｙｔｉｃａｌ Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２８，３５－４３に記載されているように行われ得る。

【０２３２】

抗体のK_Dを決定するための別の方法は、典型的には、ＦｏｒｔｅＢｉｏからのＯＣＴＥＴ（登録商標）技術（例えば、Ｏｃｔｅｔ ＱＫｅシステム）を使用する、バイオレイヤー干渉法（ＢＬＩ）を使用することによる。ある特定の実施形態では、ＢＬＩ測定は、以下に従って行われる：専売の抗ヒト抗体（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）でコーティングされたセンサーチップは、泳動用緩衝液（０．０５％のツイーン２０を含有する１０ｍＭのＨｅｐｅｓ緩衝生理食塩水（ＨＢＳ）など）に１２０秒間浸すことによるＢＬＩシグナル安定化を受ける。次いで、抗体は、センサーを泳動用緩衝液に３００秒間浸すことによって捕捉される（緩衝液は１～１０ｕｇ／ｍＬの抗体を含有し得る）。次いで、シグナルは、センサー先端を泳動用緩衝液に１２０秒間浸し直すことによって、安定する。次いで、チップは、同族の抗原を含有する溶液に移される。抗体－抗原の結合は、１８０秒間にわたって受容体解離を監視するために、センサーチップが泳動用緩衝液に移される前の１８０秒間にわたって測定される。ＣＤＣＰ１の場合、典型的には、抗原の７点の用量応答（２倍希釈において１～２ｎＭの範囲であり得る）が測定される。追加的に、捕捉された抗体を有しないセンサーチップは、センサーチップへの受容体の非特異的結合を監視するために抗原に曝露される。第２の参照型もまた、その上に捕捉された抗体を有するが、その後、抗原を有しない泳動用緩衝液のみへのその後の曝露を伴うチップを含む。このことは、二重参照により、非特異的結合、同様にシステムノイズ及び抗ヒトＦｃセンサーチップから解離する抗体に起因する基礎となるベースラインドリフトの両方を排除するための二重参照を可能にする。生のアンダー（ｒａｗ ｕｎｄｅｒ）は、二重参照減算を行い、次いで、１：１親和性及び動態パラメータを決定するためのラングミュア型結合モデルにフィットする。

【０２３３】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１は、ヒトＣＤＣＰ１、カニクイザルＣＤＣＰ１、またはマウスＣＤＣＰ１である。一般に、抗ＣＤＣＰ１抗体は、ＣＤＣＰ１に高親和性で結合するはずである。抗ＣＤＣＰ１抗体は約４０ｎＭ以下などの低ナノモル範囲でヒトＣＤＣＰ１に結合親和性（K_D）を有することが、望ましい。いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１はヒトＣＤＣＰ１であり、K_D値は、約４０ｎＭ、約４５ｎＭ、または約５０ｎＭである。いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１は、カニクイザルＣＤＣＰ１であり、K_D値は、約６２ｎＭ、約６４ｎＭ、約６６ｎｍ、約６８ｎＭ、または約７０ｎＭである。

【０２３４】

抗体－薬物コンジュゲート

抗体薬物コンジュゲートまたはＡＤＣは、がんを有する患者の治療のための標的化療法として設計された非常に強力なバイオ医薬薬物の重要なクラスである。化学療法とは異なり、ＡＤＣは、がん細胞のみを標的とし殺滅し、健康な細胞を温存するように意図される。ＡＤＣは、生物学的に活性な細胞傷害性（抗がん）ペイロードまたは薬物に連結した抗体で構成される複雑な分子である。本明細書で使用される場合、「抗体薬物コンジュゲート」は、細胞傷害性または細胞増殖抑制薬物／薬剤に共有結合的に連結した抗体または抗体の一部を指し、薬物／薬剤は、本明細書で「ペイロード」とも称される。

【０２３５】

プロドラッグという用語は、親薬物と比較して腫瘍細胞に対してより低い細胞傷害性であり、かつ酵素的により活性であるか、またはより活性のある親形態へと活性化または変換されることができる、薬学的に活性な物質の前駆体または誘導体形態を指す。本開示のプロドラッグは、限定されないが、ホスフェート含有プロドラッグ、チオホスフェート含有プロドラッグ、スルフェート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、Ｄ－アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化プロドラッグ、β－ラクタム含有プロドラッグ、任意選択で置換されたフェノキシアセトアミド含有プロドラッグまたは任意選択で置換されたフェニルアセトアミド含有プロドラッグ、５－フルオロシトシン及び他の５－フルオロ

ウリジンプロドラッグを含み、より活性な細胞傷害性遊離薬物へと変換され得る。本開示における使用のためのプロドラッグ形態に誘導体化され得る細胞傷害性薬物の例は、それらの化学療法剤を含むが、これらに限定されない。

【０２３６】

抗体及び薬物は、直接連結し得るか、またはリンカーと称される部分を介して結合し得る。リンカーまたは連結は、共有結合、または抗体を薬物部分に共有結合的に結合する原子の鎖を含む、化学部分を指す。様々な実施形態では、リンカーは、Ｌと指定される。リンカーは、二価ラジカル、例えば、アルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、－（ＣＲ２）ｎＯ（ＣＲ２）ｎ－などの部分、アルキルオキシ（例えば、ポリエチレンオキシ、ＰＥＧ、ポリメチレンオキシ）及びアルキルアミノ（例えば、ポリエチレンアミノ、Ｊｅｆｆａｍｉｎｅ（商標））の反復単位、ならびにスクシネート、スクシンアミド、ジグリコレート、マロネート、及びカプロアミドを含む、二価酸のエステル及びアミドを含む。

【０２３７】

抗ＣＤＣＰ１抗体及びコンジュゲーション部位

いくつかの態様では、本発明は、本明細書に記載されるようなＣＤＣＰ１抗体またはその抗原結合断片のコンジュゲート（または免疫コンジュゲート）を提供し、抗体または抗原結合断片は、直接的またはリンカーを介して間接的のいずれかで、標的化免疫療法（例えば、ＡＤＣとも称される抗体薬物コンジュゲート）のための薬物（本明細書ではペイロードとも称される）にコンジュゲートされる。例えば、薬物（例えば、とりわけ、抗腫瘍剤を包含する細胞傷害性剤）は、細胞表面上でＣＤＣＰ１を発現する細胞（例えば、ＣＤＣＰ１発現腫瘍）への薬物部分の標的化された局所送達のために、本明細書に記載されるように、ＣＤＣＰ１抗体もしくはその抗原結合断片に連結または結合できる。

【０２３８】

細胞傷害性剤または他の治療剤を抗体にコンジュゲートさせるための方法は、様々な刊行物に記載されている。例えば、化学修飾は、リジン側鎖アミンを通じるか、またはコンジュゲーション反応が生じるために鎖間ジスルフィド結合を還元することによって活性化されたシステインスルフヒドリル基を通じるかのいずれかで、抗体において行われ得る。例えば、Ｔａｎａｋａ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ ５７９：２０９２－２０９６，２００５、及びＧｅｎｔｌｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍ．１５：６５８－６６３，２００４を参照されたい。定義された化学量論での特異的薬物コンジュゲーションのための抗体の特定の部位で操作された反応性システイン残基もまた、記載されている。例えば、Ｊｕｎｕｔｕｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２６：９２５－９３２，２００８を参照されたい。トランスグルタミナーゼ及びアミン（例えば、反応性アミンを含むか、またはそれに結合した細胞傷害性剤）の存在下でのポリペプチド操作によって反応性（すなわち、アシルドナーとして共有結合を形成する能力）となったアシルドナーグルタミン含有タグまたは内因性グルタミンを使用するコンジュゲーションもまた、その各々がその全体の参照により本明細書に組み込まれる国際出願第ＷＯ２０１２／０５９８８２号及び同第ＷＯ２０１５／０１５４４８号においても記載される。

【０２３９】

いくつかの態様では、ＣＤＣＰ１　ＡＤＣは、抗ＣＤＣＰ１抗体定常ドメインに操作された１つ以上の反応性システイン残基を通じて、リンカー－ペイロード部分の部位特異的コンジュゲーションを使用して生成され得る（例えば、その各々がその全体の参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１３／０９３８０９、ＵＳ２０１４／０１２７２１１、ＵＳ２０１７／０２１６４５２及びＷＯ２０１７／０９３８４４を参照されたい）。抗ＣＤＣＰ１抗体重鎖の１つ以上のアミノ酸残基は、薬物またはペイロードへのコンジュゲーションの目的のために、システイン残基などの別のアミノ酸に置換され得る。一態様では、本発明は、抗ＣＤＣＰ１抗体またはその抗原結合断片を提供し、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って、位置：１１８（Ｋａｂａｔに従って１１４）、２４６、２４９、２６５、２６７、２７０、２７６、２７８、２８３、２９０、２９２、２９３、

２９４、３００、３０２、３０３、３１４、３１５、３１８、３２０、３２７、３３２、３３３、３３４、３３６、３４５、３４７、３５４、３５５、３５８、３６０、３６２、３７０、３７３、３７５、３７６、３７８、３８０、３８２、３８６、３８８、３９０、３９２、３９３、４０１、４０４、４１１、４１３、４１４、４１６、４１８、４１９、４２１、４２８、４３１、４３２、４３７、４３８、４３９、４４３もしくは４４４、またはそれらの任意の組み合わせ）で操作されたシステイン残基を含む抗体重鎖定常領域を含む。特に、位置１１８（Ｋａｂａｔに従って１１４）、２９０、３３４、３４７、３７３、３７５、３８０、３８８、３９２、４２１、４４３、またはそれらの任意の組み合わせが、使用され得る。追加のシステイン置換が、導入され得る。

【０２４０】

別の態様では、本発明は、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って、２９０位で操作されたシステイン残基（Ｋ２９０Ｃ）を含む重鎖定常ドメインを含む、抗ＣＤＣＰ１抗体またはその抗原結合断片を提供する。

【０２４１】

抗ＣＤＣＰ１抗体軽鎖定常ドメインの１つ以上のアミノ酸残基は、薬物またはペイロードへのコンジュゲーションの目的で、システイン残基などの別のアミノ酸に置換され得る（例えば、その各々がその全体の参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１３／０９３８０９、ＵＳ２０１４／０１２７２１１、ＵＳ２０１７／０２１６４５２及びＷＯ２０１７／０９３８４４を参照されたい）。一態様では、本発明は、Ｋａｂａｔの番号付けに従って、位置１１０、１１１、１２５、１４９、１５５、１５８、１６１、１８３、１８５、１８８、１８９、１９１、１９７、２０５、２０７、２０８もしくは２１０またはそれらの任意の組み合わせで操作されたシステイン残基を含む抗体軽鎖定常領域を含む、抗ＣＤＣＰ１抗体またはその抗原結合断片を提供する。追加のシステイン置換が、導入され得る。

【０２４２】

別の態様では、本発明は、Ｋａｂａｔの番号付けに従って、１８３位で操作されたシステイン残基（κＫ１８３Ｃ）を含む軽鎖定常ドメインを含む抗ＣＤＣＰ１抗体またはその抗原結合断片を提供する。

【０２４３】

いくつかの態様では、本発明は、部位特異的コンジュゲーションのための操作されたシステイン残基を含む重鎖及び／または軽鎖定常領域を有する抗体あるいは抗原結合断片を含む抗体薬物コンジュゲートを提供する。いくつかの態様では、抗体薬物コンジュゲートは、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って、２９０位で操作されたシステイン残基（Ｋ２９０Ｃ）を含む重鎖定常領域を有する。いくつかの態様では、抗体薬物コンジュゲートは、Ｋａｂａｔの番号付けに従って、１８３位で操作されたシステイン残基（κＫ１８３Ｃ）を含む軽鎖定常領域を有する。いくつかの態様では、抗体薬物コンジュゲートは、ＫａｂａｔのＥＵインデックスの番号付けに従って、２９０位で操作されたシステイン残基（Ｋ２９０Ｃ）を含む重鎖定常領域を有し、軽鎖定常領域は、Ｋａｂａｔの番号付けに従って、１８３位で操作されたシステイン残基（κＫ１８３Ｃ）を含む。

【０２４４】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１９、３３、または４２のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【０２４５】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２１、３４、または３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なア

ミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０２４６】
いくつかの実施形態では、Ｅ４６～Ｅ５６のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４または３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０２４７】
いくつかの実施形態では、Ｅ４６～Ｅ５７のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０２４８】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０２４９】
いくつかの実施形態では、Ｅ４６～Ｅ５６のいずれか１つに記載の単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号４２のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０２５０】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号２１のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。
【０２５１】
別の態様では、ＣＤＣＰ１　ＡＤＣは、抗ＣＤＣＰ１抗体定常領域において反応性となった１つ以上の操作されたアシルドナーグルタミン含有タグまたは内因性グルタミン残基を通じて、部位特異的コンジュゲーション技術を使用して生成され得る。アシルドナーグルタミン含有タグまたはグルタミン残基を介した部位特異的コンジュゲーションのための抗体を調製する方法は、その各々がその全体の参照により本明細書に組み込まれる、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１２／０５９８８２号及び同第ＷＯ２０１５／０１５４４８号に記載される。
【０２５２】
いくつかの態様では、アシルドナーグルタミン含有タグは、少なくとも１つのグルタミン（Ｑ）を含み、重鎖及び／または軽鎖（すなわち、Ｎ末端、Ｃ末端、または内部）の特定の位置に結合し得る。別の態様では、アシルドナーグルタミン含有タグは、ＬＬＱＧ（配列番号９１）から選択されるアミノ酸配列を含み得る。いくつかの態様では、アシルドナーグルタミン含有タグは、重鎖及び／または軽鎖（すなわち、Ｎ末端、Ｃ末端、または内部）の特定の位置に挿入される。いくつかの態様では、抗ＣＤＣＰ１抗体は、重鎖のＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って、１３５位の後かつ１３６位の前に挿入されるアミノ酸配列ＬＬＱＧ（配列番号９１）を有するアシルグルタミン含有タグを含み得る。
【０２５３】
いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って、Ｎ２９７Ａ及びＫ２２２Ｒからなる群から選択される１つ以上の置換を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って、Ｎ２９７Ａ及びＫ２２２Ｒの両方の置換を含む。
【０２５４】
いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５、３５、または４３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なく

とも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖を含む。

【０２５５】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号１７、３２、または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２５６】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３５のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２５７】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２５８】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２５９】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号４３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２６０】

いくつかの実施形態では、単離された抗体またはその抗原結合断片は、配列番号２５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号１７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。

【０２６１】

核酸、ベクター及び宿主細胞

本発明はまた、本明細書に記載される抗体断片及び修飾された抗体を含む、抗体のうちのいずれかをコードするポリヌクレオチドを提供する。本発明はまた、本明細書に記載されるポリヌクレオチドのうちのいずれかを作製する方法を提供する。ポリヌクレオチドは、当該技術分野で既知の手順によって作製及び発現され得る。

【０２６２】

所望の抗体、定義された抗体断片、またはその抗原結合断片、及びかかる抗体またはその断片をコードする核酸の配列は、標準的配列決定技法を使用して決定され得る。所望の抗体、定義された抗体断片、またはそれらの抗原結合断片をコードする核酸配列は、組換え産生及び特徴付けのために様々なベクター（クローニング及び発現ベクターなど）に挿入され得る。重鎖、定義された抗体断片、または重鎖の抗原結合断片をコードする核酸、及び軽鎖、定義された抗体断片、または軽鎖の抗原結合断片をコードする核酸は、同じベクター、または異なるベクターにクローニングされ得る。

【０２６３】

一態様では、本発明は、以下のＣＤＣＰ１抗体及びそれらの抗原結合断片のうちのいずれかのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを提供する：ＣＰ１３Ｅ１０、ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ

１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１、抗体２３、抗体２４及び抗体７６。上記のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドは、本明細書に開示されるような本発明の抗体またはその抗原結合断片のアミノ酸配列に対して、少なくとも９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％及び好ましくはそれ以上同一なアミノ酸配列をコードする。

【０２６４】

一態様では、本発明は、ＣＰ１３Ｅ１０、ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１、抗体２３、抗体２４及び抗体７６からなる群から選択される抗体と実質的に同じエピトープに結合する、抗体またはその抗原結合断片のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを提供する。

【０２６５】

一態様では、本発明は、ＣＰ１３Ｅ１０、ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１、抗体２３、抗体２４及び抗体７６からなる群から選択される抗体とＣＸＣＲ５への結合について競合する、抗体またはその抗原結合断片のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを提供する。

【０２６６】

本発明は、配列番号１～７４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む１つ以上のタンパク質をコードするポリヌクレオチドを提供する。

【０２６７】

いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号７５のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号７６のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号７７のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号７８のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号７９のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号８０のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号８１のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号８２のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号８３のヌクレオチド配列を含む。いくつかの実施形態では、単離された核酸分子は、配列番号８４のヌクレオチド配列を含む。

【０２６８】

本発明は、配列番号７５～８４のうちの１つ以上に定められるような１つ以上の核酸分

子を含む細胞を提供する。本発明は、配列番号８５及び８６に定められるような１つ以上の核酸分子を含む細胞を提供する。

【０２６９】

別の態様では、本発明は、抗ＣＤＣＰ１抗体をコードするポリヌクレオチド及びそのバリアントを提供し、かかるバリアントポリヌクレオチドは、本明細書に開示される特定の核酸配列のうちのいずれかに対して、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも８７％、少なくとも８９％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％の配列同一性を共有する。これらの量は限定することを意味するものではなく、記載されたパーセンテージ間の増分は、本開示の一部として具体的に想定されている。

【０２７０】

本発明は、本明細書に記載される核酸分子によってコードされるポリペプチドを提供する。

【０２７１】

一実施形態では、ＶＨ及びＶＬドメイン、またはそれらの抗原結合断片、または完全長ＨＣもしくはＬＣは、別個のポリヌクレオチドによってコードされる。代替的には、ＶＨ及びＶＬの両方、またはそれらの抗原結合断片、またはＨＣ及びＬＣは、単一のポリヌクレオチドによってコードされる。

【０２７２】

かかる配列に相補的なポリヌクレオチドもまた、本開示に包含される。ポリヌクレオチドは、一本鎖（コーディングまたはアンチセンス）または二本鎖であり得、ＤＮＡ（ゲノム、ｃＤＮＡまたは合成）またはＲＮＡ分子であり得る。ＲＮＡ分子は、イントロンを含みＤＮＡ分子に１対１方式で対応するＨｎＲＮＡ分子と、イントロンを含まないｍＲＮＡ分子と、を含む。追加のコードまたは非コード配列は、本開示のポリヌクレオチド内に存在し得るが、そうである必要はなく、ポリヌクレオチドは、他の分子に連結され及び／または材料を支持し得るが、そうである必要はない。

【０２７３】

ポリヌクレオチドは、天然の配列（すなわち、抗体またはその一部をコードする内因性配列）を含み得るか、またはかかる配列のバリアントを含み得る。ポリヌクレオチドバリアントは、コードされたポリペプチドの免疫反応性が天然の免疫反応性分子に対して減少しないように、１つ以上の置換、付加、欠失及び／または挿入を含む。コードされたポリペプチドの免疫反応性に対する効果は、一般に、本明細書に記載されるように評価され得る。いくつかの実施形態では、バリアントは、天然抗体またはその一部をコードするポリヌクレオチド配列に対して、少なくとも約７０％の同一性、いくつかの実施形態では、少なくとも約８０％の同一性、いくつかの実施形態では、少なくとも約９０％の同一性、かついくつかの実施形態では、少なくとも約９５％の同一性を呈する。これらの量は限定することを意味するものではなく、記載されたパーセンテージ間の増分は、本開示の一部として具体的に想定されている。

【０２７４】

２つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列は、２つの配列におけるヌクレオチドまたはアミノ酸の配列が、以下に記載されるように最大の対応関係のために整列する際に同じである場合、「同一」であると言われる。２つの配列間の比較は、典型的には、比較ウィンドウ上で配列を比較して、配列類似性の局所領域を特定及び比較することによって実行される。本明細書で使用される場合、「比較ウィンドウ」は、少なくとも約２０の近接位置、通常３０～約７５、または４０～約５０のセグメントを指し、配列は、２つの配列が最適に整列する後で同じ数の近接位置の参照配列と比較され得る。

【０２７５】

比較のための配列の最適なアラインメントは、デフォルトのパラメータを使用する、生物情報学ソフトウェアのＬａｓｅｒｇｅｎｅ（登録商標）スイート（ＤＮＡＳＴＡＲ（登

録商標），Ｉｎｃ．，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）におけるＭｅｇＡｌｉｇｎ（登録商標）プログラムを使用して行われ得る。このプログラムは、以下の参照文献に記載されるいくつかのアラインメントスキームを具体化する：Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．，１９７８，Ａ ｍｏｄｅｌ ｏｆ ｅｖｏｌｕｔｉｏｎａｒｙ ｃｈａｎｇｅ ｉｎ ｐｒｏｔｅｉｎｓ － Ｍａｔｒｉｃｅｓ ｆｏｒ ｄｅｔｅｃｔｉｎｇ ｄｉｓｔａｎｔ ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐｓ．Ｉｎ Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．（ｅｄ．）Ａｔｌａｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ ＤＣ Ｖｏｌ．５，Ｓｕｐｐｌ．３，ｐｐ．３４５－３５８、Ｈｅｉｎ Ｊ．，１９９０，Ｕｎｉｆｉｅｄ Ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ａｎｄ Ｐｈｙｌｏｇｅｎｅｓ ｐｐ．６２６－６４５ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ｖｏｌ．１８３，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ、Ｈｉｇｇｉｎｓ，Ｄ．Ｇ．ａｎｄ Ｓｈａｒｐ，Ｐ．Ｍ．，１９８９，ＣＡＢＩＯＳ ５：１５１－１５３、Ｍｙｅｒｓ，Ｅ．Ｗ．ａｎｄ Ｍｕｌｌｅｒ Ｗ．，１９８８，ＣＡＢＩＯＳ ４：１１－１７、Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，Ｅ．Ｄ．，１９７１，Ｃｏｍｂ．Ｔｈｅｏｒ．１１：１０５、Ｓａｎｔｏｕ，Ｎ．，Ｎｅｓ，Ｍ．，１９８７，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｅｖｏｌ．４：４０６－４２５、Ｓｎｅａｔｈ，Ｐ．Ｈ．Ａ．ａｎｄ Ｓｏｋａｌ，Ｒ．Ｒ．，１９７３，Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ ｔｈｅ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ，Ｆｒｅｅｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，ＣＡ、Ｗｉｌｂｕｒ，Ｗ．Ｊ．ａｎｄ Ｌｉｐｍａｎ，Ｄ．Ｊ．，１９８３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８０：７２６－７３０。

【０２７６】

いくつかの実施形態では、「配列同一性のパーセンテージ」は、少なくとも２０の位置の比較のウィンドウにわたって２つの最適に整列した配列を比較することによって決定され、比較ウィンドウにおけるポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の部分は、２つの配列の最適なアラインメントのための参照配列（付加または削除を含まない）と比較して、２０パーセント以下、通常、５～１５パーセント、または１０～１２パーセントの付加または欠失（すなわち、ギャップ）を含み得る。パーセンテージは、同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が両方の配列において生じる位置の数を決定して一致した位置の数を得ることと、一致した位置の数を参照配列における位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で除することと、結果に１００を乗じて配列同一性のパーセンテージを得ることと、によって計算される。

【０２７７】

バリアントもまた、または代替的に、天然遺伝子、またはその一部もしくは補体に対して実質的に相同であり得る。かかるポリヌクレオチドバリアントは、適度にストリンジェントな条件下で、天然抗体（または相補的配列）をコードする天然に生じるＤＮＡ配列にハイブリダイズすることができる。

【０２７８】

好適な「適度にストリンジェントな条件」は、５倍ＳＳＣ、０．５％ＳＤＳ、１．０ｍＭ ＥＤＴＡ（ｐＨ８．０）の溶液中で予備洗浄すること、５０℃～６５℃、５倍ＳＳＣで一晩ハイブリダイズすること、その後に続く０．１％ＳＤＳを含有する２倍、０．５倍、及び０．２倍ＳＳＣの各々で６５℃で２０分間２回洗浄することを含む。

【０２７９】

本明細書で使用される場合、「非常にストリンジェントな条件」または「高ストリンジェンシー条件」は、（１）洗浄のための低イオン強度及び高温、例えば、５０℃で０．０１５Ｍ塩化ナトリウム／０．００１５Ｍクエン酸ナトリウム／０．１％ドデシル硫酸ナトリウムを用いるか、（２）ハイブリダイゼーション中に、ホルムアミド、例えば、４２℃で０．１％ウシ血清アルブミン／０．１％フィコール／０．１％ポリビニルピロリドン／７５０ｍＭ塩化ナトリウム、７５ｍＭクエン酸ナトリウムを有するｐＨ６．５での５０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液を有する５０％（ｖ／ｖ）ホルムアミドなどの変性剤を用いる

か、または（３）０．２倍ＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）中４２℃での洗浄、５５℃での５０％ホルムアミド、その後に５５℃でのＥＤＴＡを含有する０．１倍ＳＳＣからなる高ストリンジェンシー洗浄を伴う、４２℃での５０％ホルムアミド、５倍ＳＳＣ（０．７５Ｍ　ＮａＣｌ、０．０７５Ｍクエン酸ナトリウム）、５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％ピロリン酸ナトリウム、５倍デンハート液、超音波処理されたサケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍＬ）、０．１％ＳＤＳ、及び１０％デキストラン硫酸を用いるものである。当業者であれば、プローブ長さなどの因子を調整するために必要に応じて温度、イオン強度などを調整する方法を認識するであろう。

【０２８０】

遺伝暗号の縮重の結果として、本明細書に記載されるようなポリペプチドをコードする多くのヌクレオチド配列が存在することは、当業者によって理解されるであろう。これらのポリヌクレオチドのいくつかは、任意の天然遺伝子のヌクレオチド配列に対する最小の相同性を有する。それにもかかわらず、コドン使用の違いにより異なるポリヌクレオチドが、本開示によって具体的に企図される。さらに、本明細書で提供されるポリヌクレオチド配列を含む遺伝子の対立遺伝子は、本開示の範囲内にある。対立遺伝子は、欠失、付加及び／またはヌクレオチドの置換などの１つ以上の変異の結果として改変されている内因性遺伝子である。得られたｍＲＮＡ及びタンパク質は、改変された構造または機能を有し得るが、そうである必要はない。対立遺伝子は、標準的技法（ハイブリダイゼーション、増幅及び／またはデータベース配列比較など）を使用して特定され得る。

【０２８１】

本開示のポリヌクレオチドは、化学合成、組換え法、またはＰＣＲを使用して取得され得る。化学的ポリヌクレオチド合成の方法は、当該技術分野で周知であり、本明細書で詳細に記載される必要はない。当業者は、本明細書で提供される配列及び商業的ＤＮＡ合成機を使用して、所望のＤＮＡ配列を生産することができる。

【０２８２】

組換え法を使用してポリヌクレオチドを調製するために、所望の配列を含むポリヌクレオチドは好適なベクターに挿入され得、次に、ベクターは、本明細書でさらに考察されるように、複製及び増幅のために好適な宿主細胞に導入され得る。ポリヌクレオチドは、当該技術分野で既知の任意の手段によって宿主細胞に挿入され得る。細胞は、直接取り込み、エンドサイトーシス、トランスフェクション、Ｆ接合またはエレクトロポレーションによって外因性ポリヌクレオチドを導入することによって形質転換される。一度導入されると、外因性ポリヌクレオチドは、非組み込みベクター（プラスミドなど）として細胞内に維持されるか、または宿主細胞ゲノムに組み込まれ得る。そのように増幅されたポリヌクレオチドは、当該技術分野で周知の方法によって宿主細胞から単離され得る。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９を参照されたい。

【０２８３】

代替的には、ＰＣＲは、ＤＮＡ配列の複製を可能にする。ＰＣＲ技術は当該技術分野で周知であり、米国特許第４，６８３，１９５号、同第４，８００，１５９号、同第４，７５４，０６５号及び同第４，６８３，２０２号、同様にＰＣＲ：Ｔｈｅ　Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ　Ｃｈａｉｎ　Ｒｅａｃｔｉｏｎ，Ｍｕｌｌｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｂｉｒｋａｕｓｗｅｒ　Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｓｔｏｎ，１９９４に記載される。

【０２８４】

ＲＮＡは、単離されたＤＮＡを適切なベクターにおいて使用し、好適な宿主細胞にそれを挿入することによって取得され得る。細胞が複製し、ＤＮＡがＲＮＡに転写される際、次いで、ＲＮＡは、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，１９８９に定められるような当業者に周知の方法を使用して、単離され得る。

【０２８５】

いくつかの実施形態では、第１のベクターは、重鎖をコードするポリヌクレオチドを含み、第２のベクターは、軽鎖をコードするポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、第１のベクター及び第２のベクターは、同様の量（同様のモル量または同様の質量

量など）で宿主細胞にトランスフェクトされる。いくつかの実施形態では、第１のベクター及び第２のベクターの５：１～１：５の間のモルまたは質量比が、宿主細胞にトランスフェクトされる。いくつかの実施形態では、重鎖をコードするベクター及び軽鎖をコードするベクターに対する１：１～１：５の質量比が、使用される。いくつかの実施形態では、重鎖をコードするベクター及び軽鎖をコードするベクターに対する１：２の質量比が、使用される。

【０２８６】

ベクター

いくつかの実施形態では、ＣＨＯもしくはＣＨＯ由来細胞中、またはＮＳＯ細胞中のポリペプチドの発現のために最適化されているベクターが、選択される。例示的なベクターは、例えば、Ｒｕｎｎｉｎｇ Ｄｅｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｐｒｏｇ．２０：８８０－８８９（２００４）に記載される。

【０２８７】

好適なクローニング及び発現ベクターは、プロモーター、エンハンサー、及び他の転写制御性配列などの多様な成分を含むことができる。ベクターはまた、抗体可変ドメインの異なるベクターへのその後のクローニングを可能にするように構築され得る。好適なクローニングベクターは、標準的技法に従って構築され得るか、または当該技術分野で利用可能な多数のクローニングベクターから選択され得る。選択されるクローニングベクターは使用するように意図された宿主細胞によって異なり得る一方で、有用なクローニングベクターは、一般に、自己複製する能力を有し、特定の制限エンドヌクレアーゼに対する単一の標的を有し得、及び／またはベクターを含むクローンを選択する際に使用され得るマーカーに対する遺伝子を担持し得る。好適な例は、プラスミド及び細菌ウイルス、例えば、ｐＵＣ１８、ｐＵＣ１９、Ｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（例えば、ｐＢＳ ＳＫ＋）及びその誘導体、ｍｐ１８、ｍｐ１９、ｐＢＲ３２２、ｐＭＢ９、ＣｏｌＥ１、ｐＣＲ１、ＲＰ４、ファージＤＮＡ、ならびにｐＳＡ３及びｐＡＴ２８などのシャトルベクターを含む。これら及び多くの他のクローニングベクターは、ＢｉｏＲａｄ、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎなどの商業的販売者から入手可能である。発現ベクターが、さらに提供される。発現ベクターは、一般に、本開示に従うポリヌクレオチドを含有する複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソームとして、または染色体ＤＮＡの不可欠な部分としてのいずれかで、宿主細胞中で複製可能でなければならないことが示唆されている。好適な発現ベクターは、プラスミド、アデノウイルスを含むウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、コスミド、及びＰＣＴ公開番号第ＷＯ８７／０４４６２号に開示される発現ベクター（複数可）を含むが、これらに限定されない。ベクター成分は、一般に、シグナル配列、複製起点、１つ以上のマーカー遺伝子、好適な転写制御要素（プロモーター、エンハンサー及びターミネーター）のうちの１つ以上を含むが、これらに限定されない。発現（すなわち、翻訳）のために、リボソーム結合部位、翻訳開始部位、及び終止コドンなどの１つ以上の翻訳制御要素もまた、通常必要とされる。

【０２８８】

目的のポリヌクレオチドを含むベクター及び／またはポリヌクレオチド自体は、エレクトロポレーション、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、ＤＥＡＥ－デキストラン、または他の物質を用いるトランスフェクション、微小発射体発射、リポフェクション、及び感染（例えば、ベクターがワクシニアウイルスなどの感染性媒介物である場合）を含む、いくつもの適切な手段のうちのいずれかによって宿主細胞に導入され得る。ベクターまたはポリヌクレオチドを導入する選択は、しばしば宿主細胞の特徴に依存するであろう。

【０２８９】

宿主細胞

抗体またはその抗原結合断片は、好適な宿主細胞を使用して組換え的に作製され得る。抗体またはその抗原結合断片をコードする核酸は、発現ベクターにクローン化され得、次

いで、Ｅ．ｃｏｌｉ細胞、酵母細胞、昆虫細胞、サルＣＯＳ細胞、またはチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、または骨髄腫細胞などの宿主細胞に導入され得、細胞は、組換え宿主細胞中で抗体の合成を取得するために、他の点で免疫グロブリンタンパク質を産生しない。好ましい宿主細胞は、当該技術分野で周知の多くの細胞の中で、ＣＨＯ細胞、ヒト胎児腎臓ＨＥＫ－２９３細胞、またはＳｐ２．０細胞を含む。抗体断片は、完全長抗体のタンパク質分解もしくは他の分解によって、組換え法によって、または化学合成によって産生され得る。抗体のポリペプチド断片、特に約５０アミノ酸までのより短いポリペプチドは、化学合成によって簡便に作成され得る。タンパク質及びペプチドに対する化学合成の方法は、当該技術分野で既知であり、市販されている。

【０２９０】

様々な実施形態では、抗ＣＤＣＰ１重鎖及び／または抗ＣＤＣＰ１軽鎖は、細菌細胞などの原核細胞中で、または真菌細胞（酵母など）、植物細胞、昆虫細胞、及び哺乳動物細胞などの真核細胞中で発現され得る。かかる発現は、例えば、当該技術分野で既知の手順に従って行われ得る。ポリペプチドを発現させるために使用され得る例示的な真核細胞は、ＣＯＳ７細胞を含むＣＯＳ細胞、２９３－６Ｅ細胞を含む２９３細胞、ＣＨＯ－Ｓ、ＤＧ４４、Ｌｅｃｌ３　ＣＨＯ細胞、及びＦＵＴ８　ＣＨＯ細胞を含むＣＨＯ細胞、ＰＥＲ．Ｃ６（登録商標）細胞（Ｃｒｕｃｅｌｌ）、ならびにＮＳＯ細胞を含むが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、抗ＣＤＣＰ１重鎖及び／または抗ＣＤＣＰ１軽鎖は、酵母において発現され得る。例えば、米国公開第ＵＳ２００６／０２７００４５Ａ１号を参照されたい。いくつかの実施形態では、特定の真核生物宿主細胞は、抗ＣＤＣＰ１重鎖及び／または抗ＣＤＣＰ１軽鎖に対して所望の翻訳後修飾を行うその能力に基づいて選択される。例えば、いくつかの実施形態では、ＣＨＯ細胞は、２９３細胞中で産生された同じポリペプチドよりも高いシアリル化のレベルを有するポリペプチドを産生する。

【０２９１】

所望の宿主細胞への１つ以上の核酸の導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストラン媒介性トランスフェクション、カチオン性脂質媒介性トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染などを含むがこれらに限定されない任意の方法によって達成され得る。非限定的な例示的方法は、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，３ｒｄ　ｅｄ．Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ（２００１）に記載される。核酸は、任意の好適な方法に従って、所望の宿主細胞に一時的または安定的にトランスフェクトされ得る。

【０２９２】

抗ＣＸＣＲ５抗体は、任意の好適な方法によって精製され得る。かかる方法は、親和性マトリックスまたは疎水性相互作用クロマトグラフィーの使用を含むが、これらに限定されない。好適な親和性リガンドは、ＣＤＣＰ１　ＥＣＤ及び抗体定常領域に結合するリガンドを含む。例えば、プロテインＡ、プロテインＧ、プロテインＡ／Ｇ、または、抗体親和性カラムは、定常領域に結合し、かつ抗ＣＸＣＲ５抗体を精製するために使用され得る。疎水性相互作用クロマトグラフィー、例えば、ブチルまたはフェニルカラムもまた、いくつかのポリペプチドを精製するのに好適であり得る。ポリペプチドを精製する多くの方法は、当該技術分野で既知である。

【０２９３】

いくつかの実施形態では、抗ＣＤＣＰ１抗体は、無細胞系において産生される。非限定的な例示的な細胞不含系は、例えば、Ｓｉｔａｒａｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４９８：２２９－４４（２００９）、Ｓｐｉｒｉｎ，Ｔｒｅｎｄｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２２：５３８－４５（２００４）、Ｅｎｄｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ａｄｖ．２１：６９５－７１３（２００３）に記載される。

【０２９４】

薬物

開示されたＣＤＣＰ１　ＡＤＣの調製に有用な薬物は、生物学的または検出可能な活性

を有する任意の物質、例えば、治療剤、検出可能な標識、結合剤など、及びインビボで活性剤に代謝されるプロドラッグを含む。薬物はまた、薬物が本発明の抗体とのコンジュゲーションを可能にするように官能化されている薬物誘導体であり得る。

【０２９５】

治療剤は、細胞傷害性、細胞増殖抑制性、及び／またはがん細胞または活性化した免疫細胞に対する免疫調節効果を発揮する薬剤である。治療剤の例は、細胞傷害性剤、化学療法剤、細胞増殖抑制剤、及び免疫調節剤を含む。細胞傷害性効果は、標的細胞（複数可）の枯渇、排除及び／または殺滅を指す。細胞傷害性剤は、細胞に対する細胞傷害性及び／または細胞増殖抑制効果を有する薬剤を指す。細胞増殖抑制効果は、細胞増殖の阻害を指す。細胞増殖抑制剤は、細胞に細胞増殖抑制効果をもたらし、それによって細胞の特定のサブセットの増殖及び／または拡張を阻害する薬剤を指す。「化学療法剤」は、がんの治療において有用な化学化合物である薬剤を指す。免疫調節剤は、サイトカイン及び／または抗体の産生を通じた免疫応答を刺激し、及び／またはＴ細胞機能を調節し、それによって別の薬剤をより効果的にすることによって、細胞のサブセット（すなわち、腫瘍細胞）の増殖を直接的もしくは間接的に阻害または低減する薬剤を指す。

【０２９６】

開示された方法に従って、（ａ）ＣＤＣＰ１に結合する抗体もしくはその抗原結合断片、（ｂ）リンカー、及び（ｃ）薬物を有するＣＤＣＰ１　ＡＤＣが、産生または生成され得る。薬物対抗体比率（ＤＡＲ）または薬物負荷は、抗体あたりにコンジュゲートしている薬物（Ｄ）分子の数を示す。抗体に結合したリンカー－薬物部分の数は、ＡＤＣの開発に好ましい任意の数であり得る。いくつかの態様では、抗体あたりのリンカー－薬物部分の数は、４である。他の態様では、抗体あたりのリンカー－薬物部分の数は、３である。別の態様では、抗体あたりのリンカー－薬物部分の数は、２である。別の態様では、抗体あたりのリンカー－薬物部分の数は、１である。他の態様では、抗体あたりのリンカー－薬物部分の数は、抗体あたり５、６、７、８、９、１０、１１、１２または１２超などの、４超のリンカー－薬物部分である。ＤＡＲは、ＵＶ分光法、質量分析法、ＥＬＩＳＡアッセイ、放射分析法、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）、電気泳動及びＨＰＬＣなどの様々な従来の手段によって測定され得る。

【０２９７】

細胞傷害性剤の例は、アントラサイクリン、アウリスタチン、ＣＣ－１０６５、ドラスタチン、デュオカルマイシン、エンジイン、ゲルダナマイシン、メイタンシン、ピューロマイシン、タキサン、ビンカアルカロイド、ＳＮ－３８、ツブリシン、ヘミアステリン、及びそれらの立体異性体、アイソスター、類似体または誘導体を含むが、これらに限定されない。植物毒素、他の生物活性タンパク質、酵素（すなわち、ＡＤＥＰＴ）、放射性同位元素、光増感剤（すなわち、光線力学療法用）もまた、使用され得る。

【０２９８】

アントラサイクリンは、細菌Ｓｔｒｅｐｏｍｙｃｅｓに由来し、白血病、リンパ腫、乳癌、子宮癌、卵巣癌、及び肺癌などの幅広いがんの治療するために使用されてきた。例示的なアントラサイクリンは、ダウノルビシン、ドキソルビシン（すなわち、アドリアマイシン）、エピルビシン、イダルビシン、バルルビシン、及びミトキサントロンを含むが、これらに限定されない。

【０２９９】

ドラスタチン及びそれらのペプチド類似体及び誘導体、アウリスタチンは、抗がん及び抗真菌活性を有することが示されている非常に強力な有糸分裂阻害剤である。例えば、米国特許第５，６６３，１４９号及びＰｅｔｔｉｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ　Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４２：２９６１－２９６５，（１９９８）を参照されたい。例示的なドラスタチン及びアウリスタチンは、ドラスタチン１０、アウリスタチンＥ、アウリスタチンＥＢ（ＡＥＢ）、アウリスタチンＥＦＰ（ＡＥＦＰ）、ＭＭＡＤ（モノメチルアウリスタチンＤまたはモノメチルドラスタチン１０）、ＭＭＡＦ（モノメチルアウリスタチンＦまたはＮ－メチルバリン－バリン－ドライソロイイン－ドラプロイン

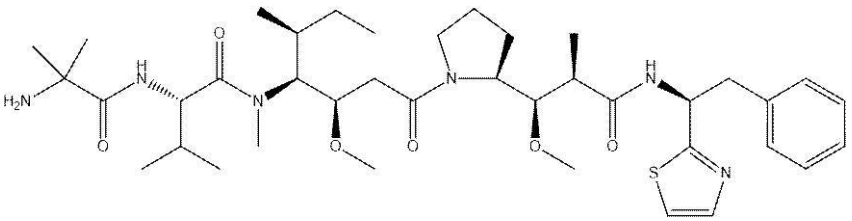
－フェニルアラニン）、ＭＭＡＥ（モノメチルアウリスタチンＥまたはＮ－メチルバリン－バリン－ドライソロイイン－ドラプロイン－ノルエフェドリン）、５－ベンゾイル吉草酸－ＡＥエステル（ＡＥＶＢ）を含むが、これらに限定されない。

【０３００】

いくつかの態様では、薬物／ペイロードは、アウリスタチンである。アウリスタチンは、チューブリン重合の阻害を通じて有糸分裂中の微小管の形成を阻害することによって細胞増殖を阻害する。ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１３／０７２８１３号は、その全体の参照により本明細書に組み込まれ、本発明のＣＤＣＰ１　ＡＤＣにおいて有用であるアウリスタチンを開示し、アウリスタチンを産生する方法を提供する。アウリスタチンの非限定的な例は、構造

【０３０１】

【化２】

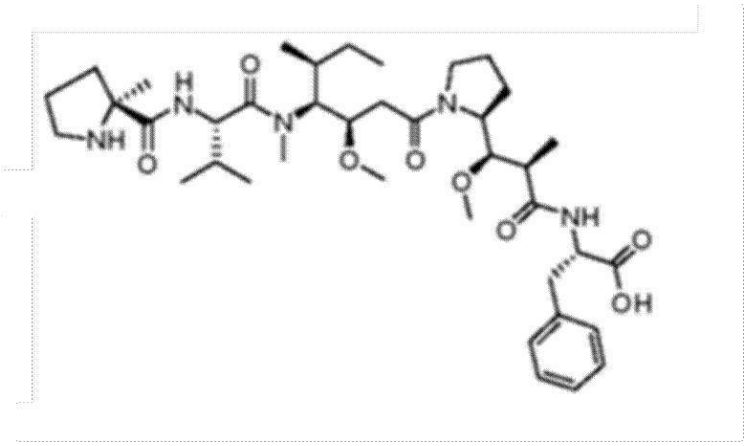


【０３０２】

（２－メチルアラニル－／Ｖ－［（３　４Ｓ，５Ｓ）－３－メトキシ－１－｛（２Ｓ）－２－［（１　２）－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソ－３－｛［（１　Ｓ）－２－フェニル－１－（１，３－チアゾール－２－イル）エチル］アミノ｝プロピル］ピロリジン－１－イル｝－５－メチル－１－オキソヘプタン－４－イル］－／Ｖ－メチル－Ｌ－バリンアミド）、３３７７（Ｎ，２－ジメチルアラニル－Ｎ－｛（１　Ｓ，２Ｒ）－４－｛（２Ｓ）－２－［（１　Ｒ，２Ｒ）－３－｛［（１　Ｓ）－１－カルボキシル－２－フェニルエチル］アミノ｝－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソプロピル］ピロリジン－１－イル｝－２－メトキシ－１－［（１　Ｓ）－１　－メチルプロピル］－４－オキソブチル｝－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミド）を有するペイロード０１０１（ＷＯ２０１３／０７２８１３において＃５４として命名される）、及び構造

【０３０３】

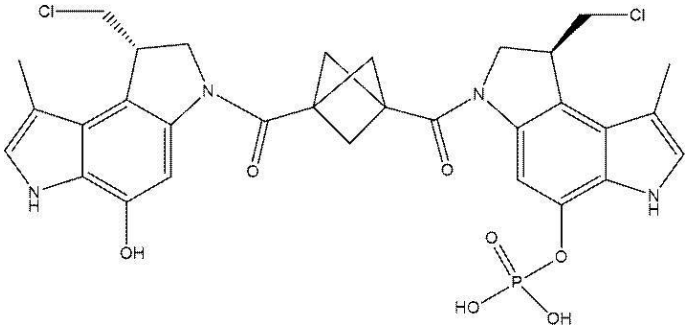
【化３】



【０３０４】

（２－メチル－Ｌ－ｐｒｏｌｙ－Ｎ－［（３Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－１－｛（２Ｓ）－２－［（１　Ｒ，２Ｒ）－３－｛［（１　Ｓ）－１－カルボキシ－２－フェニルエチル］アミノ｝－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソプロピル］ピロリジン－１－イル｝－３－メトキシ－５－メチル－１－オキソヘプタン－４－イル］－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミド）

を有するペイロード０１３１（ＷＯ２０１３／０７２８１３において＃１１８として命名される）を含む。
デュオカルマイシン及びＣＣ－１０６５は、細胞傷害能力を有するＤＮＡアルキル化剤として作用するＣＰＩベースの単量体である。Ｂｏｇｅｒ ａｎｄ Ｊｏｈｎｓｏｎ，ＰＮＡＳ ９２：３６４２－３６４９，１９９５を参照されたい。例示的なドラスタチンは、（＋）－ドカルマイシンＡ及び（＋）－デュオカルマイシンＳＡ及び（＋）－ＣＣ－１０６５を含むが、これらに限定されない。
【０３０５】
いくつかの態様では、薬物／ペイロードは、ＣＰＩまたはＣＢＩ二量体である。ＣＰＩ二量体は、鎖間ＤＮＡ架橋及び強力な細胞傷害性を誘導する。ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１５／１１０９３５号は、その全体の参照により本明細書に組み込まれ、本発明のＣＤＣＰ１ ＡＤＣを生成するのに有用であるＣＰＩ及びＣＢＩ二量体を開示し、ＣＰＩ及びＣＢＩ二量体を産生する方法を提供する。ＣＰＩ二量体の非限定的な例は、以下の構造を有するペイロードＣＰＩ－８３１４を含む。
【０３０６】
【化４】



【０３０７】
エンジインは、９員環及び１０員環のうちのいずれか、または共役三重－二重－三重結合の環系の存在によって特徴付けられる抗腫瘍細菌産物のクラスである。例示的なエンジインは、カリケアマイシン、エスペラミシン、及びダイネミシンを含むが、これらに限定されない。ＬＬ－Ｅ３３２８８複合体、例えば、β－カリケアマイシン、γ－カリケアマイシンまたはＮ－アセチル－γ－カリケアマイシン（ガンマ－カリケアマイシン（γ１））とも呼ばれるカリケアマイシンは、土壌生物Ｍｉｃｒｏｍｏｎｏｓｐｏｒａ ｅｃｈｉｎｏｓｐｏｒａ ｓｓｐ．ｃａｌｉｃｈｅｎｓｉｓからの天然産物として最初に単離されたエンジイン抗生物質であり（Ｚｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７；２４０（４８５６）：１１９８－１２０１，１９８８）、それは、二本鎖ＤＮＡ切断を生成し、その後、標的細胞中でアポトーシスを誘導する（Ｚｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７；２４０（４８５６）：１１９８－１２０１，１９８８、Ｎｉｃｏｌａｏｕ ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．Ｓｅｐ；１（１）：５７－６６，１９９４、Ｐｒｏｋｏｐ ｅｔ ａｌ．，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ ２２：９１０７－９１２０，２００３）。ジスルフィド類似体は、Ｎ－アセチル－γ－カリケアマイシンジメチルヒドラジドである。
【０３０８】
ゲルダナマイシンは、Ｈｓｐ９０（熱ショックタンパク質９０）に結合するベンゾキノンアンサマイシン抗生物質であり、抗腫瘍薬として使用されてきた。例示的なゲルダナマイシンは、１７－ＡＡＧ（１７－Ｎ－アリルアミノ－１７－デメトキシゲルダナマイシン）及び１７－ＤＭＡＧ（１７－ジメチルアミノエチルアミノ－１７－デメトキシゲルダナマイシン）を含むが、これらに限定されない。
【０３０９】
メイタンシンまたはその誘導体メイタンシノイドは、チューブリンの重合の阻害を通じて有糸分裂中の微小管形成を阻害することによって細胞増殖を阻害する。Ｒｅｍｉｌｌａｒｄ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ １８９：１００２－１００５，１９７５を参照され

たい。例示的なメイタンシン及びメイタンシノイドは、メルタンシン（ＤＭ１）及びその誘導体、同様にアンサミトシンを含むが、これらに限定されない。

【０３１０】

タキサンは、抗チューブリン剤または有糸分裂阻害剤として作用するジテルペンである。例示的なタキサンとは、パクリタキセル（例えば、タキソール（登録商標））及びドセタキセル（タキソテール（登録商標））に限定されるものでない。

【０３１１】

ビンカアルキロイドはまた、抗チューブリン剤である。例示的なビンカアルキロイドは、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、及びビノレルビンを含むが、これらに限定されない。

【０３１２】

本発明のいくつかの態様では、薬剤は、免疫調節剤である。免疫調節剤の例は、ガンシクロビル（ｇａｎｃｙｃｌｏｖｉｅｒ）、エタネルセプト、タクロリムス、シロリムス、ボクロスポリン、シクロスポリン、ラパマイシン、シクロホスファミド、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル（ｍｙｃｏｐｈｅｎｏｌｇａｔｅ　ｍｏｆｅｔｉｌ）、メトトレキサート（ｍｅｔｈｏｔｒｅｘｔｒａｔｅ）、グルココルチコイド及びその類似体、サイトカイン、キサンチン、幹細胞増殖因子、リンホトキシン、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）、造血因子、インターロイキン（例えば、インターロイキン－１（ＩＬ－１）、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、ＩＬ－１２、ＩＬ－１８、及びＩＬ－２１）、コロニー刺激因子（例えば、顆粒球－コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）及び顆粒球マクロファージ－コロニー刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ））、インターフェロン（例えば、インターフェロン－α、－β及び－γ）、「Ｓ１因子」と命名される幹細胞増殖因子、エリスロポイエチン及びトロンボポエチン、またはそれらの組み合わせを含むが、これらに限定されない。

【０３１３】

本発明において有用な免疫調節剤はまた、腫瘍に対するホルモン作用を遮断する抗ホルモン、及びサイトカイン産生を抑制するか、自己抗原発現を下方制御するか、またはＭＨＣ抗原をマスクする免疫抑制剤を含む。代表的な抗ホルモンは、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、４（５）－イミダゾールを阻害するアロマターゼ、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ　１１７０１８、オナプリストン（ｏｎａｐｎｓｔｏｎｅ）、及びトレミフェンを含む抗エストロゲン、フルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、リュープロリド、ゴセレリンなどの抗アンドロゲン、ならびに抗副腎剤を含む。代表的な免疫抑制剤は、２－アミノ－６－アリール－５－置換ピリミジン、アザチオプリン、シクロホスファミド、ブロモクリプチン（ｂｒｏｍｏｃｒｙｐｔｉｎｅ）、ダナゾール、ダプソン、グルタルアルデヒド、ＭＨＣ抗原及びＭＨＣ断片に対する抗イディオタイプ抗体、シクロスポリンＡ、グルココルチコステロイドなどのステロイド、サイトカインまたはサイトカイン受容体アンタゴニスト（例えば、抗インターフェロン抗体、抗ＩＬ１０抗体、抗ＴＮＦα抗体、抗ＩＬ２抗体）、ストレプトキナーゼ、ＴＧＦβ、ラパマイシン、Ｔ細胞受容体、Ｔ細胞受容体断片、ならびにＴ細胞受容体抗体を含む。

【０３１４】

本発明のいくつかの態様では、薬物は、毒素、ホルモン、酵素、及び増殖因子を含むがこれらに限定されない治療用タンパク質である。

【０３１５】

毒素タンパク質（またはポリペプチド）の例は、ジフテリア（ｄｉｐｔｈｔｈｅｒｉａ）（例えば、ジフテリアＡ鎖）、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ外毒素及び内毒素、リシン（例えば、リシンＡ鎖）、アブリン（例えば、アブリンＡ鎖）、モデッシン（ｍｏｄｅｃｃｉｎ）（例えば、モデッシンＡ鎖）、アルファ－サルシン（ａｌｐｈａ－ｓａｒｃｉｎ）、Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ　ｆｏｒｄｉｉタンパク質、ジアンチンタンパク質、リボヌクレアーゼ（ＲＮａｓｅ）、ＤＮａｓｅ　Ｉ、ブドウ球菌エンテロトキシン－Ａ、ヤマゴボウ抗ウ

イルスタンパク質、ゲロニン（ｇｅｌｏｎｉｎ）、ジフテリア（ｄｉｐｈｔｈｅｒｉｎ）毒素、Ｐｈｙｔｏｌａｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａタンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ－Ｓ）、ツルレイシ阻害剤、クルシン（ｃｕｒｃｉｎ）、クロチン（ｃｒｏｔｉｎ）、サボンソウ（ｓａｐａｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ミトゲリン（ｍｉｔｏｇｅｌｌｉｎ）、レストリクトシン（ｒｅｓｔｒｉｃｔｏｃｉｎ）、フェノマイシン、エノマイシン、トリコテセン（ｔｒｉｃｏｔｈｅｃｅｎｅ）、阻害剤シスチンノット（ＩＣＫ）ペプチド（例えば、セラトトキシン（ｃｅｒａｔｏｔｏｘｉｎ））、ならびにコノトキシン（例えば、ＫＩＩＩＡまたはＳｍＩＩＩａ）を含むが、これらに限定されない。

【０３１６】

ホルモンの例は、エストロゲン、アンドロゲン、プロゲスチン及びコルチコステロイドを含むが、これらに限定されない。

【０３１７】

本発明のいくつかの態様では、薬物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのオリゴヌクレオチドである。

【０３１８】

本発明において有用な追加の薬物は、血管形成を阻害する抗血管新生剤、例えば、ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤、ＣＯＸ－２阻害剤、ＶＥＧＦ阻害剤、ｂＦＧＦ阻害剤、ステロイドスルファターゼ阻害剤（例えば、２－メトキシエストラジオールビススルファメート（２－ＭｅＯＥ２ｂｉｓＭＡＴＥ））、インターロイキン－２４、トロンボスポンジン、メタロスポンジン（ｍｅｔａｌｌｏｓｐｏｎｄｉｎ）タンパク質、クラスＩインターフェロン、インターロイキン１２、プロタミン、アンギオスタチン、ラミニン、エンドスタチン、及びプロラクチン断片を含む。

【０３１９】

抗増殖剤及びアポトーシス促進剤は、ＰＰＡＲ－ガンマの活性化因子（例えば、シクロペンテノンプロスタグランジン（ｃｙＰＧ））、レチノイド、トリテルペノイド（ｔｒｉｔｅｒｐｉｎｏｉｄ）（例えば、シクロアルタン、ルパン、ウルサン、オレアナン、フリエデラン（ｆｒｉｅｄｅｌａｎｅ）、ダンマラン、ククルビタシン、及びリモノイドトリテルペノイド）、ＥＧＦ受容体の阻害剤（例えば、ＨＥＲ４）、ラパマイシン（ｒａｍｐａｍｙｃｉｎ）、ＣＡＬＣＩＴＲＩＯＬ（登録商標）（１，２５－ジヒドロキシコレカルシフェロール（ビタミンＤ））、アロマターゼ阻害剤（ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）（レトロゾン（ｌｅｔｒｏｚｏｎｅ））、テロメラーゼ阻害剤、鉄キレート剤（例えば、３－アミノピリジン－２－）カルボキシアルデヒドチオセミカルバゾン（トリテルペン））、アポプチン（ａｐｏｐｔｉｎ）（ウイルスタンパク質ニワトリ貧血（ａｎｅａｍｉａ）ウイルスからの３－ＶＰ３－）、Ｂｃｌ－２及びＢｃｌ－Ｘ（Ｌ）の阻害剤、ＴＮＦ－アルファ、ＦＡＳリガンド、ＴＮＦ関連アポトーシス誘導リガンド（ＴＲＡＩＬ／Ａｐｏ２Ｌ）、ＴＮＦ－アルファ／ＦＡＳリガンド／ＴＮＦ関連アポトーシス誘導リガンド（ＴＲＡＩＬ／Ａｐｏ２Ｌ）、シグナル伝達の活性剤、及びＰＩ３Ｋ－Ａｋｔ生存経路シグナル伝達の阻害剤（例えば、ＵＣＮ－０１及びゲルダナマイシン）を含む。

【０３２０】

抗がん薬の例示的な例は、チオテパ及びシクロホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ（ｍｅｔｕｒｅｄｏｐａ）、及びウレドーパ（ｕｒｅｄｏｐａ）などのアジリジン（ａｚｉｉｄｉｎｅ）；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチローロメラミン（ｔｒｉｍｅｔｈｙｌｏｌｏｍｅｌａｍｉｎｅ）を含むエチレンイミン及びメチラメラミン（ｍｅｔｈｙｌａｍｅｌａｍｉｎｅ）；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド（ｃｈｏｌｏｐｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン（ｍｅｃｈｉｏｒｅｔｈａｍｉｎｅ）、メクロレタミン（ｍｅｃｈｉｏｒｅｔｈａｍｉｎｅ）オキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベムビチン

（ｎｏｖｅｍｂｉｃｈｉｎ）、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カムルスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア（ｎｉｔｒｏｓｕｒｅａ）；アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カリケアマイシン、カラビシン（ｃａｒａｂｉｃｉｎ）、カミノマイシン（ｃａｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ドキソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン（ｐｏｔｆｉｒｏｍｙｃｉｎ）、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン（ｒｏｄｏｒｕｂｉｃｉｎ）、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシンなどの抗生物質、メトトレキサート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）などの代謝拮抗剤；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン（ｐｔｅｒｏｐｔｅｒｉｎ）、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、５－ＥＵなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤（ａｎｔｉ－ａｄｒｅｎａｌ）；フロリニン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）などの葉酸補給剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルニチン（ｅｌｆｏｒｎｉｔｈｉｎｅ）；酢酸エリプチニウム；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン（ｌｏｎｉｄａｉｎｉｎｅ）；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ポドフィリン酸（ｐｏｄｏｐｈｙｌｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン（ｔｒｉａｚｉｑｕｏｎｅ）；２，２’，２’－トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン（ｇａｃｙｔｏｓｉｎｅ）；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えば、パクリタキセル（ＴＡＸＯＬ（登録商標）、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂｂ　Ｏｎｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）及びドセタキセル（ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）、Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ　Ｒｏｒｅｒ　ｏｆ　Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ）；クロラムブシル（ｃｈｉｏｒａｍｂｕｃｉｌ）；ゲムシタビン；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；白金；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；マイトマイシンＣ；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ビノレルビン；ナベルビン；ノバントロン；テニポシド；ダウノマイシン；アミノプテリン（ａｉｎｉｎｏｐｔｅｒｉｎ）；ゼローダ；イバンドロネート；ＣＰＴ－１１；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ　２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；レチノイン酸；エスペラミシン；ならびにカペシタビンを含む。

【０３２１】

本発明に従って使用され得る追加の治療剤は、光線力学療法のために、その全体の参照により本明細書に組み込まれる米国公開第２００２０１９７２６２号及び米国特許第５，９５２，３２９号などの光増感剤、その全体の参照により本明細書に組み込まれる米国公開第２００３００３２９９５号などの温熱療法用の磁性粒子、ペプチド、リガンド、細胞接着リガンドなどの結合剤、ならびにホスフェート含有プロドラッグ、チオホスフェート含有プロドラッグ、スルフェート含有プロドラッグ、ペプチド含有プロドラッグ、β－ラ

クタム含有プロドラッグ、置換フェノキシアセトアミド含有プロドラッグまたは置換フェニルアセトアミド含有プロドラッグ、より活性な細胞傷害性遊離薬物に変換され得る、５－フルオロシトシン及び他の５－フルオロウリジンプロドラッグなどのプロドラッグを含む。

【０３２２】

抗ＣＤＣＰ１抗体を使用する診断方法のために、薬物は、インビトロまたはインビボでＣＤＣＰ１発現腫瘍細胞の存在を検出するために使用される検出可能な標識を含み得る。シンチグラフィー、磁気共鳴画像法、または超音波を使用して検出可能であるものなどの、インビボで検出可能である放射性同位元素は、臨床診断用途において使用され得る。有用なシンチグラフィー標識は、陽電子エミッタ及びγエミッタを含む。磁気源画像法のための代表的な造影剤は、常磁性または超常磁性イオン（例えば、鉄、銅、マンガン、クロム、エルビウム、ユーロピウム、ジスプロシウム、ホルミウム、及びガドリニウム）、酸化鉄粒子、及び水溶性造影剤である。超音波検出のために、ガスまたは液体は、マイクロバブル造影剤として放出される多孔質無機粒子に閉じ込められ得る。インビトロ検出のために、有用な検出可能な標識は、フルオロフォア、検出可能なエピトープまたは結合剤、及び放射性標識を含む。

【０３２３】

したがって、本発明のいくつかの態様では、薬物は、造影剤（例えば、フルオロフォアまたはＰＥＴ（陽電子放射断層撮影）標識、ＳＰＥＣＴ（単一光子放射断層撮影）標識）、またはＭＲＩ（磁気共鳴画像）標識である。

【０３２４】

本明細書で使用される際、「標識」という用語は、「標識された」抗体を生成するように抗体へ直接的もしくは間接的にコンジュゲートされる検出可能な化合物または組成物を指す。標識は、それ自体検出可能（例えば、放射性同位元素標識または蛍光標識）であり得るか、または酵素標識の場合、検出可能である基質化合物もしくは組成物の化学改変を触媒し得る。検出可能な標識として機能し得る放射性核種は、例えば、Ｉ－１３１、Ｉ－１２３、Ｉ－１２５、Ｙ－９０、Ｒｅ－１８８、Ｒｅ－１８６、Ａｔ－２１１、Ｃｕ－６７、Ｂｉ－２１２、及びＰｄ－１０９を含む。標識はまた、毒素などの検出不可能な実態であり得る。

【０３２５】

フルオロフォアの例は、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）（例えば、５－ＦＩＴＣ）、フルオレセインアミダイト（ＦＡＭ）（例えば、５－ＦＡＭ）、エオシン、カルボキシフルオレセイン、エリスロシン、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ（登録商標）（例えば、Ａｌｅｘａ　３５０、４０５、４３０、４８８、５００、５１４、５３２、５４６、５５５、５６８、５９４、６１０、６３３、６４７、６６０、６８０、７００、または７５０）、カルボキシテトラメチルローダミン（ＴＡＭＲＡ）（例えば、５－ＴＡＭＲＡ）、テトラメチルローダミン（ＴＭＲ）、及びスルホローダミン（ＳＲ）（例えば、ＳＲ１０１）を含むが、これらに限定されない。

【０３２６】

治療用または診断用の放射性同位元素または他の標識（例えば、ＰＥＴまたはＳＰＥＣＴ標識）は、本明細書に記載されるような抗ＣＤＣＰ１抗体へのコンジュゲーションのために薬剤に組み込まれ得る。同位体は、例えば、抗体に存在するシステイン残基で抗体に直接結合することができ、またはキレート剤を使用して、抗体と放射性同位体の結合を媒介することができる。放射線療法に好適な放射性同位元素は、αエミッタ、βエミッタ、及びオージェ電子を含むが、これらに限定されない。診断用途のために、有用な放射性同位元素は、陽電子エミッタ及びγエミッタを含む。本発明の抗ＣＤＣＰ１抗体は、抗体の検出または治療効果を促進するために、例えば、抗体のチロシン残基上でさらにヨウ素化され得る。

【０３２７】

放射性同位元素または他の標識の例は、^{3}Ｈ、^{11}Ｃ、^{13}Ｎ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{15}Ｏ、

^{35}Ｓ、^{18}Ｆ、^{32}Ｐ、^{33}Ｐ、^{47}Ｓｃ、^{51}Ｃｒ、^{57}Ｃｏ、^{58}Ｃｏ、^{59}Ｆｅ、^{62}Ｃｕ、^{64}Ｃｕ、^{67}Ｃｕ、^{67}Ｇａ、^{68}Ｇａ、^{75}Ｓｅ、^{76}Ｂｒ、^{77}Ｂｒ、^{86}Ｙ、^{89}Ｚｒ、^{90}Ｙ、^{94}Ｔｃ、^{95}Ｒｕ、^{97}Ｒｕ、^{99}Ｔｃ、^{103}Ｒｕ、^{105}Ｒｈ、^{105}Ｒｕ、^{107}Ｈｇ、^{109}Ｐｄ、^{111}Ａｇ、^{111}Ｉｎ、^{113}Ｉｎ、^{121}Ｔｅ、^{122}Ｔｅ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{125}Ｔｅ、^{126}Ｉ、^{131}Ｉ、^{131}Ｉｎ、^{133}Ｉ、^{142}Ｐｒ、^{143}Ｐｒ、^{153}Ｐｂ、^{153}Ｓｍ、^{161}Ｔｂ、^{165}Ｔｍ、^{166}Ｄｙ、^{166}Ｈ、^{167}Ｔｍ、^{168}Ｔｍ、^{169}Ｙｂ、^{177}Ｌｕ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{189}Ｒｅ、^{197}Ｐｔ、^{198}Ａｕ、^{199}Ａｕ、^{201}Ｔｌ、^{203}Ｈｇ、^{211}Ａｔ、^{212}Ｂｉ、^{212}Ｐｂ、^{213}Ｂｉ、^{223}Ｒａ、^{224}Ａｃ、及び^{225}Ａｃを含むが、これらに限定されない。

【０３２８】

リンカー

本発明のＣＤＣＰ１　ＡＤＣは、薬物を抗体に直接的もしくは間接的に連結またはコンジュゲートするためのリンカーを使用して調製され得る。リンカーは、薬物及び抗体を連結してＡＤＣを形成する二機能性化合物である。かかるＡＤＣは、特定の抗原またはタンパク質に結合する抗体を介した薬物の選択的送達を可能にする。好適なリンカーは、例えば、切断可能かつ切断不可能なリンカーを含む。切断可能なリンカーは、典型的には、特定の細胞内及び細胞外条件による薬物の切断及び放出の影響を受けやすい。コンジュゲートされた薬物が細胞内で抗体から切断され得る主な機構は、リソソーム（ヒドラゾン、アセタール、及びシス－アコニテート（ａｃｏｎｉｔａｔｅ）様アミド）の酸性ｐＨにおける加水分解、リソソーム酵素（カテプシン及び他のリソソーム酵素）によるペプチド切断、及びジスルフィドの還元を含む。コンジュゲートされた薬物は、カテプシンなどの腫瘍微小環境（ＴＭＥ）におけるプロテアーゼによって細胞外で抗体から切断され得る。切断のためのこれらの様々な機構の結果として、薬物を抗体に連結する機構もまた大きく異なり、任意の好適なリンカーが使用され得る。

【０３２９】

好適なリンカーは、任意の切断可能なリンカーを含み得る。いくつかの態様では、好適なリンカーは、バリン－シトルリン（ｖａｌ－ｃｉｔ）リンカー、フェニルアラニン－リジン（ｐｈｅ－ｌｙｓ）リンカー、マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニルリンカー、もしくは６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣまたはｖｃ）リンカーを含むか、またはトランスグルタミナーゼベースのコンジュゲーション技術に好適な、Ｎ～２～－アセチル－Ｌ－リジル－Ｌ－バリル－Ｌ－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル－Ｎ，Ｎ’－ジメチルアミノエチル－ＣＯ－リンカーなどの追加の犠牲要素に結合したジペプチドを含む。別の態様では、好適なリンカーは、スルファニルピリジン（ジＳ）リンカー及び２－（ピリジン－２－イルジスルファニル）エチルカルバモイル（ジＳ－C_2ＯＣＯ）リンカーなどのジスルフィドリンカーを含む。別の態様では、リンカーは、マレイミドカプロイル（ｍｃ）、マレイミド－ヘプタノイル（ｍｅ）及びマレイミド－Ｐｅｇ６Ｃ２（ＭａｌＰｅｇ６Ｃ２）などの切断不可能なリンカーであり得る。他の態様では、好適なリンカーは、ヒドラゾンリンカーなどの、特定のｐＨまたはｐＨ範囲で加水分解可能なリンカーを含む。

【０３３０】

リンカーは、例えば、リンカー上に存在するマレイミドまたはハロアセトアミドの、抗体上に存在する天然または操作されたシステイン残基との反応によって、チオエステル結合を通じて抗体に共有結合し得る。別の態様では、リンカーは、例えば、リンカー上に存在するＮ－ヒドロキシ－スクシンイミド活性化カルボン酸のリジン残基の遊離アミンとの反応によって、抗体上に存在するリジン残基へのアミド結合を通じて抗体に共有結合し得る。別の態様では、リンカーは、例えば、グルタミン残基の側鎖アミドを有するリンカー上に存在する第一級アミンから新しいアミド結合を作成するトランスグルタミナーゼ酵素によって触媒される酵素反応によって、存在するグルタミン残基の側鎖へのアミド結合を

通じて抗体に共有結合し得るか、または抗体へと操作され得る。

【０３３１】

いくつかの態様では、リンカーは、バリン－シトルリン（ｖａｌ－ｃｉｔ）、６－マレイミドカプロイル（ｍｃ）、メトキシ－ポリエチレングリコールマレイミド６（ＭａｌＰｅｇ６）、ｐ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）、ジメチルアミノエタノール（ＤＭＡＥ）、マレイミドプロパノイル（ＭＰ）、加水分解ペグ－マレイミド、アラニン－フェニルアラニン（ａｌａ－ｐｈｅ）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ－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）、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ）、及び６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣまたはｖｃ）からなる群から選択される。

【０３３２】

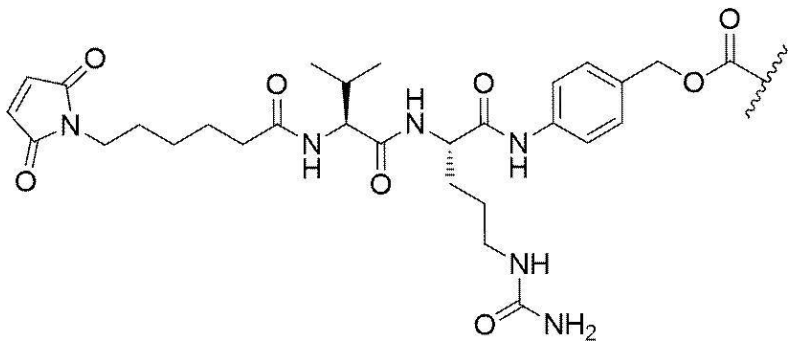
いくつかの実施形態では、リンカーは、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ（アセチル－リジン－グリシン）、アミノカプロン酸、Ａｃ－Ｌｙｓ－ｐ－Ａｌａ（アセチル－リジン－ｐ－アラニン）、アミノ－ＰＥＧ２（ポリエチレングリコール）－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ３－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２（またはアミノＰＥＧ６－プロピオニル）、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ（アセチル－リジン－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル）、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、アミノカプロイル－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｒ，５Ｒ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｓ，５Ｓ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、プトレシン、及びＡｃ－Ｌｙｓ－プトレシンからなる群から選択される。

【０３３３】

いくつかの実施形態では、リンカーは、
「ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ」または以下の構造を有する「ｖｃ」リンカーである：

【０３３４】

【化５】



。

【０３３５】

いくつかの実施形態では、リンカーは、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２（またはアミノＰＥＧ６－プロピオニル）である。

【０３３６】

いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、本明細書に記載される抗ＣＤＣＰ１抗体を含み、抗体は、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされる。リンカーは、本明細書に記載されるリンカーのうちのいずれかから選択され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、バリン－シトル

リン（ｖａｌ－ｃｉｔ）、６－マレイミドカプロイル（ｍｃ）、メトキシ－ポリエチレングリコールマレイミド６（ＭａｌＰｅｇ６）、ｐ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）、ジメチルアミノエタノール（ＤＭＡＥ）、マレイミドプロパノイル（ＭＰ）、加水分解ペグ－マレイミド、アラニン－フェニルアラニン（ａｌａ－ｐｈｅ）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ－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）、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ）、及び６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣまたはｖｃ）からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣである。いくつかの実施形態では、薬物部分は、アウリスタチンである。いくつかの実施形態では、薬物部分は、０１０１または０１３１である。

【０３３７】

いくつかの態様では、本発明は、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲートを提供し、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分は、ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１である。

【０３３８】

いくつかの態様では、本発明は、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲートを提供し、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分は、ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１である。

【０３３９】

いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、本明細書に記載される抗ＣＤＣＰ１抗体を含み、抗体は、抗体上の特定の部位で操作されるアシルドナーグルタミン含有タグを使用してリンカー薬物にコンジュゲートされる。リンカーは、本明細書に記載されるリンカーのうちのいずれかから選択され得る。いくつかの実施形態では、リンカーは、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｇｌｙ（アセチル－リジン－グリシン）、アミノカプロン酸、Ａｃ－Ｌｙｓ－ｐ－Ａｌａ（アセチル－リジン－ｐ－アラニン）、アミノ－ＰＥＧ２（ポリエチレングリコール）－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ３－Ｃ２、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２（またはアミノＰＥＧ６－プロピオニル）、Ａｃ－Ｌｙｓ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ（アセチル－リジン－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル）、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、アミノカプロイル－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｒ，５Ｒ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、［（３Ｓ，５Ｓ）－１－｛３－［２－（２－アミノエトキシ）エトキシ］プロパノイル｝ピペリジン－３，５－ジイル］ビス－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ、プトレシン、及びＡｃ－Ｌｙｓ－プトレシンからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、リンカーは、アミノ－ＰＥＧ６－プロピオニル（すなわち、アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２またはＡＭＰｅｇ６Ｃ２）である。いくつかの実施形態では、薬物部分は、アウリスタチンである。いくつかの実施形態では、薬物部分は、０１０１または０１３１である。

【０３４０】

いくつかの態様では、本発明は、抗体上の特定の部位で操作されたアシルドナーグルタミン含有タグを使用してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲートを提供し、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含

み、リンカー－薬物部分は、アミノＰＥＧ６－プロピオニル－０１３１（すなわち、ＡｍＰｅｇ６Ｃ２－０１３１）である。

【０３４１】

いくつかの態様では、本発明は、抗体上の１つ以上の操作されたシステイン残基を介してリンカー－薬物部分にコンジュゲートされた抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲートを提供し、抗体またはその抗原結合断片は、配列番号３５のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、リンカー－薬物部分は、アミノＰＥＧ６－プロピオニル－０１３１（すなわち、ＡｍＰｅｇ６Ｃ２－０１３１）である。

【０３４２】

ＡＤＣの生成のための最適な反応条件は、温度、ｐＨ、リンカー－ペイロード部分の入力、添加剤濃度などの反応変数の変動によって経験的に決定され得る。他の薬物のコンジュゲーションに好適な条件は、過度の実験なく当業者によって決定され得る。ＣＤＣＰ１ＡＤＣをコンジュゲート及び特徴付けするための代表的な方法は、実施例１７及び１８に記載される。

【０３４３】

コンジュゲーションに続いて、コンジュゲートは、分離され、コンジュゲートしていない反応物及び／またはコンジュゲートの凝集形態から精製され、従来の方法によって特徴付けられる。これは、限定されないが、質量分析、サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）限外濾過／透析濾過、イオン交換クロマトグラフィー（ＩＥＣ）、クロマトフォーカシング（ＣＦ）、部位指向性変異誘発、蛍光標識、Ｘ線結晶構造解析、高性能液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）、高速タンパク質液体クロマトグラフィー（ＦＰＬＣ）、セファクリルＳ－２００クロマトグラフィーまたは疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）などのプロセスを含む。好適なＨＩＣ媒体は、フェニルセファロース６Ｆａｓｔ Ｆｌｏｗクロマトグラフィー培地、ブチルセファロース４Ｆａｓｔ Ｆｌｏｗクロマトグラフィー培地、オクチルセファロース４Ｆａｓｔ Ｆｌｏｗクロマトグラフィー培地、Ｔｏｙｏｐｅａｒｌエーテル－６５０Ｍクロマトグラフィー培地、Ｍａｃｒｏ－ＰｒｅｐメチルＨＩＣ培地またはＭａｃｒｏ－Ｐｒｅｐ ｔ－ブチルＨＩＣ培地を含むが、これらに限定されない。

【０３４４】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるような抗体薬物コンジュゲートは、少なくとも６０℃、少なくとも６５℃、少なくとも７０℃、少なくとも７５℃、少なくとも８０℃、少なくとも８５℃または少なくとも９０℃超の融解転移温度を有する。いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、約６５℃超の融解転移温度を有する。

【０３４５】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるような抗体薬物コンジュゲートは、約５０ｎＭ、約４８ｎＭ、約４６ｎＭ、約４５ｎＭ、約４４ｎＭ、約４２ｎＭ、または約４０ｎＭ以下のK_D値でｐＨ７．４でＣＤＣＰ１に結合する。いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、約７０ｎＭ、約６８ｎＭ、約６６ｎＭ、約６５ｎＭ、約６４ｎＭ、約６２ｎＭ、または約６０ｎＭ以下のK_D値でｐＨ６．８でＣＤＣＰ１に結合する。

【０３４６】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるような抗体薬物コンジュゲートは、約２００００ｐＭ、約１５０００ｐＭ、約１００００ｐＭ、約９５００ｐＭ、８０００ｐＭ、７０００ｐＭ、６０００ｐＭ、５０００ｐＭ、４０００ｐＭ、３０００ｐＭ、２０００ｐＭ、１０００ｐＭ、９００ｐＭ、８００ｐＭ、７００ｐＭ、６５０ｐＭ、６００ｐＭ、５００ｐＭ、４００ｐＭ、３００ｐＭ、２５０ｐＭ、２００ｐＭ、または１００ｐＭ以下の最大半量阻害濃度（IC_{50}）値を有する。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるような抗体薬物コンジュゲートは、約１００ｐＭ、約９０ｐＭ、約８０ｐＭ、約７０ｐＭ、約６０ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐｍ、約３０ｐＭ、約２０ｐＭ、約１０ｐＭ、約９ｐＭ、約８ｐＭ、約７ｐＭ、約６ｐＭ、約５ｐＭ、約４ｐＭ、約３ｐＭ、約２ｐＭ、

または約１ｐＭ以下のＩＣ$_{50}$値を有する。いくつかの実施形態では、ＩＣ５０値は、ＣＤＣＰ１発現細胞において決定される。

【０３４７】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるような抗体薬物コンジュゲートは、ＮＳＣＬＣ　ＰＤＸモデルにおける未治療対照における平均腫瘍体積と比較して、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％平均腫瘍体積を低減する。いくつかの実施形態では、抗体薬物コンジュゲートは、頭頸部癌患者由来異種移植モデルにおける未治療対照における平均腫瘍体積と比較して、少なくとも５％、１０％、１５％、２０％、２５％、３０％、３５％、４０％、４５％、５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、または１００％平均腫瘍体積を低減する。

【０３４８】

ＣＤＣＰ１特異的抗体及びＡＤＣの使用

本発明の抗ＣＤＣＰ１抗体及びＣＤＣＰ１　ＡＤＣは、治療的治療方法及び診断的治療方法を含むがこれらに限定されない様々な用途において有用である。

【０３４９】

いくつかの態様では、本発明は、対象におけるＣＤＣＰ１発現に関連する状態を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、対象におけるＣＤＣＰ１発現に関連する状態を治療する方法は、本明細書に記載されるようなＣＤＣＰ１抗体またはＣＤＣＰ１抗体コンジュゲートを含む組成物（例えば、薬学的組成物）の有効量をそれを必要とする対象に投与することを含む。ＣＤＣＰ１発現に関連する状態は、異常な（ａｂｎｏｒｍａｌ）ＣＤＣＰ１発現、改変されたもしくは異常な（ａｂｅｒｒａｎｔ）ＣＤＣＰ１発現、ＣＤＣＰ１を発現する悪性細胞、及び増殖性障害（例えば、がん）、自己免疫障害、炎症性疾患、または感染性疾患を含むが、これらに限定されない。

【０３５０】

したがって、いくつかの態様では、本発明は、本明細書に記載されるような抗ＣＤＣＰ１抗体またはＣＤＣＰ１抗体コンジュゲートを含む組成物（または抗ＣＤＣＰ１抗体もしくはＣＤＣＰ１抗体薬物コンジュゲートを含む薬学的組成物）の有効量を、がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患の治療を必要とする対象に投与することを含む、それを必要とする対象においてそれを行う方法を提供する。

【０３５１】

本発明は、腫瘍細胞が表面上にＣＤＣＰ１を発現し、周囲の非腫瘍組織が検出可能な細胞表面ＣＤＣＰ１をほとんどまたは全く発現しない腫瘍を治療する方法を提供する。方法は、ＣＤＣＰ１に特異的に結合し、細胞によって内在化される抗体またはその抗原結合断片を投与することを含む。好ましくは、抗体またはその抗原結合断片は、細胞傷害性ペイロードを含む抗体薬物コンジュゲートである。いかなる特定の理論にも拘束されることを望まないが、ＣＤＣＰ１は、それがチロシン７３４（Ｐ－７３４－ｔｙｒ）でリン酸化され、配列番号が配列番号９０を参照しているという点で活性化されている。さらにより好ましくは、かついかなる特定の理論にも拘束されることを望まないが、方法は、低酸素環境内にない腫瘍にないＣＤＣＰ１よりも高いレベルでＣＤＣＰ１がＴｙｒ７３４でリン酸化されるように、低酸素環境内の腫瘍を治療することを含む。かかる腫瘍は、とりわけ、肺癌腫瘍及び頭頸部癌腫瘍を含む。当業者は、本明細書の教示が提供されると、低酸素環境及び／または他の点では同一の腫瘍もしくは組織よりも大きなレベルのＰ－ｔｙｒ－７３４に関連する任意の腫瘍が、本発明の抗体及び／またはＡＤＣを使用して治療され得ることを理解するであろう。

【０３５２】

がん

がんまたは腫瘍は、細胞の制御されない増殖及び／または異常な増加した細胞生存及び／または身体の器官及び系の正常な機能を妨げるアポトーシスの阻害を指す。良性及び悪

性癌、ポリープ、過形成、同様に休止状態の腫瘍または微小転移が、含まれる。また、免疫系によって妨害されない異常な増殖を有する細胞（例えば、ウイルス感染した細胞）も、含まれる。がんは、原発性癌または転移性癌であり得る。原発性癌は、臨床的に検出可能となる発生部位でのがん細胞の面積であり得、原発性腫瘍であり得る。対照的に、転移性癌は、１つの器官または部分から別の隣接していない器官または部分への疾患の拡散であり得る。転移性癌は、局所領域における周囲の正常組織に浸透及び浸潤する能力を獲得し、局所転移であり得る新しい腫瘍を形成するがん細胞によって引き起こされ得る。がんはまた、リンパ管及び／または血管の壁に浸透する能力を獲得するがん細胞によって引き起こされ得、その後、がん細胞は、体内の他の部位及び組織に血流を通じて循環する（それによって循環腫瘍細胞となる）ことが可能である。がんは、リンパ系または血行性拡散などのプロセスが原因となり得る。がんはまた、別の部位で休止し、管または壁を通じて再浸透し、増殖し続け、別の臨床的に検出可能な腫瘍を最終的に形成する腫瘍細胞によって引き起こされ得る。がんは、この新しい腫瘍であり得、転移性（または続発性）腫瘍であり得る。

【０３５３】

がんは、転移した腫瘍細胞によって引き起こされ得、続発性または転移性腫瘍であり得る。腫瘍の細胞は、元の腫瘍のもののようであり得る。例として、乳癌または結癌が肝臓に転移した場合、続発性腫瘍は、肝臓に存在する一方で、異常な肝臓細胞でなく、異常な乳癌または結腸細胞で構成される。したがって、肝臓における腫瘍は、肝臓癌ではなく、転移性乳癌または転移性結腸癌であり得る。がんは、任意の組織からの起源を有し得る。がんは、黒色腫、結腸、乳房、または前立腺起源であり得、したがって、元々それぞれ皮膚、結腸、乳房、または前立腺組織であった細胞から構成され得る。がんはまた、血液学的悪性腫瘍であり得、白血病またはリンパ腫であり得る。がんは、肝臓、肺、膀胱、または腸などの組織に浸潤し得る。

【０３５４】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１のノックダウンは、Ｐ３８、細胞外シグナル制御性キナーゼ１（ＥＲＫ１及び２）、Ｊｕｎがん原遺伝子（ＪＵＮアイソフォーム１、２及び３）、ＡＫＴセリン／トレオニンキナーゼ１（ＡＫＴアイソフォーム１、２、及び３）、ＡＭＰ活性化プロテインキナーゼ（ＡＭＰＫ）、シグナル伝達兼転写活性化因子（ＳＴＡＴ２）、ＳＴＡＴ５　Ａ／Ｂ、コリン／エタノールアミンキナーゼ（ＣＨＫ－２）、及びＭＥＴがん原遺伝子、受容体チロシンキナーゼ（ＭＥＴ）の上方制御をもたらす。

【０３５５】

一態様では、本開示は、（ａ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量について腫瘍試料を評価することと、（ｂ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量が参照試料よりも多い場合、がん患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供する。

【０３５６】

一態様では、本開示は、腫瘍の試料において変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の存在、不在、または量を決定することを含む、該腫瘍がＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答するかどうかを決定する方法を提供し、それによって変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの存在、あるいは参照試料に対する変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の増加した量は、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答する可能性を示している。

【０３５７】

一態様では、本開示は、（ａ）標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合し、それが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される薬剤を選択することと、（ｂ）がん患者に薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供し、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤は、ＣＤＣＰ１を活性化する抗体であり、ＰＰＰ４Ｒ２調節剤にコンジュゲートされる。

【０３５８】

一態様では、本開示は、（ａ）ＣＤＣＰ１に結合する薬剤がＣＤＣＰ１を活性化しない抗体である、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することと、（ｂ）ＰＡＲＧを調節する薬剤を投与することと、を含む、がんの治療を必要とする患者においてがんを治療するための方法を提供する。

【０３５９】

本発明の代表的ながん及び／または腫瘍は、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、大腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ　ｃａｎｃｅｒ）（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝癌、肝細胞腫、上皮内新生物、腎臓または腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、膵癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮癌、胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ　ｃａｎｃｅｒ）、精巣癌、甲状腺癌、子宮または子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、同様にＢ細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／濾胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非分割細胞ＮＨＬ、巨大腫瘤病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、及びワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症を含む、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、ヘアリーセル白血病、慢性骨髄芽球性白血病、同様に他の癌腫及び肉腫、ならびに移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、同様に母斑症、浮腫に関連する異常な血管増殖（脳腫瘍に関連するものなど）、ならびにメグズ症候群を含むが、これらに限定されない。

【０３６０】

いくつかの実施形態では、がんは、肺癌である。いくつかの実施形態では、がんサブタイプは、ＳＣＬＣ、ＮＳＣＬＣ、または中皮腫である。一態様では、本開示は、患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することを含む、肺癌の治療を必要とする患者において肺癌を治療する方法を提供し、肺癌はＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤はＣＤＣＰ１活性化剤である。

【０３６１】

いくつかの実施形態では、がんは、前立腺癌である。一態様では、本開示は、患者にＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することを含む、前立腺癌の治療を必要とする患者において前立腺癌を治療する方法を提供し、前立腺癌はＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤はＣＤＣＰ１活性化剤である。

【０３６２】

いくつかの実施形態では、がんは、頭頸部癌である。

【０３６３】

いくつかの実施形態では、本開示の方法は、増殖性障害、例えば、がん（例えば、ＮＳＣＬＣ、前立腺癌または頭頸部癌）を有する対象の予後を決定することを提供する。予後は、例えば、それぞれ、短縮した生存または延長した生存によって測定される、予後不良または予後良好であり得る。さらに、生存は、全生存期間（ＯＳ）、無病生存期間（ＤＦＳ）、または無再発生存期間（ＲＦＳ）として測定され得る。がんは、原発性または再発性であり得、任意の型（上記のような）、ステージ（例えば、ステージＩ、ＩＩ、ＩＩＩ、もしくはＩＶまたは他の病期分類システムの同等物）及び／または組織学のものであり得る。患者は、任意の年齢、性別、全身状態、及び／または寛解の程度及び持続時間のものであり得る。

【０３６４】

いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１のノックダウンは、ＨＣＫがん原遺伝子、接着斑キナーゼ（ＦＡＫ）、ｐ７０Ｓ６Ｋ、及びホスホリパーゼＣガンマ１（ＰＬＣγ１）の下方制御をもたらす。

【０３６５】

いくつかの実施形態では、がんは、膀胱癌でない。

【０３６６】

併用療法／コンジュゲーション薬剤

本明細書に記載されるように、本発明は、様々な実施形態では、本発明のコンジュゲートの一部であり得るか、または本発明に包含される様々な併用療法の文脈において使用され得る抗腫瘍剤に関する。

【０３６７】

併用療法は、抗体－薬物コンジュゲート、及び特定の治療レジメンの一部としての別の治療剤の投与を含み、任意選択で、これらの治療剤の共動から有益な効果を提供するように意図された維持相を含む。併用の有益な効果は、治療剤の併用により生じる薬物動態学的または薬力学的な共動を含むが、これらに限定されない。併用した治療剤の投与は、典型的には、定義された時間（通常、選択される併用に応じて、分、時間、日、または週）行われる。併用療法は、一般に、本発明の組み合わせを偶発的かつ恣意的にもたらす別個の単剤療法レジメンの一部として、これらの治療剤のうちの２つ以上の投与を包含するように意図されない。

【０３６８】

併用療法は、これらの治療剤の連続的方式での投与を包含し、つまり、各治療剤は、これらの治療剤、または治療剤のうちの少なくとも２つの投与と同様に、実質的に同時的方式で、異なる時点で投与される。各治療剤の連続的または実質的に同時的投与は、経口経路、静脈内経路、筋肉内経路、皮下経路、及び粘膜組織を通じた直接吸収を含むがこれらに限定されない、任意の適切な経路によって行われ得る。治療剤は、同じ経路によって、または異なる経路によって投与され得る。例えば、第１の治療剤（例えば、化学療法剤）は経口投与され得、第２の薬剤（例えば、ＡＤＣ）は静脈内投与され得る。例えば、選択された併用の第１の治療剤は静脈内注射によって投与され得、一方で、併用の他の治療剤は経口投与され得る。代替的には、例えば、治療剤の両方は、静脈内または皮下注射によって投与され得る。

【０３６９】

本開示では、連続的という用語は、別段明記されない限り、規則的な配列または順序によって特徴付けられ、例えば、投薬レジメンがＡＤＣ及び化学療法剤の投与を含む場合、連続的投薬レジメンは、化学療法剤の投与の前、同時、実質的に同時、または後のＡＤＣの投与を含み得るが、両方の薬剤は、規則的な配列または順序で投与されるであろう。分離するという用語は、別段明記されない限り、一方を他方から離しておくことを意味する。同時にという用語は、別段明記されない限り、同時に起こるか、または行われることを意味し、すなわち、本発明の化合物は同時に投与される。実質的に同時にという用語は、化合物が互いに数分以内に（例えば、互いに１０分以内に）投与されることを意味し、継続的投与同様に継続投与を包含するように意図されるが、投与が継続的である場合、それは短期の時間（例えば、開業医が２つの化合物を別々に投与するのにかかであろう時間）にのみ分離される。本明細書で使用される場合、同時投与及び実質的に同時的投与は、交換可能に使用される。連続投与は、ＡＤＣ及び化学療法剤の時間的に分離した投与を指す。

【０３７０】

いくつかの実施形態では、化学療法剤は、チオテパ及びＣＹＴＯＸＡＮシクロホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、及びウレドーパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチローロメラミンを含むエチレンイミン及びメチラメラミン；アセトゲニン（例えば、ブラタシン及びブラタシノン）；カンプトテシン（合成類似体トポテカンを含む）；ブリオスタチン；ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン（例えば、クリプトフィシン１及びクリプトフィシン８）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似体、ＫＷ－２１８９及びＣＢ　１－ＴＭ１を含む）；エリュテロビン；パンクラチ

スタチン；サルコジクチイン；スポンギスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベムビチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カムルスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチンなどのニトロソウレア；エンジイン抗生物質（例えば、特に、カリケアマイシンガンマ１１及びカリケアマイシンオメガ１１（例えば、Ａｇｎｅｗ，Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．，３３：１８３－１８６（１９９４）を参照されたい）；ダイネミシンＡを含むダイネミシン；クロドロネートなどのビスホスホネート；エスペラミシン；同様にネオカルチノスタチンクロモフォア及び関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質クロモフォア）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン（ｃａｒａｂｉｃｉｎ）、カミノマイシン（ｃａｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮドキソルビシン（モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンＣなどのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン（ｐｏｔｆｉｒｏｍｙｃｉｎ）、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン（ｒｏｄｏｒｕｂｉｃｉｎ）、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシンなどの抗生物質；メトトレキサート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）などの代謝拮抗剤；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン（ｐｔｅｒｏｐｔｅｒｉｎ）、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤（ａｎｔｉ－ａｄｒｅｎａｌ）；フロリニン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）などの葉酸補給剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルミチン（ｅｌｆｏｒｍｉｔｈｉｎｅ）；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン（ｌｏｎｉｄａｉｎｉｎｅ）；マイタンシン及びアンサミトシンなどのメイタンシノイド（ｍａｙｔａｎｓｉｎｏｉｄ）；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール（ｍｏｐｉｄａｎｍｏｌ）；ニトラエリン（ｎｉｔｒａｅｒｉｎｅ）；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸（ｐｏｄｏｐｈｙｌｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ多糖複合体（ＪＨＳ　Ｎａｔｕｒａｌ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇ．）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフラン（ｓｉｚｏｆｕｒａｎ）；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン（ｔｒｉａｚｉｑｕｏｎｅ）；２，２’，２”－トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（例えば、Ｔ－２毒素、ベラクリン（ｖｅｒｒａｃｕｒｉｎ）Ａ、ロリジンＡ及びアングイジン（ａｎｇｕｉｄｉｎｅ））；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン（ｇａｃｙｔｏｓｉｎｅ）；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えば、ＴＡＸＯＬパクリタキセル、パクリタキセルのＡＢＲＡＸＡＮＥクレモフォールフリーのアルブミン操作ナノ粒子製剤（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｐａｒｔｎｅｒｓ，Ｓｃｈａｕｍｂｅｒｇ，１１１．）、及びＴＡＸＯＴＥＲＥドセタキセル（Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ　Ｒｏｒｅｒ，Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ）

；クロランブシル（ｃｈｌｏｒａｎｂｕｃｉｌ）；ＧＥＭＺＡＲゲムシタビン；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチン、及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；白金；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ＮＡＶＥＬＢＩＮＥビノレルビン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；イリノテカン（Ｃａｍｐｔｏｓａｒ、ＣＰＴ－１１）（５－ＦＵ及びロイコボリンを用いるイリノテカンの治療レジメンを含む）；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ ２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；レチノイン酸などのレチノイド；カペシタビン；コンブレタスタチン；ロイコボリン（ＬＶ）；オキサリプラチン治療レジメン（ＦＯＬＦＯＸ）を含むオキサリプラチン；ラパチニブ（Ｔｙｋｅｒｂ）；細胞増殖を低減するＰＫＣ－α、Ｒａｆ、Ｈ－Ｒａｓ、ＥＧＦＲ（例えば、エルロチニブ（Ｔａｒｃｅｖａ）、及びＶＥＧＦの阻害剤、ならびに上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体から選択される。

【０３７１】

いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、細胞傷害性薬剤である。いくつかの実施形態では、細胞傷害性剤は、メトトレキサート、アミノプテリン、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン；メクロレタミン、チオエパクロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）、マイトマイシンＣ、ロムスチン（ＣＣＮＵ）、１－メチルニトロソウレア、シクロホスファミド、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、シス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン及びカルボプラチン（パラプラチン）などのアルキル化剤；ダウノルビシン、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン、及びビサントレンを含むアントラサイクリン；ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ブレオマイシン、カリケアマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（ＡＭＣ）を含む抗生物質；ビンカアルカロイド、ビンクリスチン、ビンブラスチンなどの抗有糸分裂剤、ならびにそれらの混合物から選択される。

【０３７２】

いくつかの実施形態では、細胞傷害性剤は、パクリタキセル（タキソール）、リシン、シュードモナス外毒素、ゲムシタビン、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、及びそれらの混合物から選択される。

【０３７３】

いくつかの実施形態では、本組成物及び方法は、例えば、様々ながんの治療において、チェックポイント阻害剤と併用した使用を見いだす。例えば、本組成物及び方法は、例えば、同じものに対する患者の応答を改善することによって、（例えば、非応答者を応答者に変換すること、及び／または治療応答の大きさを増加させること、及び／または治療応答に必要な用量もしくはレジメンを低減すること、及び／またはチェックポイント阻害剤ベースのがん治療の１つ以上の副作用を低減することによって）チェックポイント阻害剤ベースのがん療法を補足し得る。

【０３７４】

いくつかの実施形態では、チェックポイント阻害剤は、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ４、ＧＩＴＲ、ガレクチン－９、ＨＶＥＭ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ２４４、ＣＤ１６０、ＴＩＧＩＴ、ＳＩＲＰα、ＩＣＯＳ、ＣＤ１７２ａ、及びＴＭＩＧＤ２のうちの１つを標的とする薬剤である。

【０３７５】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント免疫療法剤は、ＰＤ－１を調節する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１を標的とする薬剤は、任意選択で、ニボルマブ、ペム

ブロリズマブ、及びピジリズマブから選択される、ＰＤ－１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的な抗体またはその抗原結合部分は、ニボルマブであり、２週間ごとに２４０ｍｇで投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、ペムブロリズマブであり、３週間ごとに２００ｍｇで投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、ピジリズマブであり、３週間ごとに２００ｍｇで投与され得る。

【０３７６】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント免疫療法剤は、ＰＤ－Ｌ１を調節する。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１を調節する薬剤は、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、及びＢＭＳ－９３６５５９から選択される。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、ＢＭＳ－９３６５５９であり、２週間ごとに０．１ｍｇ／ｋｇで投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、アテゾリズマブであり、３週間ごとに１２００ｍｇで投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、アベルマブであり、２週間ごとに１０ｍｇ／ｋｇで投与され得る。いくつかの実施形態では、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、デュルバルマブであり、２週間ごとに１０ｍｇ／ｋｇで投与され得る。

【０３７７】

いくつかの実施形態では、ＣＴＬＡ－４を標的とする薬剤は、任意選択で、イピリムマブ及びトレメリムマブから選択される、ＣＴＬＡ－４に特異的である抗体またはその抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、ＣＴＬＡ－４に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、トレメリムマブであり、３ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇまたは１０ｍｇ／ｋｇで投与され得る。いくつかの実施形態では、ＣＴＬＡ－４に特異的である抗体またはその抗原結合部分は、イピリムマブであり、１２週間５ｍｇ／ｍＬで投与され得る。

【０３７８】

ＣＤＣＰ１及び低酸素誘導因子２α（ＨＩＦ－２α）

ＣＤＣＰ１は、転移の過程及び転移の離れた部位での細胞の生存において重要な役割を果たし、酸素欠乏（低酸素）の条件下で独自の役割を実証する。したがって、ＣＤＣＰ１がＳｒｃファミリーメンバーの活性化と、プロテインキナーゼＣデルタ（ＰＫＣ－δ）のリン酸化及び制御へのＳＦＫ活性化の共役に関与する生化学的経路がある。低酸素は、フォンヒッペルリンドウ（ＶＨＬ）依存的ＨＩＦ－α分解を遮断することによって低酸素誘導因子ＨＩＦ－１α及びＨＩＦ－２αの上昇を引き起こす。ＨＩＦは２つの塩基性らせん－ループ－らせん／ＰＡＳタンパク質、ＨＩＦ－α及びアリール炭化水素核トランスロケーター（ＡＲＮＴまたはＨＩＦ－β）のヘテロ二量体である。ＨＩＦ－α及びＡＲＮＴサブユニットは、遍在的に発現しているが、αサブユニットは、正常な酸素（５～２１％Ｏ２）の条件下では不安定である。低酸素条件下（０．５～５％Ｏ２）では、ＨＩＦ－αサブユニットは安定化され、ＡＲＮＴと二量体化し、核に移行し、その後、標的遺伝子内の低酸素応答要素（ＨＲＥ）に結合する。ＨＩＦ転写の中で、標的は、グルコース代謝、血管新生、及び転移に関与する遺伝子であり、それによってＨＩＦ媒介性転写を腫瘍形成に密接に結び付けている。ＨＩＦ－１α及びＨＩＦ－２αは、いくつもの原発性及び転移性のヒトがんにおいて過剰発現している。

【０３７９】

いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、低酸素誘導因子－２（ＨＩＦ－２）阻害剤である。いくつかの実施形態では、ＨＩＦ－２阻害剤は、ＰＴ２３８５及びＰＴ２９７７から選択される。

【０３８０】

いくつかの実施形態では、抗腫瘍剤は、任意選択で、ＫＸ２－３９１、ボスチニブ、サ

ラカチニブ、及びダサチニブから選択されるＳｒｃ阻害剤でない。いくつかの実施形態では、がんは、低酸素によって特徴付けられる腫瘍である。

【０３８１】

薬学的組成物

本発明は、抗ＣＤＣＰ１抗体、その抗原結合断片、または本明細書に開示されるＣＤＣＰ１　ＡＤＣのうちのいずれか、及び薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物をさらに提供する。さらに、組成物は、本明細書に開示される２つ以上の抗ＣＤＣＰ１抗体及び２つ以上のＣＤＣＰ１　ＡＤＣを含み得る。

【０３８２】

本発明の組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態にある、薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ　２１ｓｔ　Ｅｄ．，２００５，Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ　Ｗｉｌｌｉａｍｓ　ａｎｄ　Ｗｉｌｋｉｎｓ，Ｅｄ．Ｋ．Ｅ．Ｈｏｏｖｅｒ）をさらに含み得る。許容される担体、賦形剤、または安定剤は、投薬量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾールなど）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、もしく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、もしくはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース、もしくはデキストランを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；ショ糖、マンニトール、トレハロース、もしく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、Ｚｎ－タンパク質錯体）；及び／またはＴＷＥＥＮ（商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）、もしくはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤を含む。本明細書に使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、分子または高分子の薬学的に許容される有機塩または無機塩を指す。

【０３８３】

本開示の別の実施形態は、変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量が参照試料よりも高い場合、がん患者におけるＣＤＣＰ１に結合する薬剤を含む、薬学的組成物または薬学的組成物の使用である。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、ＣＤＣＰ１に結合しＡＫＴ活性化によって特徴付けられる薬剤、またはＣＤＣＰ１活性化剤である薬剤を含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、ＣＤＣＰ１を活性化し、ＰＰＰ４Ｒ２にコンジュゲートする薬剤を含む。いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合し、それが標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内在化される薬剤を含む。臨床的用途が企図される場合、薬学的組成物は、意図された用途に適切な形態で調製され得る。一般に、このことは、パイロジェン、同様にヒトまたは動物に有害であり得る他の不純物を本質的に含まない組成物を調製することを伴うであろう。

【０３８４】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物は、本開示の薬剤、及び薬学的に許容される担体を含む。有効な用量は、有益なまたは所望の臨床結果に影響を与えるのに十分な量である。

【０３８５】

有益なまたは所望の臨床結果は、とりわけ、腫瘍サイズ及び／または腫瘍増殖の低減及び／または小分子もしくはペプチド剤の投与なしで観察されるものと比較したがんの存在に関連しているがんマーカーの低減を含み得る。有益なまたは所望の臨床結果はまた、とりわけ、小分子またはペプチド剤の投与なしで観察されるものと比較した、がんの低減に関連しているマーカーの増加した存在を含み得る。また、有益なまたは所望の臨床結果に

含まれるのは、とりわけ、阻害剤の投与なしで観察されるものと比較した、がん病因に関連するマーカーを含む遺伝子の増加した量である。がん病因に関連するマーカーを含む遺伝子は、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ４、ＧＩＴＲ、ガレクチン－９、ＨＶＥＭ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ２４４、ＣＤ１６０、ＴＩＧＩＴ、ＳＩＲＰα、ＩＣＯＳ、ＣＤ１７２ａ、及びＴＭＩＧＤ２などの免疫チェックポイント遺伝子を含み得る。

【０３８６】

がん病因に関連するマーカーを含む遺伝子は、例えば、ＨＩＦ－２阻害剤を含み得る。

【０３８７】

投薬及び投与

一般に、適切な塩及び緩衝液を用いて、送達ビヒクルを安定させ、標的細胞による取り込みを可能にすることが、望まれるであろう。本発明の水性組成物は、薬学的に許容される担体または水性媒体に溶解または分散した本発明の薬剤（例えば、リポソームまたは他の複合体または発現ベクター）を含む送達ビヒクルの有効量を含む。薬学的にまたは薬理的に許容されるという語句は、動物またはヒトに投与される際に、有害、アレルギー、または他の不都合な反応を生じない分子実体及び組成物を指す。本明細書で使用される場合、薬学的に許容される担体は、ヒトへの投与に好適な医薬品などの医薬品を調製することにおける使用のために許容される、溶媒、緩衝液、溶液、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを含む。薬剤的活性物質のためのかかる媒体及び薬剤の使用は、当該技術分野で周知である。任意の従来の媒体または薬剤が本発明の活性成分と不適合性である限りを除いて、治療用組成物におけるその使用が、企図される。補足的な活性成分もまた、それらが組成物のベクターまたはポリヌクレオチドを不活化しないという条件で、組成物に組み込まれ得る。

【０３８８】

本開示の活性組成物は、古典的な薬学的調製物を含み得る。本発明に従うこれらの組成物の投与は、標的組織がその経路を介して利用可能であるような任意の一般的な経路を介したものであり得る。これは、口腔、経鼻、または頬側を含む。代替的には、投与は、腫瘍内、皮内、皮下、筋肉内、腹腔内もしくは静脈内注射によるか、またはがん組織への直接注射によるものであり得る。本明細書に開示される薬剤はまた、カテーテル系によって投与され得る。かかる組成物は、通常、本明細書に記載されるような薬学的に許容される組成物として投与されるであろう。

【０３８９】

製剤化時に、溶液は、投薬製剤に適合した方式で、かつ治療上有効であるような量で、投与され得る。製剤は、注射液、薬物放出カプセルなどの多様な剤形で容易に投与され得る。水溶液における非経口投与のために、例えば、溶液は、一般に、好適に緩衝化され、液体希釈剤は、最初に、例えば、十分な生理食塩水またはグルコースで等張にされる。かかる水溶液は、例えば、腫瘍内、静脈内、筋肉内、皮下及び腹腔内投与のために使用され得る。好ましくは、滅菌水性媒体は、特に本開示に照らして、当業者に既知であるように用いられる。例示によって、単回用量は、１ｍｌの等張ＮａＣｌ溶液に溶解され得、１０００ｍｌの皮下輸液に添加されるか、または注入の提案された部位に注射されるかのいずれかであり得る（例えば、内容が参照により本明細書に組み込まれるＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１５ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ｐａｇｅｓ １０３５－１０３８及び１５７０－１５８０を参照されたい）。投薬量におけるいくらかの変動は、治療されている対象の状態に応じて必然的に生じるであろう。投与を担当する者が、いずれにせよ、個々の対象に適切な用量を決定するであろう。さらに、ヒト投与のために、調製物は、ＦＤＡ Ｏｆｆｉｃｅ ｏｆ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ基準によって必要とされるような、無菌性、発熱性、一般的安全性及び純度の基準を満たすべきである。

【０３９０】

いくつかの実施形態では、第１及び第２の薬剤は、いずれかの順序（例えば、第１の次

に第２または第２の次に第１）または同時に投与され得る。
【０３９１】
いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書に記載される薬剤と、少なくとも１つの他のがん生物学的、治療的、化学療法的もしくは薬物であるか、またはそれらを含む第２の薬剤と、を含む。
【０３９２】
いくつかの実施形態では、本開示の薬剤は、約１日～約１２か月の期間などの、任意の好適な期間にわたって投与され得る。いくつかの実施形態では、例えば、投与の期間は、約１日～９０日、約１日～６０日、約１日～３０日、約１日～２０日、約１日～１０日、約１日～７日であり得る。いくつかの実施形態では、投与の期間は、約１週間～５０週間、約１週間～４０週間、約１週間～３０週間、約１週間～２４週間、約１週間～２０週間、約１週間～１６週間、約１週間～１２週間、約１週間～８週間、約１週間～４週間、約１週間～３週間、約１週間～２週間、約２週間～３週間、約２週間～４週間、約２週間～６週間、約２週間～８週間、約３週間～８週間、約３週間～１２週間、または約４週間～２０週間であり得る。
【０３９３】
いくつかの実施形態では、本開示の薬剤は、毎日、隔日、毎週、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、７週間、８週間、９週間、１０週間、１１週間、１２週間、１３週間、１４週間、１５週間、１６週間、１７週間、１８週間、１９週間ごと、もしくは２０週間ごと、または毎月投与される。
【０３９４】
いくつかの実施形態では、本開示の組成物または薬剤の治療有効量は、日あたり約０．０１ｍｇ／ｋｇ～日あたり約１０ｍｇ／ｋｇであり得る。いくつかの実施形態では、投薬量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、１．５ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、７．５ｍｇ／ｋｇ、または約１０ｍｇ／ｋｇの範囲であり得る。いくつかの実施形態では、用量は、約０．１ｍｇ／日～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／日～約１０ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ／日～約２０ｍｇ／ｋｇ、約０．１ｍｇ～約３０ｍｇ／ｋｇ、または約０．１ｍｇ～約４０ｍｇ／ｋｇの範囲にあるであろう。
【０３９５】
いくつかの実施形態では、本開示の組成物または薬剤の治療有効量は、約０．１ｍｇ～約５０ｍｇ／ｋｇであり得るか、または、単回用量、分割用量、または連続用量にあり得る（患者のｋｇでの体重、m^2での体表面積、及び年での年齢年に対して調整され得る）。
【０３９６】
いくつかの実施形態では、本開示の組成物または薬剤の治療有効量は、約１ｍｇ／ｋｇ～約１０００ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ～約９５０ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ～約９００ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ～約８５０ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ～約８００ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ～約７５０ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ～約７００ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ～約６５０ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ～約６００ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ～約５５０ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇ、約５５ｍｇ／ｋｇ～約４５０ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ～約４００ｍｇ／ｋｇ、約６５ｍｇ／ｋｇ～約３５０ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ～約３００ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ～約２５０ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇ、約８５ｍｇ／ｋｇ～約１５０ｍｇ／ｋｇ、及び約９０ｍｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇであり得る。
【０３９７】
いくつかの実施形態では、本開示の組成物または薬剤の治療有効量は、０．０１ｍｇ／ｋｇ～約５００ｍｇ／ｋｇ、例えば、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約２００ｍｇ／ｋｇ（約１００ｍｇ／ｋｇなどの）、または約０．１ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇ（約０．１ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、１．５ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、６ｍｇ／ｋｇ、７．５ｍｇ／ｋｇ、または約１０ｍｇ／ｋｇなどの）。

【０３９８】
本開示のキット
本発明はまた、変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量が参照試料よりも高い場合がん患者におけるＣＤＣＰ１に結合する薬剤などの、本明細書に記載される任意の薬剤の投与を簡略化できるキットを提供する。いくつかの実施形態では、薬剤は、ＣＤＣＰ１に結合し、ＡＫＴ活性化によって特徴付けられるか、または薬剤は、ＣＤＣＰ１活性化薬剤である。いくつかの実施形態では、薬剤は、ＣＤＣＰ１を活性化し、ＰＰＰ４Ｒ２調節剤にコンジュゲートされる。いくつかの実施形態では、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤は、ＰＡＲＧ調節剤にコンジュゲートされる。
【０３９９】
本発明の例示的なキットは、単位剤形で本明細書に記載される任意の組成物を含む。いくつかの実施形態では、単位剤形は、本明細書に記載される任意の薬剤、及び薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、またはビヒクルを含む、無菌であり得る予め充填されたシリンジなどの容器である。キットは、本明細書に記載される任意の薬剤の使用を指示するラベルまたは印刷された説明書をさらに含むことができる。キットは、開瞼器、局所麻酔剤、及び投与位置に対する洗浄剤をさらに含み得る。キットは、本明細書に記載される生物学的、治療的、化学療法的または薬物などの１つ以上の追加の薬剤をさらに含むことができる。いくつかの実施形態では、キットは、本発明の組成物の有効量、及び本明細書に記載されるものなどの別の組成物の有効量を含む容器を含む。
【実施例】
【０４００】
本発明は、以下の実験例を参照して詳細にさらに記載される。これらの例は、例示のみを目的として提供され、別段明記されない限り、限定するように意図されない。したがって、本発明は、決して以下の例に限定されるように解釈されるべきではなく、むしろ、本明細書で提供される教示の結果として明らかになる任意かつ全ての変形例を包含するように解釈されるべきである。
【０４０１】
実施例１：ヒト患者腫瘍におけるＣＤＣＰ１発現
ＣＤＣＰ１発現を、ヒト腫瘍マイクロアレイにおける免疫組織化学によって評価した。腫瘍組織を、施設内審査委員会が承認した手順の下でドナーによって署名されたインフォームドコンセント文書に従って回収及び分析した。腫瘍コア（１．５ｍｍ～２．０ｍｍ直径）をホルマリン固定パラフィン包埋患者腫瘍試料から取得し、マイクロアレイを標準的方法を使用してパラフィンブロックに構築した。切片を、５μｍの厚さで切断し、スライドガラスにマウントし、免疫組織化学のために加工した。スライドを、Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｒｅｔｒｉｅｖａｌ Ｓｏｌｕｔｉｏｎ ２（ＡＲ９６４０；Ｌｅｉｃａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｂｕｆｆａｌｏ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）で前治療して抗原部位を露出させ、その後に過酸化物ブロック、非特異的抗体結合を最小限に抑えるタンパク質ブロック、一次後のポリマー試薬、ＤＡＢ色原体検出システム、及びヘマトキシリン対比染色を含む、修正されたＢｏｎｄ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｒｅｆｉｎｅ（ＤＳ９８００；Ｌｅｉｃａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｂｕｆｆａｌｏ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）検出プロトコルを使用してＣＤＣＰ１を標識することが続いた。ＣＤＣＰ１タンパク質を、Ｌｅｉｃａ Ｂｏｎｄ Ｐｒｉｍａｒｙ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｄｉｌｕｅｎｔ（ＡＲ９３５２；Ｌｅｉｃａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｂｕｆｆａｌｏ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）に１：１００で希釈したウサギ抗ＣＤＣＰ１抗体（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ＃４１１５）を使用して細胞膜上で検出した。
【０４０２】
スライドを、光学顕微鏡を使用して病理医によって染色について評価して、半定量的Ｈスコアを決定した。Ｈスコアを、各主観的染色強度について膜染色を有する腫瘍細胞の推定パーセンテージにその強度値（０＝負、１＝低い、２＝中間、３＝高い）を乗じ、次いで、合計スコアについて全ての積を足し合わせることによって計算した。例えば、細胞の

５０％が陽性に染色され全て中間の強度であり、一方で他方の５０％が染色されていない腫瘍は、１００のＨスコアを有するであろう（［５０×０］＋［０ｘ１］＋［５０×２］＋［０×３］＝１００）。Ｈスコア値が高いほど、膜染色強度及び／またはその試料中の標的タンパク質の分布が大きくなる。解釈を容易にするために、標的タンパク質発現について、２０１～３００の範囲のスコアは高く、１０１～２００の範囲では中程度、１～１００の範囲では低いと恣意的に見なされる。

【０４０３】

表１は、評価された多数の腫瘍の結果を示す。ＣＤＣＰ１発現は、アッセイされた全ての腫瘍型において認められた。Ｈスコアは、多数の独立した原発性ヒト腫瘍に与えられる。異なる患者試料は、与えられた識別子（ＮＳＣＬＣと省略される非小細胞肺癌）によって示される。患者に直接由来する腫瘍の平均スコアは、易感染性マウスにおいて増殖したヒト腫瘍（ＰＤＸ腫瘍、以下を参照されたい）からのものよりも低い傾向にあった。マウスとヒトとの間で異なる腫瘍増殖速度、腫瘍微小環境の種の違い、試料の取り扱い及び加工の違いを含む、この発見に対する複数の可能な説明がある。これらの違いにもかかわらず、アッセイされたがんの型について、マウスがんモデル及びヒト腫瘍の両方において見られるＨスコア間の顕著な重複がある。

【０４０４】

【表１Ａ】

表１．

識別子	がんの型	Ｈスコア
３６	頭頸部	２８０
Ｓ９６－１５６８	頭頸部	２３５
２８	頭頸部	２３０
３９	頭頸部	２２１
１６	頭頸部	２２０
３８	頭頸部	２０３
２９	頭頸部	２０１
３４	頭頸部	２００
４	頭頸部	１９５
Ｓ９６－１３８６	頭頸部	１９５
Ｓ９９－２６	頭頸部	１８０
３７	頭頸部	１７５
Ｓ９６－３９７０	頭頸部	１６５
４５	頭頸部	１６０
ＣＡ４	頭頸部	１５９

識別子	がんの型	Ｈスコア
Ｐ３１－ＴＣ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	２１５
Ｐ４７１－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	２０５
Ｐ１１１－ＴＰ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	２０１
Ｐ１０６－ＴＰ１６	肺－ＮＳＣＬＣ	２００
Ｐ３４３－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	２００
Ｐ１２２－ＴＣ１６	肺－ＮＳＣＬＣ	１８８
Ｐ３７２－ＴＰ１２	肺－ＮＳＣＬＣ	１８０
Ｐ３８１－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１７８
Ｐ１８３－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１６５
Ｐ３７－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	１５５
Ｐ３３６－ＴＣ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	１５０
Ｐ３００－ＴＰ１２	肺－ＮＳＣＬＣ	１４５
Ｐ２１６－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１４５
Ｐ４５０Ｔｐ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１３５
Ｐ２０７－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１３０

識別子	がんの型	Ｈスコア
１１２８１５２Ｂ	乳房	１８１
１１００４５２Ｂ	乳房	１７３
１１００５１３Ｂ	乳房	１５５
２９７７３	乳房	１５５
３００６３	胸部	１３６
１１０６５８２Ｂ	乳房	１２５
２９７７２	乳房	１１８
１１００５６７Ｂ	乳房	１１５
２９９６１	乳房	１１２
２９７５６	乳房	１００
２９７５４	乳房	１００
１１４９２６２Ｂ	乳房	９０
２９７５８	乳房	７５
１１４２１０３Ｂ	乳房	６０
１１４８０１１Ｂ	乳房	５８

【０４０５】

【表１Ｂ】

１５	頭頸部	１５８	Ｐ８８－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１２９	１０９９６９８Ｂ	乳房	３０
３	頭頸部	１５０	Ｐ２９９－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１２５	１１００４８９Ｂ	乳房	１０
ＣＡ３	頭頸部	１４５	Ｐ３０１－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	１２４	９９－６８５４	卵巣	２２０
Ｓ９８－３６２	頭頸部	１４０	Ｐ１１６－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１２０	０１－２９７０	卵巣	１７５
２６	頭頸部	１３０	Ｐ５７Ｔｐ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	１１９	ＩＬＳ３１４７７	卵巣	１６５
Ｓ９６－１９６４	頭頸部	１２５	Ｐ３６－ＴＣ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	１１５	ＩＬＳ３１１２６	卵巣	１２０
Ｓ９６－３９６８	頭頸部	１２０	Ｐ１４９－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１１０	０３－８０２６	卵巣	９５
Ｓ９６－３９７０	頭頸部	１１５	Ｐ３７５－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	１０９	ＩＬＳ３０２０２	卵巣	９２
２１	頭頸部	１１３	Ｐ３４－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	１００	ＩＬＳ３１６８０	卵巣	７５
Ｓ９６－２０４５	頭頸部	１１０	Ｐ３４１－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	９０	ＩＬＳ３１６８０	卵巣	４０
３１	頭頸部	１０３	Ｐ３１９－ＴＣ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	７０	０３－４６８４	卵巣	２５
Ｓ９６－１９６４	頭頸部	９５	Ｐ３８６－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	６９	ＩＬＳ３０９１７	卵巣	２０
Ｓ９６－３９７０	頭頸部	９５	Ｐ２４１－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	６５	ＩＬＳ２６１２３	卵巣	２
４８	頭頸部	９４	Ｐ１８－ＴＣ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	６０	ＩＬＳ３０９６５	卵巣	２
４１	頭頸部	９０	Ｐ３７４－ＴＰ１３	肺－ＮＳＣＬＣ	４０	ＩＬＳ３１１４１	卵巣	０
Ｓ９６－３９７０	頭頸部	９０	Ｐ４８５－ＴＰ１４	肺－ＮＳＣＬＣ	４０	ＩＬＳ２６１２３	卵巣	０

【０４０６】

【表１Ｃ】

Ｓ９６－１９６４	頭頸部	８０
２４	頭頸部	７０
２７	頭頸部	７０
４２	頭頸部	６７
7	頭頸部	５０
４４	頭頸部	５０
2	頭頸部	４４
３５	頭頸部	４０
３３	頭頸部	３０
２５	頭頸部	２９
ＣＡ１	頭頸部	１６
8	頭頸部	１０
２２	頭頸部	0

Ｐ１０８－ＴＰ１１	肺－ＮＳＣＬＣ	３０
Ｐ１０２－ＴＣ１５	肺－ＮＳＣＬＣ	２５

ＩＬＳ２９９６２	卵巣	0
ＩＬＳ２９９６２	卵巣	0
ＩＬＳ２８１３３	卵巣	0

【０４０７】

実施例２：患者由来異種移植（ＰＤＸ）腫瘍におけるＣＤＣＰ１発現

ＣＤＣＰ１発現を、マウスから抽出された患者由来異種移植（ＰＤＸ）腫瘍における免疫組織化学によって調査した。腫瘍を、ホルマリン固定パラフィン包埋組織に対する標準的方法を使用して加工した。切片を、５μｍの厚さで切断し、スライドガラスにマウントし、免疫組織化学のために加工した。スライドを、Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｒｅｔｒｉｅｖａｌ Ｓｏｌｕｔｉｏｎ ２（ＡＲ９６４０；Ｌｅｉｃａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｂｕｆｆａｌｏ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）で前治療して抗原部位を露出させ、その後に過酸化物ブロック、非特異的抗体結合を最小限に抑えるタンパク質ブロック、一次後のポリマー試薬、ＤＡＢ色原体検出システム、及びヘマトキシリン対比染色を含む、修正されたＢｏｎｄ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｒｅｆｉｎｅ（ＤＳ９８００；Ｌｅｉｃａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｂｕｆｆａｌｏ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）検出プロトコルを使用してＣＤＣＰ１を標識することが続いた。ＣＤＣＰ１タンパク質を、Ｌｅｉｃａ Ｂｏｎｄ Ｐｒｉｍａｒｙ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｄｉｌｕｅｎｔ（ＡＲ９３５２；Ｌｅｉｃａ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｂｕｆｆａｌｏ Ｇｒｏｖｅ，ＩＬ）に１：１００希釈したウサギ抗ＣＤＣＰ１抗体（Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カタログ＃４１１５）を使用して細胞膜上で検出した。

【０４０８】

スライドは、光学顕微鏡を使用して病理医によって染色について評価されて、実施例１に記載されるようにマイクロアレイにおける各コアに対するＨスコアを決定した。表２は、上記の方法によってアッセイされた多数のＰＤＸ腫瘍の結果を示す。Ｈスコアは、多数の独立したＰＤＸ腫瘍からの腫瘍に与えられる。異なる系統は、ＰＤＸ識別子によって示される（非小細胞肺癌はＮＳＣＬＣと省略され、一方で、小細胞肺癌はＳＣＬＣと省略される）。ＣＤＣＰ１発現は、アッセイされた全ての腫瘍型において認められた。最高の平均スコアは卵巣癌モデルに関連し、一方で、最高の絶対スコアは卵巣癌及び非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）に関連していた。全体として考えると、モデルの３１．６％が高発現カテゴリーに、６１．４％が中程度に、７％が低いものに分類される。これらのデータは、ＣＤＣＰ１を特異的に標的とする薬剤に応答する可能性し得る広範囲の腫瘍を示唆する。

【０４０９】

【表２Ａ】

表２

ＰＤＸ識別子	がんの型	Ｈスコア
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７０４	頭頸部	２２２
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２６７５５	頭頸部	２０９
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１１	頭頸部	２０８
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１	頭頸部	２０６
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７０１	頭頸部	１８５
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１２	頭頸部	１８２
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２６７７５	頭頸部	１７６．５
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７０９	頭頸部	１７０
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１５	頭頸部	１６１
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２６７７１	頭頸部	１０８
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１３	頭頸部	１０５
ＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７０８	頭頸部	４０
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０１	肺－ＮＳＣＬＣ	２６０．５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１５	肺－ＮＳＣＬＣ	２５３
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１８１	肺－ＮＳＣＬＣ	２４６．５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３	肺－ＮＳＣＬＣ	２２７
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１０７	肺－ＮＳＣＬＣ	２２０
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１２	肺－ＮＳＣＬＣ	２１８．３
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０９	肺－ＮＳＣＬＣ	２１５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１１８	肺－ＮＳＣＬＣ	２１５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１０１	肺－ＮＳＣＬＣ	２０８
ＰＤＸ－ＮＳＸ－１５１３７	肺－ＮＳＣＬＣ	１９６
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１８４	肺－ＮＳＣＬＣ	１９０
ＰＤＸ－ＮＳＸ－１２１９１	肺－ＮＳＣＬＣ	１８５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－１３１２０	肺－ＮＳＣＬＣ	１８０
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１７７	肺－ＮＳＣＬＣ	１７９
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１０６	肺－ＮＳＣＬＣ	１７５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－１１１２２	肺－ＮＳＣＬＣ	１７５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１０６	肺－ＮＳＣＬＣ	１７５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－１３１７６	肺－ＮＳＣＬＣ	１７０
ＰＤＸ－ＮＳＸ－１５１８７	肺－ＮＳＣＬＣ	１６５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１１９	肺－ＮＳＣＬＣ	１４５
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２４１１４	肺－ＮＳＣＬＣ	１４３
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１８６	肺－ＮＳＣＬＣ	８９

【０４１０】

【表２Ｂ】

ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１８６	肺－ＮＳＣＬＣ	８９
ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１７４	肺－ＮＳＣＬＣ	８６
ＰＤＸ－ＢＲＸ－２４３１２	乳房	２３０
ＰＤＸ－ＢＲＸ－１２３５１	乳房	２００
ＰＤＸ－ＢＲＸ－２４３０７	乳房	１９６
ＰＤＸ－ＢＲＸ－２４３０４	乳房	１９１
ＰＤＸ－ＢＲＸ－１２３７７	乳房	１８５
ＰＤＸ－ＢＲＸ－２４３０２	乳房	１８５
ＰＤＸ－ＢＲＸ－２４３０９	乳房	１７２
ＰＤＸ－ＢＲＸ－２４３０８	乳房	１７０
ＰＤＸ－ＢＲＸ－１１３８０	胸部	１４７
ＰＤＸ－ＯＶＸ－２４４１３	卵巣	２６８
ＰＤＸ－ＯＶＸ－２６４６６	卵巣	２３７
ＰＤＸ－ＯＶＸ－２６４０２	卵巣	２０６
ＰＤＸ－ＯＶＸ－２６４０１	卵巣	１９５
ＰＤＸ－ＯＶＸ－２６４０４	卵巣	１８５
ＰＤＸ－ＯＶＸ－２４４１２	卵巣	１０５
ＰＤＸ－ＳＣＸ－２６８７２	肺－ＳＣＬＣ	２０１
ＰＤＸ－ＳＣＸ－２６８８８	肺－ＳＣＬＣ	１７３
ＰＤＸ－ＳＣＸ－２６８８１	肺－ＳＣＬＣ	１２０
ＰＤＸ－ＢＬＡ－２６９０４	膀胱	１８３
ＰＤＸ－ＢＬＡ－２６９０３	膀胱	１７９
ＰＤＸ－ＢＬＡ－２６９０１	膀胱	１２０

【０４１１】

実施例３：ヒトがん細胞株及び初代細胞上でのＣＤＣＰ１の発現

ＣＤＣＰ１タンパク質発現を、定量的蛍光フローサイトメトリーによってＰＣ３（前立腺癌）、Ｈ１２９９（非小細胞肺癌）、ＳＣＣ－２５（頭頸部癌）、Ｈ２００９（肺腺癌）、ＰＥ／ＣＡ－ＰＪ－４９（口腔扁平上皮細胞癌）、及び原発性ヒト大動脈平滑筋細胞（ＨｕＡｏＳＭＣ）を含む広範囲のヒトがん及び正常細胞株の表面上で特徴付けた。これを達成するために、抗ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１を、製造業者の推奨プロトコルに従ってＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７抗体標識キット（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃Ａ２０１８６）を使用して蛍光色素、Ａｌｅｘａ　６４７と直接コンジュゲートさせることによる検出試薬として使用した。付着細胞を、非酵素的細胞解離緩衝液（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ＃１３１５０－０１６）を使用して解離させ、ＦＡＣＳ緩衝液（ハンクス平衡塩類溶液、２％ＦＢＳ、２５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、2ｍＭ　ＥＤＴＡ）中で洗浄し、最終的に５μｇ／ｍＬのＡｌｅｘａ　６４７コンジュゲートしたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１と７－ＡＡＤ生存色素とを含んだ染色液に再懸濁させた。バックグラウンド対照として調製された細胞について、染色緩衝液は、Ａｌｅｘａ　６４７コンジュゲートしたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１を省略し、７－ＡＡＤ生存色素のみを含有した。染色された細胞を、洗浄し、ＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁させ、直ちにＢＤ　ＦＡＣＳＤｉｖａ（商標）ソフトウェアを使用してＢＤ　ＦＡＣＳＡｒｉａ機器で取得した。７－ＡＡＤ染色に対して陽性の死細胞をゲートアウトし、ＡＰＣチャネルにおけるＡｌｅｘａ　６４７陽性細胞の背景差分された幾何学的平均蛍光強度（ｇＭＦＩ）をＦｌｏｗＪｏソフトウェアを使用して決定した。

【０４１２】
ＣＤＣＰ１レベルを、Ｂａｎｇｓ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ Ｑｕａｎｔｕｍ Ａ６４７ ＭＥＳＦキット（カタログ＃６４７）の使用を通じ、続いて製造業者の推奨プロトコルに従って、背景差分されたｇＭＦＩから計算した。簡潔には、ブランクビーズ及びＭＥＳＦ（同等の可溶性蛍光色素の分子）ビーズを、それぞれＰＢＳに希釈し、染色された細胞と同じ日に同じ蛍光設定で実行して、キットと共に提供された定量的分析テンプレート（ＱｕｉｃｋＣａｌ）を使用して検量線を確立した。背景差分されたｇＭＦＩ値を、検量線上で特定して、各細胞株に対するＭＥＳＦ単位を決定した。ＭＥＳＦ単位を、Ａｌｅｘａ ６４７コンジュゲートしたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１抗体のＦ／Ｐ（フルオロフォア対タンパク質）比率でさらに除して、細胞あたりのＣＤＣＰ１分子の数を計算した（表面露出した分子のみ）。この方法によってアッセイされた細胞株は、１２８１４分子／細胞の最低値（ＨｕＡｏＳＭＣ）から２３３５６７分子／細胞の最高値（ＰＣ３）の発現の範囲を示した（表３）。

【表３】
表３

細胞株	ＰＣ３	Ｈ１２９９	ＳＣＣ－２５	Ｈ２００９	ＰＥ／ＣＡ－ＰＪ－４９	ＨｕＡｏＳＭＣ
細胞型	前立腺癌	ＮＳＣＬＣ	頭頸部癌	肺腺癌	口腔扁平上皮癌	初代ヒト大動脈平滑筋
ＣＤＣＰ１（分子／細胞）	２３３５６７	６９００８	５１８１０	４８８５７	２４５０１	１２８１４

【０４１３】
実施例４：多発性癌におけるＣＤＣＰ１の発現とリン酸化の関与
膜貫通タンパク質ＣＤＣＰ１はＳｒｃ及びＰＫＣδに関連し、ＣＤＣＰ１が活性化する際、全ての３つのタンパク質はチロシンリン酸化の増加を示す。Ｔｙｒ－７３４は、Ｓｒｃ及びＳｒｃファミリーキナーゼによってリン酸化される部位として特定されている。ＣＤＣＰ１発現の生物情報学分析は、以下、多発性腫瘍型（乳房、結腸、膵臓、膀胱、腎臓、卵巣、肺）におけるＣＤＣＰ１発現レベルが対応する正常組織におけるものよりも高く、高レベルのＣＤＣＰ１発現が肺腺癌におけるより短い患者生存を予測し、高レベルのＣＤＣＰ１が大腸癌の５年再発率の増加と関連し、ＣＤＣＰ１チロシンリン酸化が転移性の状況において不良なアウトカムを有することが知られているトリプルネガティブ乳癌においてより高くなることを含む、がん転移及び減少した患者生存におけるＣＤＣＰ１の関与を示す。加えて、異なるレベルのＣＤＣＰ１発現は、明細胞腎細胞癌を有する患者において測定され、高レベルのＣＤＣＰ１発現を有する患者の生存率（Ｋａｐｌａｎ－Ｍｅｉｅｒプロット）が低レベルのＣＤＣＰ１を有するものよりも短いことを決定した。肺癌細胞におけるＣＤＣＰ１のチロシンリン酸化は、正常組織において見いだされるものよりも大きいことが示されており、以前の研究に記載された。ヒト肺癌腫瘍試料におけるタンパク質のチロシンリン酸化の相関分析は以前に示され、ＣＤＣＰ１のチロシンリン酸化と複数のＳＦＫとの間に強い正の相関があることが見いだされた。同様に、ヒト非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）細胞株ならびに活性化したＫＲＡＳ及び／または不活化されたＬＫＢ１腫瘍変異を有するマウスは、高レベルのリン酸化ＣＤＣＰ１及びＳＦＫを示した。

【０４１４】
ＨＩＦ－２α及びＣＤＣＰ１発現は、ＣＤＣＰ１が低酸素誘導因子２α（ＨＩＦ－２α）の標的遺伝子であるため、低酸素レベルに曝露された細胞における腫瘍転移を促進することにおいて重要な役割を果たし得る。低酸素はＨＩＦ－２αの発現ならびにＣＤＣＰ１及びＳｒｃの活性化を引き起こし、ＨＩＦ－２αの安定的ノックダウンは低酸素によるＣ

ＤＣＰ１及びＳｒｃのチロシンリン酸化を遮断する。ＨＩＦ－２αを過剰発現Ａ３７５がん細胞のマウスへの注射は対照のＡ３７５細胞よりも大きな腫瘍の形成を生み出すことが示されており、高レベルのＨＩＦ－２αを有する腫瘍もまた増強したＣＤＣＰ１タンパク質発現を含む。特に、ＨＩＦ－２α及びＣＤＣＰ１発現は、低酸素によって調節されることが知られておりＨＩＦ－２α標的遺伝子である、上皮増殖因子受容体（ＥＧＦＲ）及びＭｅｔ肝細胞増殖因子受容体と強い相関を示す。

【０４１５】

ＣＤＣＰ１の発現を、サンガープロジェクトにおける７９０のがん細胞株のプロファイルにおける４５の最も一般的な腫瘍抑制遺伝子及びがん原遺伝子にわたって野生型及び変異体細胞において比較した。野生型細胞と比較して変異体において顕著に高いＣＤＣＰ１発現を示した２つの遺伝子は、ＫＲＡＳ及びＬＫＢ１であった（図１）。ＫＲＡＳにおける強い相関は、ＣＤＣＰ１の過剰発現が発がん性ＫＲＡＳによって引き起こされ得ることを示唆した。ヒト臨床データは、ＫＲＡＳ＋ＬＫＢ１変異体腫瘍が変異体ＫＲＡＳ単独を有する腫瘍よりもはるかに高い転移率を有し、ＫＲＡＳ＋ＬＫＢ１変異体腫瘍が最も悪い臨床的アウトカムを有するサブグループであることを示す。

【０４１６】

実施例５：がんにおける治療標的としてのＣＤＣＰ１の検証

肺癌におけるＣＤＣＰ１についての役割を文書化することに特に焦点を当てることで、抗ＣＤＣＰ１治療剤の開発における最初のステップに情報を提供した。したがって、転移性腫瘍における治療標的としてＣＤＣＰ１を検証し、将来の精密医療戦略に関連する情報を導き出すための最初のステップとして、マウスにおけるＮＳＣＬＣ細胞の異種移植腫瘍におけるＣＤＣＰ１をサイレンシングする効果を決定するための実験を、行った。

【０４１７】

より良い臨床的関連性を取得するために、転移性肺癌の同所性異種移植モデルを、確立した。腫瘍を、Ａ５４９細胞（ルシフェラーゼ及びｓｈＲＮＡを有する）の皮下接種によってマウスにおいて最初に開始した。腫瘍の小片を、採取し、他のマウスの肺に入れ、ドキシサイクリンで治療した。肺腫瘍は対照ｓｈＲＮＡを有するＡ５４９細胞を有するマウスにおいて発生したが、ＣＤＣＰ１がＣＤＣＰ１特異的ｓｈＲＮＡを含むＡ５４９細胞においてサイレンシングされると、腫瘍増殖は遮断された。

【０４１８】

別の実験では、Ｈ２００９　ＮＳＣＬＣ細胞を、ルシフェラーゼ及びｓｈＲＮＡと共にマウスの皮下に接種した（図２）。腫瘍が確立するまで（約１００ｃｍ^3）治療を開始せず、その後、マウスにドキシサイクリン固形飼料を給餌した。３～４週間後、腫瘍のサイズ及び重量の大幅な低減は、ＣＤＣＰ１特異的ｓｈＲＮＡを有する細胞を接種されたドキシサイクリン治療マウスにおいてあったが、対照ｓｈＲＮＡを含む細胞を接種されたマウスにおいてはなかった。これらの研究は、ＣＤＣＰ１発現のサイレンシングが確立された腫瘍のサイズを低減できることを実証した。これらのインビボ実験は、ＣＤＣＰ１が転移した腫瘍の増殖及び生存を促進することを確立し、腫瘍増殖及び確立した腫瘍のサイズを低減するための治療標的としてＣＤＣＰ１を検証した。

【０４１９】

実施例６：抗ＣＤＣＰ１抗体の選択

抗ＣＤＣＰ１　ｓｃＦｖを、Ｍ１３バクテリオファージ上に表示されたファージミドベースのヒトｓｃＦｖナイーブ抗体ライブラリから選択した。選択は、ストレプトアビジンコーティングされた磁気ビーズ上に固定化された、ビオチン化したヒト及びマウスのＣＤＣＰ１細胞外ドメイン（ＥＣＤ；ヒト、ＲｅｆＳｅｑ　ＮＰ＿０７３７５３．３、アミノ酸１－６６３；マウス、ＲｅｆＳｅｑ　ＮＰ＿５９８７３５．２、アミノ酸１－６６７）へのファージ結合に基づいていた。ヒト、マウス、及びカニクイザルＣＤＣＰ１　ＥＣＤ（カニクイザル；ＲｅｆＳｅｑ　ＸＰ＿００５５４６９３０．１、アミノ酸３０－６６３）を、６－ヒスチジン精製タグでそれらのＮ末端上に融合させ、ＨＥＫ２９３哺乳動物細胞培養物において一過性に発現させ、Ｎｉ－ＮＴＡ親和性クロマトグラフィーによって精

製し、ＥＺ－連結ＮＨＳ－ＰＥＧ４－ビオチン（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｐｉｅｒｃｅ）で化学的にビオチン化した。

【０４２０】

選択されたファージプールの増幅が後に続く３ラウンドのファージディスプレイ選択を、３ラウンド全てでヒトＣＤＣＰ１　ＥＣＤを使用するか、またはヒト－マウス－ヒト（ＨｍＨ）ＣＤＣＰ１　ＥＣＤを交互に使用して行った。３回目のラウンドの後、２４００の個々のコロニー由来培養物を増殖させ、培養上清またはペリプラズム細菌抽出物を、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）によって、ヒト、マウス、及びカニクイザルＣＤＣＰ１　ＥＣＤ結合についてスクリーニングした。２８５の陽性ＥＬＩＳＡクローンがあり、２６１がヒトＣＤＣＰ１　ＥＣＤに結合し、１８４がマウスＣＤＣＰ１　ＥＣＤに結合し、２２８がカニクイザルＣＤＣＰ１　ＥＣＤに結合した。ＥＬＩＳＡ陽性クローンを、細胞表面にＣＤＣＰ１を発現するヒト腫瘍細胞株Ｈ１２９９への結合を評価するフローサイトメトリーアッセイによってさらに特徴付けた。このアッセイにおいて特定された全てのバインダーについて、ファージミドＤＮＡのｓｃＦｖ領域を配列決定して、独自のクローンを決定した。配列決定は、８２の独自のｓｃＦｖ配列を特定し、そのうち４８がカニクイザル、マウス、及びヒトのＣＤＣＰ１　ＥＣＤに結合した。これらのクローンを、ヒトＩｇＧ１に再編成し、ヒト腫瘍細胞インビトロ毒性（二次試薬として抗ヒト抗体毒素コンジュゲートを使用する）及び細胞ベースの生化学的結合アッセイに基づいて優先順位付けした。このプロセスは、本明細書に記載される合理的な操作によってさらなる最適化のために選択されたＣＰ１３Ｅ１０として知られる候補を特定した。

【０４２１】

ＣＰ１３Ｅ１０抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号１及び１１に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号１０及び１７に定められる。この評価プロセスによって特定された追加の候補は、抗体２３、抗体２４、及び抗体７６である。抗体２３の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号４７及び５２に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号５１及び５８に定められる。抗体２４の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号５９及び６５に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号６４及び７０に定められる。抗体７６の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号４７及び７１に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号５１及び７４に定められる。

【０４２２】

実施例７：抗ＣＤＣＰ１抗体の最適化

抗ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０のマルチパラメトリック最適化を、合理的設計操作を使用して促進した。ＣＤＣＰ１－ＥＣＤと複合体形成したＣＰ１３Ｅ１０　Ｆａｂの構造を、１．９Åの分解能で解析し、ＣＤＣＰ１結合特性を維持しながら改善した生物物理学的特性を有するＣＰ１３Ｅ１０バリアントの特定を可能にする合理的なファージディスプレイライブラリを設計するために使用した。ＣＰ１３Ｅ１０抗体の疎水性を低減させて、３つの点変異（Ｙ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（Ｈ１００Ｈ）Ｈ）をＣＰ１３Ｅ１０　ＣＤＲＨ３（ＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアント）に組み込むことによって、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）を産生するための効率的なコンジュゲーションプロセスを促進した。特徴付けのためのタンパク質を、抗ＣＰ１３Ｅ１０－３４抗体バリアント及び親ＣＰ１３Ｅ１０抗体をコードするＤＮＡをＨＥＫ－２９３細胞に一過性にトランスフェクトすることによって生成し、得られたタンパク質を、プロテインＡ親和性精製し、Ｇ－２５カラムを使用してＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２に緩衝液交換した。Ｙ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（Ｈ１００Ｈ）Ｈを保有する得られたＣＰ１３Ｅ１０－３４抗体バリアントは、溶出時間に基づく相対的な疎水性ランキングを可能にする１．５Ｍから０Ｍへの硫酸アンモニウム勾配溶出を用いるＴＳＫｇｅｌブチル－ＮＰＲクロマトグラフィーカラムを利用する分析的疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）法によって検出されるように、顕著に低減した疎水性を呈した。ＣＰ１３Ｅ１０抗体は、高い疎水性と相関する４８．６３分の溶出時間でヒトＩｇＧプール溶出エンベロープ対照の外側に溶出し、一方で、３つのＣＤＲＨ３点変異（Ｙ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（

Ｈ１００Ｈ）Ｈ）を保有するＣＰ１３Ｅ１０は、ヒトＩｇＧプール溶出エンベロープ対照プロファイル内であった２８．４２分の溶出時間を有した（図３～４）。

【０４２３】

ＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアントは、親ＣＰ１３Ｅ１０抗体よりも顕著に低い疎水性であるが、これらのＣＤＲＨ３変異の組み込みは、レポーター抗体としてビオチン化したＣＰ１３Ｅ１０抗体を用いた競合蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）アッセイを使用することによって評価された、前立腺癌（ＰＣ３）細胞の表面上に発現したＣＤＣＰ１への７倍超低い結合をもたらした（図５）。具体的には、ＣＤＣＰ１結合特性を、レポーター抗体としてビオチン化したＣＰ１３Ｅ１０抗体を用いた競合ＦＡＣＳアッセイを使用して、ＣＰ１３Ｅ１０抗体バリアントについて評価して、ＣＰ１３Ｅ１０変異体が、ＰＣ３細胞上で発現したＣＤＣＰ１抗原への結合についてこの野生型ＣＰ１３Ｅ１０抗体と効果的に競合できるかどうかを決定した。この競合ＦＡＣＳアッセイのために、親抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０レポーター抗体を、製造業者のプロトコルに従って２０：１のモル共役比率でＥＺ連結スルホ－ＮＨＳ－ビオチンスルホスクシンイミドビオチン（Ｔｈｅｒｍｏ／Ｐｉｅｒｃｅ、カタログ番号２１２１７）を使用してビオチン化した。このアッセイのためのタンパク質を、抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０バリアント及び親ＣＰ１３Ｅ１０抗体をコードするＤＮＡをＨＥＫ－２９３細胞に一過性にトランスフェクトすることによって生成し、得られたタンパク質を、プロテインＡ親和性精製し、Ｇ－２５カラムを使用してＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２に緩衝液交換した。この競合ＦＡＣＳアッセイ手順のために、ＰＣ３細胞を、細胞解離緩衝液（Ｇｉｂｃｏ、カタログ番号１３１５１－０１４）を使用してフラスコから脱離し、氷冷ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２＋３％ＦＢＳ＋０．１％アジ化ナトリウム）で１回洗浄し、５０μｌ緩衝液中の２．５×10^5個の細胞を、９６ウェルＶ底プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ　カタログ番号３８９４）中の各ウェルに添加したＦＡＣＳ緩衝液中で１．５μｇ／ｍＬに希釈したビオチン化したＣＰ１３Ｅ１０抗体を、異なる濃度の抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０バリアントまたは陽性対照としての親（ＷＴ）ＣＰ１３Ｅ１０抗体と混合し、試料を、細胞を含むプレートに添加し、氷上で１時間インキュベートした。次に、細胞を、ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄した。１：２００希釈されたストレプトアビジン－ＰＥ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ／ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　カタログ番号１２－４３１７－８７）を、添加し、室温で３０分間インキュベートした。細胞を、ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、１００μｌのＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　カタログ番号５５４６５５）を各ウェルに添加することによって、氷上で１５分間固定した。細胞を、ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄した。蛍光強度を、ＢＤ　ＦＡＣＳ　ＣＡＮＴＯ　ＩＩを使用して決定し、結果が図５に示される。Ｙ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（Ｈ１００Ｈ）Ｈを保有するＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアントへのＣＤＲＨ３点変異Ｖ（Ｈ９７）Ｅの組み込みは、親ＣＰ１３Ｅ１０抗体のものに対するこのバリアントＣＰ１３Ｅ１０－５４のＣＤＣＰ１結合特性を回復した（図５）。これらのデータは、Ｖ（Ｈ９７）Ｅの重鎖ＣＤＲ３への組み込みが、親野生型ＣＰ１３Ｅ１０抗体のものへのこのバリアントＣＰ１３Ｅ１０－５４のＣＤＣＰ１結合特性を回復したことを実証する。つまり、ＣＰ１３Ｅ１０－５４バリアントは、ＣＤＣＰ１への結合についてビオチン化したレポーター抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０抗体と同等に競合した。

【０４２４】

次いで、ＣＤＲＬ３変異Ｎ（Ｌ９３）Ｑ及びＶ（Ｌ９４）Ｅを、ＣＰ１３Ｅ１０－５４バリアントに導入して、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣを生成し、組換えＣＤＣＰ１細胞外ドメイン（ＥＣＤ）タンパク質に対する結合速度を、表面プラズモン共鳴によって決定した。具体的には、組換えヒト、カニクイザル、及びマウスＣＤＣＰ１－ＥＣＤに対する抗ＣＤＣＰ１抗体の結合動態を、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）及びＢｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００機器（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して決定した。抗ヒトＩｇＧ抗体を、製造業者の推奨を使用して、ＣＭ５カルボキシメチル化デキストランセンサーチップ表面（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）上におよそ１０，０００～１３，０００応答単位（

ＲＵ）の密度までアミン共役した。各抗ＣＤＣＰ１抗体を、１０ｍＭのＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、０．１５ＭのＮａＣｌ、３ｍＭのＥＤＴＡ、０．０５％のＰ－２０（ＨＢＳ－ＥＰ＋）中で０．５μｇ／ｍＬに希釈し、１０μＬ／分の流量で約２０～２３秒間捕捉した。１，８００ｎＭ～６６．７ｎＭの範囲のＣＤＣＰ１－ＥＣＤの４つの３倍希釈液を、５０μＬ／分の流量で注入し、５４秒間会合させ、９０秒間解離させた。センサーチップ表面を、５０μＬ／分の流量で３ＭのＭｇＣｌ$_2$の３つの３０秒パルスで再生した。全ての注入は、泳動用緩衝液及び試料緩衝液の両方としてＨＢＳ－ＥＰ＋を使用し、１Ｈｚのデータ回収速度で２５℃で実行された。センサーグラムを、対照表面及び緩衝液注入の両方を使用することによって二重に参照した。速度定数を、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００評価ソフトウェアｖ３．０及び方程式$K_D = k_d / k_a$を用いる１：１モデルにデータを適合させることによって決定した。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体は、親ＣＰ１３Ｅ１０抗体に対してヒト及びカニクイザルＣＤＣＰ１－ＥＣＤに対するそれぞれ４倍及び３倍高い親和性、ＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアントに対してヒトＣＤＣＰ１に対する１１倍超高い親和性を呈した（図６）。さらに、マウスＣＤＣＰ１－ＥＣＤに対するＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣの親和性は、親ＣＰ１３Ｅ１０抗体に対してわずかに増加し（約１．６倍）、ＣＰ１３Ｅ１０－３４バリアントに対して顕著に増加した（２０倍）図６。つまり、ＣＤＣＰ１への結合を増強するＶ（Ｈ９７）Ｅアミノ酸変化に加えて、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣを生成するためのＣＰ１３Ｅ１０－５４　ＣＤＲＬ３へのＮ（Ｌ９３）Ｑ及びＶ（Ｌ９４）Ｅの組み込みは、ヒト、カニクイザル及びマウスのＣＤＣＰ１に対する親和性をさらに増加させた。さらに、ＣＰ１３Ｅ１０－ＷＴ抗体への変異へのＹ（Ｈ１００）Ｈ、Ｗ（Ｈ１００Ｃ）Ｈ、Ｙ（Ｈ１００Ｈ）Ｈの組み込みを介して観察された好都合な疎水性低減は、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣについて維持された（図３～４）。

【０４２５】

ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号２６及び３０に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号２９及び３２に定められる。別の例では、Ｖ（Ｈ９７）Ｅ、Ｈ（Ｈ１００Ｃ）Ｑ、Ｌ（Ｈ１００Ｄ）Ｖ、Ｌ（Ｈ１００Ｅ）Ｙ、Ｄ（Ｈ１００Ｆ）Ｎ変異をＣＰ１３Ｅ１０－３４抗体に組み込んで、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１を生成し、ＳＰＲによって決定されるように、ＣＰ１３Ｅ１０－３４に対してヒトＣＤＣＰ１に対する親和性の顕著な２００倍超の増加及びマウスＣＤＣＰ１に対する１４倍の増加を呈するこのバリアントをもたらした（図６）。追加的に、ＣＰ１３Ｅ１０－２９１バリアントは、図６に示されるように、ＣＰ１３Ｅ１０－ＷＴ抗体に対してカニクイザルＣＤＣＰ１への結合の７０倍超の増加を示す。ＣＰ１３Ｅ１０－２９１抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号４４及び１１に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号４６及び１７に定められる。

【０４２６】

ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体重鎖可変領域（V_H）は、完全に、ＣＤＲＨ３の排除を伴うＩＧＨＶ１－４６＊０１（ＤＰ－７）生殖系列であるが、軽鎖可変領域（V_L）は、３つの非生殖系列フレームワーク残基を含む。免疫原性のリスクを低減するために、ＩＧＫＶ１４６（ＤＰＫ２３）を、V_Lフレームワークを生殖系列化するために選択した。さらに、ＩＧＫＶ１４６（ＩＧＫＶ３Ｄ－７＊０１、ＤＰＫ２３）生殖系列置換を使用することは、Ｅ（Ｌ７９）Ｑ生殖系列変化を組み込むことによってV_Lフレームワーク３におけるインシリコ予測されたＴ細胞エピトープを除去する。ＩＧＫＶ１４６生殖系列に基づく３つの置換（Ｌ（Ｌ４）Ｍ、Ｒ（Ｌ３９）Ｋ、Ｅ（Ｌ７９）Ｑ）を、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣに組み込んで、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１抗体を生成した。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１は、競合ＥＬＩＳＡアッセイを使用して得られた結果によって実証されるように、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣに対して同等のＣＤＣＰ１結合特性を保持する。

【０４２７】

具体的には、ＣＤＣＰ１結合特性を、レポーター抗体としてビオチン化したＣＰ１３Ｅ

１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体を用いた競合ＥＬＩＳＡを使用して、生殖系列化した抗体バリアントＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１について評価して、生殖系列化したバリアントが、ＣＤＣＰ１抗原への結合についてＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体と効果的に競合できるかどうかを決定した。この競合ＥＬＩＳＡアッセイのために、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣレポーター抗体を、製造業者のプロトコルに従って２０：１のモル共役比率でＥＺ連結スルホ－ＮＨＳ－ビオチンスルホスクシンイミドビオチン（Ｔｈｅｒｍｏ／Ｐｉｅｒｃｅ、カタログ番号２１２１７）を使用してビオチン化した。このアッセイのためのタンパク質を、抗ＣＰ１３Ｅ１０バリアントをコードするＤＮＡをＨＥＫ－２９３細胞に一過性にトランスフェクトすることによって生成し、得られたタンパク質を、プロテインＡ親和性精製し、Ｇ－２５カラムを使用してＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２に緩衝液交換した。この競合ＥＬＩＳＡ手順のために、９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ　カタログ＃３５９０）を、ヒト細胞外ドメイン組換えヒトＣＤＣＰ１タンパク質（ＣＤＣＰ１－ＥＣＤ）でコーティングした。ＣＤＣＰ１－ＥＣＤタンパク質をＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２中で１μｇ／ｍｌに希釈し、１００μｌをプレートの各ウェルに添加し、プレートを４℃で一晩インキュベートした。プレートの内容物を廃棄し、次いで、プレートをＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２＋０．０２％カゼインで室温で３時間遮断した。ＰＢＳ＋０．５％ＢＳＡ＋０．０２％トゥイーン－２０中で２０ｎｇ／ｍＬでのビオチン化したＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ抗体を、異なる濃度の抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０バリアントまたは陽性対照としての親（ＷＴ）ＣＰ１３Ｅ１０抗体と混合し、試料を、ＣＤＣＰ１コーティングされ遮断されたプレートに添加し、室温で２時間インキュベートした。ウェルを、ＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２＋０．０３％トゥイーン－２０で４回洗浄した。１：１０，０００希釈されたストレプトアビジン－ＨＲＰ（カタログ＃７１００－０５、Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ，Ａｌａｂａｍａ）を、添加し、室温で３０分間インキュベートした。ウェルをＰＢＳ－ＣＭＦ　ｐＨ７．２＋０．０３％トゥイーン－２０で４回洗浄し、次いで、ＴＭＢ（ＢｉｏＦｘ）を添加した。反応を、５～１０分間進行させ、次いで、０．１８　ＮのH_2SO_4でクエンチした。４５０ｎｍでの吸光度を決定し、結果が図７に示される。

【０４２８】

ＩＧＫＶ１４６生殖系列（Ｌ（Ｌ４）Ｍ、Ｒ（Ｌ３９）Ｋ、Ｅ（Ｌ７９）Ｑ）に基づく３つのアミノ酸置換をＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ可変軽鎖フレームワーク領域に組み込むことは、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１をもたらし、このバリアントは、完了ＥＬＩＳＡ分析において検出されたように、ヒトＣＤＣＰ１結合特性を完全に保持する（図７）。追加的に、組換えヒト、カニクイザル、及びマウスＣＤＣＰ１－ＥＣＤに対する生殖系列化したＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１の結合動態を、前述の表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）法を使用して決定し、それらはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣバリアントと同一であり、V_L生殖系列置換がＣＤＣＰ１結合特性を改変しなかったことをさらに実証した（図６）。

【０４２９】

ＰＣ３前立腺癌細胞の表面上に発現したＣＤＣＰ１へのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１の結合を、蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）を使用して評価した。この方法のために、ＰＣ３細胞を、細胞解離緩衝液（Ｇｉｂｃｏ、カタログ番号１３１５１－０１４）を使用してフラスコから脱離し、氷冷ＦＡＣＳ緩衝液（３％ＦＢＳ及び０．１％　ｗ／ｖ　NaN_3を補充したＰＢＳ－ＣＭＦ、氷冷）で１回洗浄し、５０μｌのＦＡＣＳ緩衝液中の2.5×10^5個の細胞を、９６ウェルＶ底プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ　カタログ番号３８９４）中の各ウェルに添加した。抗ＣＤＣＰ１抗体をＦＡＣＳ緩衝液中で段階希釈し、５０μＬを、ＰＣ３細胞を含む各ウェルに添加し、氷上で１時間インキュベートした。次に、９６ウェルプレートを１３００ｒｐｍで４分間遠心分離し、上清を廃棄し、細胞を１５０μＬ／ウェルのＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄した。二次検出抗体Ｒ－ＰＥコンジュゲートしたヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｓ、カタログ＃１０９－１１５－０９８）を、ＦＡＣＳ緩衝液に１：２０

０希釈し、１００μＬを、各ウェルに添加し、氷上で３０分間インキュベートした。細胞を上記のように２回洗浄し、１００μＬのＢＤ Ｃｙｔｏｆｉｘ（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ ＃５５４６５５）を各ウェルに添加し、細胞を氷上で１５分間インキュベートした。細胞を、上で認められるように２回洗浄し、次いで、１００μＬのＦＡＣＳ緩衝液に再懸濁させ、蛍光強度をＢＤ ＦＡＣＳ ＣＡＮＴＯ ＩＩを使用して決定した。これらの結果は、蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）を使用するＰＣ３前立腺癌細胞の表面上に発現したＣＤＣＰ１に結合する生殖系列ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１が、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣと区別できないことを実証する（図８）。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１抗体の重鎖及び軽鎖可変ドメインは、それぞれ配列番号２６及び３６に定められ、重鎖及び軽鎖は、それぞれ配列番号２９及び３７に定められる。

【０４３０】

ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１抗体は、ＣＤＲＨ３、具体的にはＤ（Ｈ９５）－Ｇ（Ｈ９６）において推定異性化配列傾向を含む。Ｇ（Ｈ９６）Ａ変異のＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１への組み込みは、潜在的な異性化配列傾向を取り除くがＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１に対して競合ＥＬＩＳＡにおけるＣＤＣＰ１結合特性を保持する、バリアントＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１を生成した（図９）。

【０４３１】

実施例８：システインを介したリンカー－ペイロードコンジュゲーションの部位特異的コンジュゲーションを可能にするために抗体を操作する

反応性システイン残基を通じた様々なリンカー－ペイロードへの部位特異的結合のための抗ＣＤＣＰ１抗体を調製するための方法を、一般に、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１３／０９３８０９号に記載されるように実行した。ＫａｂａｔのＥＵ番号付けに従う２９０位などの重鎖またはＫａｂａｔの番号付けによる１８３位などの軽鎖のいずれかの上の１つ以上の残基を、部位指向性変異誘発によってシステイン（Ｃ）残基へ改変した。いくつかの態様では、抗ＣＤＣＰ１抗体バリアントのヒトＩｇＧ１重鎖定常領域における位置Ｋ２９０位（ＫａｂａｔのＥＵ番号付けまたはＫａｂａｔの番号付けを使用する３０７）を、反応性システイン（Ｃ）で置換して、部位特異的コンジュゲーションを可能にした：ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０ ＨＣ（配列番号１９）、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０ ＨＣ（配列番号３３）及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０ ＨＣ（配列番号４２）。他の態様では、ヒトカッパ軽鎖定常領域の残基Ｋ１８３を、反応性システイン（Ｃ）に置換して、部位特異的コンジュゲーションを可能にした：ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０ ＬＣ（配列番号２１）、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０ ＬＣ（配列番号３４）及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０ ＬＣ（配列番号３８）。コンジュゲーションのためのタンパク質を、反応性システインで操作された抗体をコードするベクターでＣＨＯ－Ｋ１ ＳＶ １０Ｅ９宿主細胞の安定的トランスフェクションによって産生した。得られた安定的ＣＨＯプールを培養し、１１％のＤＴＮＢ（エルマン試薬、５，５’－ジチオ－ビス－［２－ニトロ安息香酸］）を１０日目に添加し、馴化培地を１２日目に採取した。得られた馴化培地を、２カラムプロセスを使用して精製した：プロテインＡ ＭａｂＳｅｌｅｃｔ ＳｕＲｅ ＬＸプラットフォーム、その後にＴＭＡＥ（５０ｍＭ ＨＥＰＥＳ ６５ｍＭ ＮａＣｌ ｐＨ７．０）が続いて、ＨＭＭＳプロセス関連の不純物を除去した。

【０４３２】

トランスグルタミナーゼ（ＴＧ）を介したコンジュゲーション

様々なリンカー－ペイロードへのコンジュゲーションのためのＫａｂａｔのＥｕ番号付けに従って、トレオニン（Ｔ）１３５位の後かつセリン（Ｓ）１３６位の前に挿入されたアシルドナーグルタミン含有トランスグルタミナーゼ（「Ｑ」）タグで操作されたヒトＩｇＧ１定常領域を有する抗ＣＤＣＰ１抗体を、産生した。グルタミン残基を通じた部位特

異的コンジュゲーションのためのＣＤＣＰ１抗体を調製するための方法を、一般に、ＰＣＴ国際公開第ＷＯ２０１２／０５９８８２号に記載されるように実行した。いくつかの態様では、Ｈ７Ｃ－グルタミンタグＬＬＱＧ（配列番号９１）を、２９５位（ＫａｂａｔのＥＵ番号付け）での内因性グルタミン（Ｑ）の効率的なトランスグルタミナーゼ媒介性部位特異的コンジュゲーションを可能にして、ＤＡＲ　４部位特異的にコンジュゲートしたＡＤＣを可能にする、Ｎ２９７Ａ（ＫａｂａｔのＥＵ番号付け）の置換に加えて、ヒトＩｇＧ１－ＣＨ１領域内のＴ１３５位の後かつＳ１３６位の前で抗ＣＤＣＰ１抗体へと操作した。抗体を、重鎖上の２２２位（ＫａｂａｔのＥＵ番号付け）でのリジン（Ｋ）アミノ酸をアルギニン（Ｒ）で置換することによって、操作されたＨ７Ｃ－グルタミンタグ及び２９５位での内因性グルタミン（Ｑ）へのトランスグルタミナーゼ媒介性コンジュゲーションの特異性を増加させるようにさらに改変した。これらのＨ７Ｃ－ＬＬＱＧグルタミンタグ、Ｎ２９７Ａ及びＫ２２２Ｒ操作された抗ＣＤＣＰ１重鎖ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣ及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣは、それぞれ、配列番号２５、３５、４３に定められる。コンジュゲーションのためのタンパク質を、グルタミン含有トランスグルタミナーゼ（「Ｑ」）タグで操作され、Ｎ２９７Ａ及びＫ２２２Ｒ変異を保有する抗体をコードするベクターでのＣＨＯ－Ｋ１　ＳＶ　１０Ｅ９宿主細胞の安定的トランスフェクションによって産生した。得られた安定的ＣＨＯプールを培養し、馴化培地を１２日目に回収した。得られた馴化培地を、２カラムプロセスを使用して精製した：プロテインＡ　ＭａｂＳｅｌｅｃｔＳｕＲｅ　ＬＸプラットフォーム、その後にＴＭＡＥ（５０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　６５ｍＭＮａＣｌ　ｐＨ７．０）が続いて、ＨＭＭＳプロセス関連の不純物を除去した。

【０４３３】

実施例９：抗ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣのＦａｂ断片のＣＤＣＰ１エピトープの結晶学的特定

ヒトＣＤＣＰ１細胞外ドメイン（ＥＣＤ）及び抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ　Ｆａｂの複合体を、１：１．１のモル比率を使用して形成し、１５．２ｍｇ／ｍＬに濃縮し、１：１のウェル対タンパク質溶液比率でハンギングドロップ技法を使用して１８℃で結晶化させた。結晶を、２０％のＰＥＧ　６Ｋ、２００ｍＭの塩化マグネシウム、２００ｍＭの塩化ナトリウム、１００ｍＭの酢酸ナトリウムｐＨ５．０を沈殿剤として使用して得た。データ回収のために、結晶を、２０％のエチレングリコールを有するリザーバー溶液中で凍結保護した。２．５Å分解能までの結晶学的データを、イリノイ州アルゴンヌにおけるＡＰＳでシンクロトロン光源を使用して回収した。結晶は、単位胞パラメータａ＝３Ｎｅｇ　Å　ｂ＝１３０．３　Å　ｃ＝１６９．９　Åを有するＰ　2_1　2_1　2_1空間群に属した。データを、ａｕｔｏＰＲＯＣを使用して加工及びスケーリングした。構造を、構造が本明細書に開示されない商標の抗体の構造を使用して、分子置換によって解析した。複合体全体のモデルを、ＣＯＯＴ及びａｕｔｏＢｕｓｔｅｒプログラムを使用して再構築及び改良した。最終的に改良されたモデルは、それぞれ、２０．４％及び２１．６％のＲｗｏｒｋ及びＲｆｒｅｅ値を有した。

【０４３４】

エピトープ及びパラトープ分析

非対称ユニットは、Ｆａｂ／抗原複合体の単一のコピーを含んだ。図１０～１１は、４．０Å以下の接触を行う抗原及び抗体残基のレンダリングを示す。表４～５は、抗体相補性決定領域（ＣＤＲ）に関与する対応するエピトープ／パラトープ接触を列挙する。まとめると、図１０～１４は、抗原に対する各ＣＤＲの位置を例示し、６つのＣＤＲ全ては、抗原接触を行う。加えて、フレームワーク残基Ｈ７１、Ｈ７３、Ｈ７４、Ｌ４９、及びＬ６７もまた、ＣＤＣＰ１と接触し、最初の２つはＣＤＣＰ１　Ｇｌｕ２４２の側鎖とＨ結合する側鎖を有する。

【０４３５】

【表４】

表４：ＣＤＣＰ１　ＥＣＤとＦａｂ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣの軽鎖相補性決定領域（ＣＤＲ）との間での４．０Å未満の接触

抗体残基	抗原残基（複数可）	一次接触型
Ｓｅｒ（Ｌ２８）	Ａｌａ５３	H結合
Ｖａｌ（Ｌ２９）	Ａｌａ５３	ファンデルワールス
Ｇｌｙ（Ｌ３０）	Ａｌａ５３、Ｐｒｏ５５	ファンデルワールス
Ｓｅｒ（Ｌ３１）	Ｔｙｒ５７、Ｔｈｒ６６	ファンデルワールス
Ｔｙｒ（Ｌ３２）	Ｔｈｒ４８、Ｐｒｏ４９、Ｔｈｒ５０	ファンデルワールス
Ａｓｐ（Ｌ５０）	Ｌｅｕ４６	ファンデルワールス
Ａｓｐ（Ｌ５０）	Ｔｈｒ６６	H結合
Ｓｅｒ（Ｌ５２）	Ｔｈｒ６６	H結合
Ａｓｎ（Ｌ５３）	Ｔｈｒ６６	H結合
Ａｓｎ（Ｌ５３）	Ｍｅｔ６７	ファンデルワールス
Ａｒｇ（Ｌ９１）	Ｌｅｕ４６、Ｐｒｏ４９	ファンデルワールス
Ａｒｇ（Ｌ９１）	Ｇｌｙ４７	H結合
Ａｌａ（Ｌ９２）	Ｐｒｏ４９	ファンデルワールス
Ｇｌｎ（Ｌ９４）	Ａｓｎ１２２グリカン	ファンデルワールス

【０４３６】

【表５】

表５：ＣＤＣＰ１　ＥＣＤとＦａｂ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣの重鎖相補性決定領域（ＣＤＲ）との間での４．０Å未満の接触

抗体残基	抗原残基（複数可）	主要接触型
Ｔｈｒ（Ｈ２８）	Ｖａｌ１７１	ファンデルワールス
Ｔｈｒ（Ｈ３０）	Ａｒｇ１７３	双極子
Ｐｒｏ（Ｈ５２Ａ）	Ｇｌｕ２４２	Ｈ結合
Ｓｅｒ（Ｈ５３）	Ａｒｇ１７３	Ｈ結合
Ｓｅｒ（Ｈ５３）	Ｇｌｕ２４２	ファンデルワールス
Ｇｌｙ（Ｈ５４）	Ｇｌｕ２４２	Ｈ結合
Ｓｅｒ（Ｈ５８）	Ａｓｎ１２２グリカン	Ｈ結合
Ｔｙｒ（Ｈ５９）	Ａｓｎ１２２グリカン	Ｈ結合
Ｇｌｎ（Ｈ６１）	Ａｓｎ１２２グリカン	ファンデルワールス
Ｇｌｎ（Ｈ６４）	Ａｓｎ１２２グリカン	Ｈ結合
Ｇｌｕ（Ｈ９７）	Ｌｙｓ４５	Ｈ結合
Ｇｌｕ（Ｈ９７）	Ｇｌｕ９２	ファンデルワールス
Ｈｉｓ（Ｈ１００）	Ｇｌｕ９２、Ｓｅｒ１６２	Ｈ結合
Ｈｉｓ（Ｈ１００）	Ｉｌｅ１２６	ファンデルワールス
Ｐｈｅ（Ｈ１００Ａ）	Ｔｈｒ１２４、Ｔｈｒ１６０、Ｓｅｒ１６２、Ａｌａ１９５、Ｌｅｕ１９６、Ｈｉｓ１９７	ファンデルワールス
Ａｓｐ（Ｈ１００Ｂ）	Ａｒｇ１７３	Ｈ結合
Ｌｅｕ（Ｈ１００Ｄ）	Ｔｈｒ１６０、Ｈｉｓ１９７	ファンデルワールス
Ｌｅｕ（Ｈ１００Ｅ）	Ａｓｎ１２２グリカン	ファンデルワールス
Ａｓｐ（Ｈ１００Ｆ）	Ａｓｎ１２２グリカン	Ｈ結合
Ｔｙｒ（Ｈ１００Ｇ）	Ｇｌｙ４７、Ｔｈｒ４８、Ａｓｎ１２２グリカン	ファンデルワールス
Ｈｉｓ（Ｈ１００Ｈ）	Ａｓｎ１２２グリカン	Ｈ結合

【０４３７】

構造は、抗原のＡｓｎ１２２に結合したＮ結合型グリカンを明らかにした（図１２～１３の空間充填表現を参照されたい）。両方の抗体鎖は、グリカンと接触する。図１５Ａ及び１５Ｂは、パラトープ／エピトープ相互作用の詳細な特徴を例示する。

図１０において明らかなように、抗原は三日月形状を採用し、抗体は三日月の内側に配置されている。図１２は、Ｐｈｅ（Ｈ１００Ａ）が界面の中心近くにあり、いずれの他のＣＤＲ残基よりも多く、６つのＣＤＣＰ１残基（表５）と接触していることを示す。Ｐｈｅ側鎖は、中心が、ＣＤＣＰ１　Ｌｅｕ１９６の骨格によってほぼ特定され、かつ境界が、ＣＤＣＰ１残基Ｔｈｒ１２４、Ｔｈｒ１６０、Ｓｅｒ１６２、Ａｌａ１９５、及びＨｉｓ１９７の側鎖によってほぼ定義されるポケットを満たす。Ｐｈｅのいずれかの側には、Ｈｉｓ（Ｈ１００）／Ｇｌｕ９２、Ｇｌｕ（Ｈ９７）／Ｌｙｓ４５、Ａｓｐ（Ｈ１００Ｂ）／Ａｒｇ１７３、及びＡｒｇ（Ｈ７１）／Ｇｌｕ２４２の間などの電荷相互作用（図１５Ａ及び１５Ｂを参照されたい）がある。複数の密接な接触を行う追加の残基は、Ｔｙｒ（Ｌ３２）であり、そのフェノール部分の周囲に巻き付いたＣＤＣＰ１のＬｅｕ４６－Ｐｒｏ５５領域を有する。Ａｒｇ（Ｌ９１）は、同じ領域の骨格と相互作用する。抗体の結合は、抗原表面（Ａｓｎ１２２に結合したグリカンを含む）のおよそ１８００　Å^{2}を包含する。

【０４３８】

実施例１０：ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣの内在化

抗体の内在化は、ＡＤＣ細胞傷害性ペイロードの腫瘍細胞の内部への送達のための重要な特徴である。したがって、抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣによって誘導されたＣＤＣＰ１内在化の評価を、ＣＤＣＰ１発現ヒト前立腺癌細胞株、ＰＣ３を使用して行った。

【０４３９】

これを達成するために、抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣを、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（商標）　ＳＡＩＶＩ（商標）　Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ（商標）　６４７抗体／タンパク質１ｍｇ標識キット（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を使用してＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７（商標）色素にコンジュゲートし、製造元の指示に従って精製した。約０．２～０．５×10^5細胞／cm^2の密度での組織培養プレート中のＰＣ３細胞を、増殖培地（ＲＰＭＩ－１６４０［Ｇｉｂｃｏ］、１０％熱不活性化胎仔ウシ血清（Ｇｉｂｃｏ））中で２μｇ／ｍＬの精製されたＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ　６４７（商標）コンジュゲート抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣに曝露し、５～１２０分の時間の間隔で３７℃でインキュベートした。インキュベーションの最後に、プレートを氷上で冷却し、培地を吸引し、細胞を過剰の氷冷リン酸緩衝生理食塩水、Ca^{2+} Mg^{2+}不含（ＰＢＳ［Ｇｉｂｃｏ］）で洗浄した。次いで、細胞を０．２５％のトリプシン－ＥＤＴＡ（Ｇｉｂｃｏ）で剥離し、その後、氷冷増殖培地を用いたトリプシンの中和が続いた。脱離した細胞を、遠心分離によりペレット化し、氷冷ＰＢＳ中で１回濯ぎ、最終ペレットを、回収し、４％のパラホルムアルデヒド（ＰＦＡ）中で４℃で２０分間固定した。このインキュベーション後、ＰＦＡを、ＰＢＳで洗浄することによって除去した。

【０４４０】

固定した試料を、低速／高感度設定で４０倍対物レンズを使用するＡｍｎｉｓ　ＩｍａｇｅＳｔｒｅａｍ（登録商標）Ｘ　Ｍａｒｋ　ＩＩ（ＥＭＤ　Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）イメージングサイトメーターで分析した。Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　６４７（商標）の蛍光シグナルを、６４２ｎｍレーザーの励起／発光設定を用いてＣｈ１１において検出した。生画像データを、ＩＤＥＡＳ（登録商標）ソフトウェアを使用して加工した。単一の細胞を、面積Ｍ０１（明視野）対アスペクト比率Ｍ０１（明視野）ドットプロットに基づいてゲートした。次いで、焦点中の細胞を、勾配ＲＭＳ＿Ｂｒｉｇｈｔｆｉｅｌｄヒストグラムに基づいてゲートした。全体、膜、及び内部区画の画像セグメンテーションに対するデジタルマスキングを、あらゆる分析された細胞に対するそれらの区画の各々におけるＡｌｅｘａＦｌｕｏｒ　６４７（商標）の相対信号強度を決定するために用い、所与の試料中の細胞集団に対する中央値として表した。次いで、各実験のための定量的データをＭｉｃｒｏｓｏｆｔ（登録商標）Ｅｘｃｅｌにエクスポートし、内部及び膜区画に対する値の間の比率を、計算し、時間に対してプロットした。エンドサイトーシスの内在化速度定数、Ｋｅを、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用する公開された手順（Ｗｉｌｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，１９８２，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５７：４２２２－４２２９）に基づいて決定して、内在化の初期線形相に対して最も適合した線形回帰直線の傾きを取得した。

【０４４１】

図１６に示されるように、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ誘導性標的内在化速度（Ｋｅ）は、ＰＣ３細胞株において０．０１３±０．００１分$^{-1}$であった。陽性のＫｅは、抗体が細胞膜から細胞へと効果的に内在化されたことを示す。これらの条件下では、抗体濃度または相対細胞密度のいずれも、内在化速度に影響を与えなかったことが見いだされた。

【０４４２】

実施例１１：ＣＤＣＰ１活性及び細胞プロセスに対するＣＤＣＰ１抗体の評価

ＮＳＣＬＣ細胞株及び肺組織において高レベルのＣＤＣＰ１タンパク質発現及びチロシンリン酸化があることが観察されたため、このことは、ＣＤＣＰ１　ＡＤＣの有効性を試験するために肺腫瘍の患者由来異種移植（ＰＤＸ）を使用するアプローチに情報を提供した。ＮＳＣＬＣ細胞の肺腫瘍（＜２００mm^3）を２１日間の前治療期間にわたってマウ

スにおいて確立し、これらの腫瘍はＣＤＣＰ１タンパク質の高発現を有した。２１日後、４つの治療を、４日間隔で送達した。ビヒクル治療マウスの腫瘍塊は、着実に進行し、１２日以内に最大サイズに達した（図１７）。対照的に、腫瘍増殖はＣＤＣＰ１－ＡＤＣ（ＣＰ１３Ｅ１０－ＳＳ３－ＬＰ１５）治療によって急速に制御され、治療の３２日目までに検出可能な疾患の兆候はなかった。陰性ＡＤＣ（陰性対照抗体に連結した）に伴ういくらかの有効性はあったが、予想外ではなかった。主要な発見は、ＣＤＣＰ１－ＡＤＣが肺腫瘍の増殖をうまく遮断したことであり、他のデータと共に、この抗体が先導する候補抗体としてさらに改良され得ることを示している。したがって、複数のＰＤＸ腫瘍モデルに対する多様なＣＤＣＰ１－ＡＤＣを、試験した。

【０４４３】

多様な実験的アプローチでは、ＣＤＣＰ１抗体もまた、ＣＤＣＰ１及びその下流の標的を活性化するそれらの能力について試験した。抗体での細胞の短期治療は、いくつかの肺（Ｈ１２９９）及び乳癌（ＭＤＡ－ＭＢ－２３１）細胞株ならびに正常な乳房上皮（ＭＣＦ１０Ａ）細胞株において、ＣＤＣＰ１チロシンリン酸化同様にＳＦＫ及びＰＫＣδの下流リン酸化を刺激した（図１８Ａ～１８Ｃ）。対照的に、ＣＤＣＰ１抗体での長期治療は、おそらく抗体媒介性内在化によるＣＤＣＰ１発現及びリン酸化の減少、ならびにＳｒｃ活性化の減少を含む下流シグナル伝達の低減を引き起こした（図１９Ａ～１９Ｂ及び図２０）。

【０４４４】

細胞の遊走及び浸潤に対するＣＤＣＰ１抗体治療の効果もまた、これらの細胞プロセスの調節におけるＣＤＣＰ１の既知の正の役割のために試験した。驚くべきことに、いくつかの異なるＣＤＣＰ１抗体でのＨ１２９９及びＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞の治療は、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌアッセイにおける細胞遊走の減少（図２１Ａ～２１Ｂ）、３次元腫瘍細胞浸潤アッセイにおける細胞浸潤の減少（図２２Ａ～２２Ｂ）を生み出した。これらの発見は、ＣＤＣＰ１活性及びその下流の細胞プロセスを実証する。

【０４４５】

細胞の遊走及び浸潤に対するＣＤＣＰ１抗体治療の効果もまた、これらの細胞プロセスの調節におけるＣＤＣＰ１の既知の正の役割のために試験した。驚くべきことに、いくつかの異なるＣＤＣＰ１抗体でのＨ１２９９及びＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞の治療は、Ｔｒａｎｓｗｅｌｌアッセイにおける細胞遊走の減少、３次元腫瘍細胞浸潤アッセイにおける細胞浸潤の減少を生み出した。ＭＤＡ－ＭＢ－２３１細胞のＣＤＣＰ１抗体での治療はまた、スフェロイドのサイズ及び浸潤を低減した。対照的に、ＭＣＦ１０Ａ及びＤＬＤ－１細胞のＣＤＣＰ１抗体での治療は、細胞遊走の増加を生み出した。腫瘍の形成及び増殖に関連するプロセスに対するＣＤＣＰ１抗体の反対の効果は、ＡＫＴがほとんどの細胞の遊走における正の役割を果たすため、異なる細胞におけるＡＫＴ活性に対するＣＤＣＰ１活性化抗体の対照的な効果に起因し得る。ＣＤＣＰ１活性化抗体は、Ｈ１２９９及びＨ１３７３細胞における基礎ＡＫＴリン酸化（活性）を低減したが、ＭＣＦ１０Ａ、Ｈ１９７５、及びＨＣＴ１１６細胞のＡＫＴに対する効果を有しなかった（図２３Ａ～２３Ｂ）。Ｈ１２９９及びＭＣＦ１０Ａ細胞におけるＡＫＴ活性に対する抗体の対照的な効果は、細胞浸潤に対するそれらのそれぞれの効果と一致している。

【０４４６】

ＣＤＣＰ１抗体はまた、前立腺癌（ＰＣ３）細胞における基礎ＡＫＴ活性及びＡＫＴ基質リン酸化を低減した（図２４Ａ～２４Ｃを参照されたい）。この阻害は２０分以内の８０％低減後に一過性であり、長期の抗体曝露中に、ＡＫＴリン酸化はＣＤＣＰ１タンパク質発現の発現の低減と一致する初期レベルに戻った。ＡＫＴリン酸化の低減は、ＳｒｃによるＣＤＣＰ１リン酸化の下流にあるＡＫＴ阻害と一致して、Ｓｒｃの阻害によって遮断された。Ｇタンパク質共役型受容体（ＩＧＦ１、Ｐ２Ｙ２、ＬＰＡ、ムスカリン）活性化の下流のＡＫＴ活性化もまた、ＣＤＣＰ１活性化によって遮断された。

【０４４７】

実施例１２：ＣＤＣＰ１シグナル伝達及び他のタンパク質とのクロストーク

ＣＤＣＰ１の生物学的役割及びＣＤＣＰ１抗体治療の効果のより大きな理解を得るために、研究を実行して、他の下流タンパク質及びシグナル伝達経路に対するＣＤＣＰ１の関与を評価した。図２５は、活性化（「７６」）及び非活性化（「２４」）抗体がＰＣ３細胞の文脈において使用された免疫沈降研究の様々なウエスタンブロット実験を示す。抗体を、無傷の細胞に添加した（８０分、４℃）。陰性対照抗体及び２４（５μｇ／ｍｌ）；７６（２０ｎｇ／ｍｌ）。優先的なＣＤＣＰ１パートナーの結合を、７６　ｍＡｂ（活性化）：ＳＲＣ、ＰＰＰ４Ｒ２及び２４　ｍＡｂ（非活性化）：ＰＡＲＧ１について観察した。７６及び２４への非優先的結合を、β－カテニン、トランスフェリン受容体、インポーチン７について観察した。

【０４４８】

実施例１３：抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＶＨ－８９ＶＬ及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１のヒトがん細胞株への結合

ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１は、フローサイトメトリーによって決定されるようなＣＤＣＰ１発現細胞への用量依存的結合を呈した。結合を、ＰＣ３（前立腺癌）、Ｈ１２９９（非小細胞肺癌）、及びＨ２００９（肺腺癌）の３つのヒトがん細胞株に対して評価した。このことを達成するために、付着細胞を、第１に細胞解離緩衝液（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ　＃１３１５０－０１６）で解離し、遠心分離によりペレット化し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ－ＣＭＦ、３％ＦＢＳ、０．１％重量／体積（ｗ／ｖ）アジ化ナトリウム）によって再懸濁させた。次いで、細胞を、同じ緩衝液中で希釈されたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣまたはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１と混合して、１００ｎＭ～０．５６５ｐＭの最終抗体濃度の範囲の３倍１２点希釈系列を生成した。細胞を、氷上で１時間抗体と共に維持し、氷冷ＦＡＣＳ緩衝液で２回洗浄し、次いで、Ｒ－ＰＥ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｓｅａｒｃｈ　Ｌａｂｓ　＃１０９－１１５－０９８）とコンジュゲートした抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃで染色した。暗所で氷上での３０分間のインキュベーション後、細胞を、２回洗浄し、ｅＦｌｕｏｒ　６６０　Ｆｉｘａｂｌｅ　Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　Ｄｙｅ（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ　＃６５－０８６４－１８）と組み合わせ、固定した（ＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘ、ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　＃５５４６５５）。染色された細胞を、ＢＤ　ＦＡＣＳＤｉｖａソフトウェアを使用するＬＳＲ　Ｆｏｒｔｅｓｓａ機器上で取得した。生細胞の背景差分されたｇＭＦＩを、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアを使用して決定し、Ｇｒａｐｈｐａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用してプロットして、EC_{50}を生成した（図２６Ａ及び２６Ｂ）。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣについて計算された値は、０．７３～１．６９ｎＭの範囲であった。ＰＣ３細胞のみについて決定されたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１のEC_{50}は、４．０６ｎＭであった（表６）。

【０４４９】

【表６】

表６

細胞株	細胞型	EC_{50}（ｎＭ）	
		ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１
ＰＣ３	前立腺癌	１．６９	４．０６
Ｈ１２９９	ＮＳＣＬＣ	０．７３	不検出
Ｈ２００９	肺腺癌	０．７７	不検出

【０４５０】

実施例１４：リンカー－細胞傷害性薬物ペイロードの部位特異的コンジュゲーションのための抗ＣＤＣＰ１抗体、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ及びＣＰ１３Ｅ１０－５４

ＨＣ－８９ＬＣｖ１の調製

システイン残基を通じた部位特異的コンジュゲーションのためのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１誘導体を調製する方法を、一般に、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１３／０９３８０９号（その全体が本明細書に組み込まれる）に記載され、上で詳細に概説されるように実行した。グルタミン残基を通じた部位特異的コンジュゲーションのためのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ誘導体を調製する方法は、一般に、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１２／０５９８８２及び／または同第ＷＯ２０１６／１６６６２９号（その全体が本明細書に組み込まれる）に記載され、上で詳細に概説されるように実行した。

【０４５１】

システイン修飾された抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０もしくはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、またはグルタミン修飾された抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａを産生するために、ＣＨＯ細胞をそれぞれの抗体をコードするＤＮＡ構築物でトランスフェクトし、安定的高産生プールを当該技術分野で周知の標準的手順を使用して単離した。２カラムプロセスを使用して、トランスフェクトされた細胞馴化培地から抗体を精製した。簡潔には、抗体を、プロテインＡ（ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ　ＬＸプラットフォーム）を使用して親和性精製し、その後にＴＭＡＥカラムを使用した精製が続いた。いくつかの場合では、フェニルセファロース疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）を使用する最終精製ステップを用いた。

【０４５２】

最終的に精製された産物を、ＳｏｌｏＶＰＥスロープ分光法、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、及び分析的ＳＥＣ（ＹＭＣ－Ｐａｃｋ　Ｄｉｏｌ－２００）によって分析した。外毒素を、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　ＬａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓからのＥｎｄｏｓａｆｅ　ＰＴＳＲＭＰＴＳ９６４及びＥｎｄｏｓａｆｅ片ＰＴＳ－２０を使用して試験した。ＣＨＯ宿主細胞タンパク質及びプロテインＡ不純物の量を、Ｃｙｇｎｕｓ　ＥＬＩＳＡアッセイ（それぞれ、カタログ番号Ｆ５５０及びＦ６１０）によって評価した。調製物は、一般に、総タンパク質の９９％を含む目的のピークと共に、１ＥＵ／ｍｇ未満の内毒素レベル、１００ｎｇ／ｍｇ未満の宿主細胞タンパク質混入、１０ｎｇ／ｍｇ未満のプロテインＡ混入、及び１％の高分子量種を実証した。

【０４５３】

実施例１５：細胞傷害性ペイロード薬物化合物の生成

アウリスタチン薬物化合物０１０１及び０１３１を、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１３／０７２８１３号（その全体が本明細書に組み込まれる）に記載される方法に従って作製した。公開された出願では、アウリスタチン化合物は、表７に示される番号付けシステムによって示される。

【０４５４】

【表７】

表７

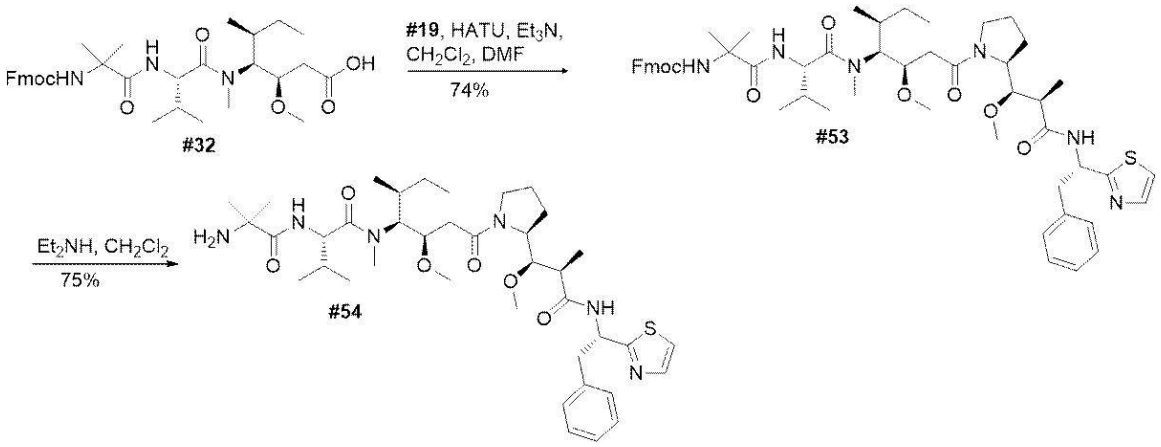
アウリスタチン薬物化合物	ＷＯ２０１３／０７２８１３における命名
０１０１	＃５４
０１３１	＃１１８

【０４５５】

ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１３／０７２８１３号に従って、薬物化合物０１０１を、以下の手順に従って作製した。

【０４５６】

【化６】



【０４５７】

参照により本明細書に組み込まれる、ＷＯ２０１３／０７２８１３に記載されるような一般的手順：

一般的手順Ａ：ジエチルアミンまたはピペリジンを使用した９－フルオレニルメチルオキシカルボニル（ＦＭＯＣ）除去。ジクロロメタンまたはＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦとも称される）中のＦｍｏｃ含有化合物の溶液に、等量のジエチルアミンまたはピペリジンを添加した。反応進行を、ＬＣ－ＭＳ（またはＨＰＬＣもしくはＴＬＣ）によって監視した。溶媒を真空中で除去し、いくつかの場合では、残留物をヘプタンで１～４回共沸させた。残留物を、通常、シリカに還元される前にジクロロメタン及び少量のメタノールで希釈し、シリカゲル上のクロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタン（または他の適切な溶媒の混合物）中のメタノールで溶出して、所望の材料を得た（または粗製材料をそのまま使用した）。

【０４５８】

一般的手順Ｄ：０－（７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＡＴＵ）との共役。ジクロロメタン、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦとも称される）、または両方の混合物中のアミン（１．０当量）及び酸（１．０～２．０当量）の撹拌溶液に、ＨＡＴＵ（１．０～２．０当量）を添加し、その後、トリエチルアミン（２．０～４．０当量）またはジイソプロピルエチルアミン（２．０～４．０当量、Ｈｕｎｉｇの塩基とも称される）が続いた。反応進行を、ＬＣ－ＭＳ（またはＨＰＬＣもしくはＴＬＣ）によって監視し、反応は、通常、３時間以内に完了した。溶媒を、真空中で除去した。残留物を、シリカゲルもしくは逆相クロマトグラフィーによって精製するか、またはいくつかの場合では、ヘプタンと共に３回共沸させ、シリカまたはＣＩ　８結合シリカに還元する前に少量の酢酸エチルで希釈し、シリカゲルまたは逆相クロマトグラフィーによって精製した。

【０４５９】

ステップ１．Ｎ－［（９Ｈ－フルオレン－９－イルメトキシ）カルボニル］－２－メチルアラニル－Ｎ－［（３Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－３－メトキシ－１－｛（２Ｓ）－２－［（１Ｒ，２Ｒ）－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソ－３－｛［（１Ｓ）－２－フェニル－１－（１，３－チアゾール－２イル）エチル］アミノ｝プロピル］ピロリジン－１－イル｝－５－メチル－１－オキソヘプタン－４－イル］－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミドの合成（＃５３）。一般的手順Ｄに従って、ジクロロメタン（２０ｍＬ、０．１Ｍ）及びＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（３ｍＬ）、アミン＃１９（２．５ｇ、３．４ｍｍｏｌ、１．２当量）、ＨＡＴＵ（１．２９ｇ、３．３８ｍｍｏｌ、１．２当量）及びトリエチルアミン（１．５７ｍＬ、１１．３ｍｍｏｌ、４当量）中の＃３２（２．０５ｇ、２．８３ｍｍｏｌ、１当量）から、粗製の所望の材料を、合成し、シリカゲルクロマトグラフィー（勾配：ヘプタン中０％～５５％アセトン）によって精製し、＃５３（２．４２ｇ、７４％）を固体として得た。ＬＣ－ＭＳ：ｍ／ｚ　９６５．７［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］，９８７．６［Ｍ＋

Ｎａ$^{+}$］，保持時間＝１．０４分；ＨＰＬＣ（プロトコルＡ）：ｍ／ｚ　９６５．４［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］，保持時間＝１１．３４４分（純度＞９７％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００　ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$），回転異性体の混合物であると推定される，特徴的シグナル：δ　７．８６－７．９１（ｍ，２Ｈ），［７．７７（ｄ，Ｊ＝３．３　Ｈｚ）及び７．７９（ｄ，Ｊ＝３．２　Ｈｚ），合計１Ｈ］，７．６７－７．７４（ｍ，２Ｈ），［７．６３（ｄ，Ｊ＝３．２　Ｈｚ）及び７．６５（ｄ，Ｊ＝３．２　Ｈｚ），合計１Ｈ］，７．３８－７．４４（ｍ，２Ｈ），７．３０－７．３６（ｍ，２Ｈ），７．１１－７．３０（ｍ，５Ｈ），［５．３９（ｄｄｄ，Ｊ＝１１．４，８．４，４．１　Ｈｚ）及び５．５２（ｄｄｄ，Ｊ＝１１．７，８．８，４．２　Ｈｚ），合計１Ｈ］，［４．４９（ｄｄ，Ｊ＝８．６，７．６　Ｈｚ）及び４．５９（ｄｄ，Ｊ＝８．６，６．８　Ｈｚ），合計１Ｈ］，３．１３，３．１７，３．１８及び３．２４（４　ｓ，合計６Ｈ），２．９０及び３．００（２　ｂｒ　ｓ，合計３Ｈ），１．３１及び１．３６（２　ｂｒ　ｓ，合計６Ｈ），［１．０５（ｄ，Ｊ＝６．７　Ｈｚ）及び１．０９（ｄ，Ｊ＝６．７　Ｈｚ），合計３Ｈ］。

ステップ２．２－メチルアラニル－Ｎ－［（３Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－３－メトキシ－１－｛（２Ｓ）－２－［（１Ｒ，２Ｒ）－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソ－３｛［（１Ｓ）－２－フェニル－１－（１，３－チアゾール－２－イル）エチル］アミノ｝プロピル］ピロリジン－１－イル｝－５－メチル－１－オキソヘプタン－４－イル］－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミドの合成（本明細書で＃５４または０１０１と称される）。一般的手順Ａに従って、ジクロロメタン（１０ｍＬ、０．０７Ｍ）中の＃５３（７０１ｍｇ、０．７２６ｍｍｏｌ）から、粗製の所望の材料を、合成し、シリカゲルクロマトグラフィー（勾配：ジクロロメタン中０％～１０％メタノール）によって精製した。残留物を、ジエチルエーテル及びヘプタンで希釈し、真空中で濃縮して、＃５４（本明細書で０１０１とも称される）（４０６ｍｇ、７５％）を白色固体として得た。ＬＣ－ＭＳ：ｍ／ｚ　７４３．６［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］，保持時間＝０．７０分；ＨＰＬＣ（プロトコルＡ）：ｍ／ｚ　７４３．４［Ｍ＋Ｈ$^{+}$］，保持時間＝６．９０３分，（純度＞９７％）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（４００　ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$），回転異性体の混合物であると推定される，特徴的シグナル：δ［８．６４（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝８．５　Ｈｚ）及び８．８６（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝８．７　Ｈｚ），合計１Ｈ］，［８．０４（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝９．３　Ｈｚ）及び８．０８（ｂｒ　ｄ，Ｊ＝９．３　Ｈｚ），合計１Ｈ］，［７．７７（ｄ，Ｊ＝３．３　Ｈｚ）及び７．８０（ｄ，Ｊ＝３．２　Ｈｚ），合計１Ｈ］，［７．６３（ｄ，Ｊ＝３．３　Ｈｚ）及び７．６６（ｄ，Ｊ＝３．２　Ｈｚ），合計１Ｈ］，７．１３－７．３１（ｍ，５Ｈ），［５．３９（ｄｄｄ，Ｊ＝１１，８．５，４　Ｈｚ）及び５．５３（ｄｄｄ，Ｊ＝１２，９，４　Ｈｚ），合計１Ｈ］，［４．４９（ｄｄ，Ｊ＝９，８　Ｈｚ）及び４．６０（ｄｄ，Ｊ＝９，７　Ｈｚ），合計１Ｈ］，３．１６，３．２０，３．２１及び３．２５（４　ｓ，合計６Ｈ），２．９３及び３．０２（２　ｂｒ　ｓ，合計３Ｈ），１．２１（ｓ，３Ｈ），１．１３及び１．１３（２　ｓ，合計３Ｈ），［１．０５（ｄ，Ｊ＝６．７　Ｈｚ）及び１．１０（ｄ，Ｊ＝６．７　Ｈｚ），合計３Ｈ］，０．７３－０．８０（ｍ，３Ｈ）。

【０４６０】

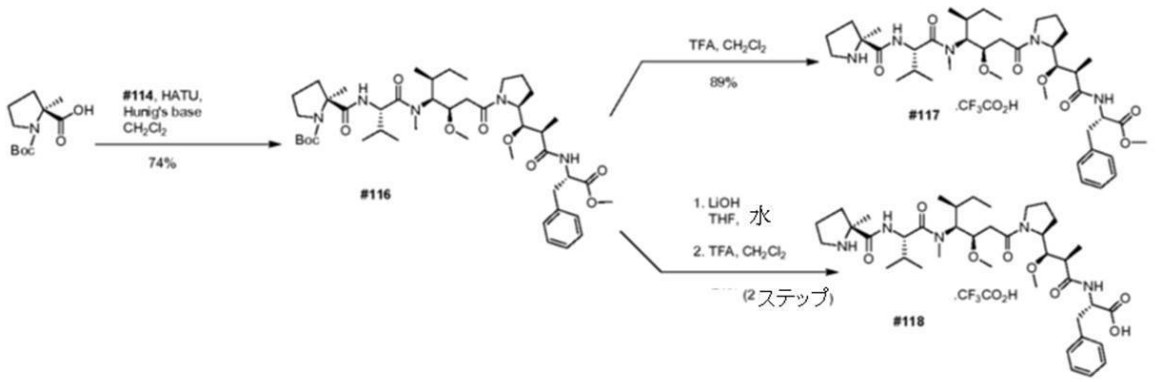
いくつかの実施形態では、薬物０１０１は、リンカー６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルカルバメート（本明細書で「ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ」、「ｍｃＶａｌＣｉｔＰＡＢＣ」または「ｖｃ」とも称される）に結合している。リンカー－細胞傷害性薬物ペイロード（ＬＰ）、ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１（本明細書で「ｖｃ０１０１」とも称される）を、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１３／０７２８１３号（その全体が本明細書に組み込まれる）に記載される方法に従って作製した。

【０４６１】

ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１３／０７２８１３号に従って、薬物化合物０１３１を、以下の手順に従って作製した。

【０４６２】

【化７】



【０４６３】

ステップＩ．ｌ－（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）－２－メチル－Ｌ－プロリル－Ｎ－｛（１Ｓ，２Ｒ）－４－｛（２Ｓ）－２－［（１Ｒ，２Ｒ）－３－｛［（１Ｓ）－１－ベンジル－２－メトキシ－２－オキソエチル］アミノ｝－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソプロピル］ピロリジン－１－イル｝－２－メトキシ－１－［（１Ｓ）－１－メチルプロピル］４－オキソブチル｝－Ｎ－メチル－Ｌバリンアミドの合成（＃１１６）。１２ｍＬのジクロロメタンの＃１１４（１．０２ｇ、１．６１ｍｍｏｌ、１．０当量）及びｌ－（ｔｅｒｔブトキシカルボニル）－２－メチル－Ｌ－プロリン（４４３ｍｇ、１．９３ｍｍｏｌ、１．２当量）の撹拌溶液に、ＨＡＴＵ（７３５ｍｇ、１．９３ｍｍｏｌ、１．２当量）を添加し、その後にＨｕｎｉｇの塩基（１．１２ｍＬ、６．４５ｍｍｏｌ、４．０当量）が続いた。反応物を、室温で２時間撹拌させた。反応物を、還元し、０．５ＮのＨＣｌ及びブラインで洗浄する前に酢酸エチルで希釈した。次いで、有機物を、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、少量に還元し、次いで、シリカ上で還元した。次いで、シリカクロマトグラフィーを実行し（勾配：ヘプタン中０％～４５％アセトン）、＃１１６（１．０２ｇ、７４％）を白色固体として得た。ＬＣ－ＭＳ（プロトコルＱ）：ｍ／ｚ　８４４．３［Ｍ＋Ｈ＋］，８６７．２［Ｍ＋Ｎａ＋］，保持時間＝２．１５分。

【０４６４】

ステップ２Ａ．２－メチル－Ｌ－プロリル－Ｎ－｛（１Ｓ，２Ｒ）－４－｛（２Ｓ）－２－［（１Ｒ，２Ｒ）－３－｛［（１Ｓ）－１－ベンジル－２－メトキシ－２－オキソエチル］アミノ｝－ｌ－メトキシ－２－メチル－３－オキソプロピル］ピロリジン－１－イル｝－２－メトキシ－ｌ－［（１Ｓ）－１－メチルプロピル］－４－オキソブチル｝－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミド、トリフルオロ酢酸塩の合成（＃１１７）。０℃で７ｍＬのジクロロメタン中の＃ｌ１６（４５０ｍｇ、０．５３３ｍｍｏｌ、１．０当量）の撹拌溶液に、ＴＦＡ（３ｍＬ、４０ｍｍｏｌ、７０当量）を、添加した。反応物を、０℃で５分間撹拌させ、次いで、２０分間撹拌しながら室温まで温めさせた。反応物を還元し、シリカに還元する前にジクロロメタン及び少量のメタノールで希釈した。次いで、シリカクロマトグラフィーを実行し（勾配：酢酸エチル中０％～２０％メタノール）、＃１１７（３９６ｍｇ、８９％）を白色固体として得た。ＬＣ－ＭＳ（プロトコルＱ）：ｍ／ｚ　７４４．５［Ｍ＋Ｈ＋］，７６７．２［Ｍ＋Ｎａ＋］，保持時間＝１．４０分；ＨＰＬＣ（４５℃でのプロトコルＡ）：ｍ／ｚ　７４４．５［Ｍ＋Ｈ＋］，保持時間＝７．１４９分（純度＞９１％）。１ＨＮＭＲ（４００　ＭＨｚ，ＤＭＳＯｄ６），８　８．７３－９．１４（ｍ），８．６６（ｂｒ　ｄ），８．５０（ｄ），８．２２（ｄ），７．１２－７．２５（ｍ），４．６７－４．７４（ｍ），４．４１－４．６３（ｍ），３．９３－４．００（ｍ），３．７３（ｄｄ），３．６３（ｄ），３．４６－３．５７（ｍ），３．３８－３．４５（ｍ），３．２６－３．２３（ｍ），３．２２－３．２５（ｍ），３．０６－３．２２（ｍ），２．９９－３．０５（ｍ），２．９３－２．９７（ｍ），２．８０－２．８９（ｍ），２．７５－２．７８（ｍ），２．６４－２．６７（ｍ），２．４６－２．５０（ｍ），２．２７－２．４３（ｍ），２．００－２．２６（ｍ），１．８５－１．９９（ｍ

），１．７０－１．８３（ｍ），１．５２－１．６９（ｍ），１．３３－１．５１（ｍ），１．１８－１．３１（ｍ），０．９８－１．０７（ｍ），０．９３－０．９７（ｍ），０．８２－０．９２（ｍ），０．７１－０．７８（ｍ）。

【０４６５】

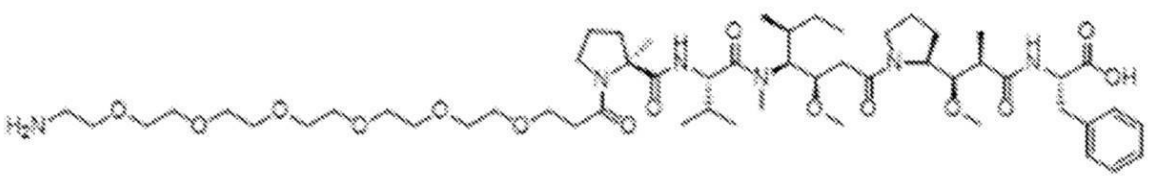
ステップ２Ｂ．２－メチル－Ｌ－プロリル－Ｎ－［（３Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－ｌ－｛（２Ｓ）－２－［（１Ｒ，２Ｒ）－３－｛［（１Ｓ）－１－カルボキシ－２－フェニルエチル］アミノ｝－ｌ－メトキシ－２－メチル－３－オキソプロピル］ピロリジン－ｌ－イル｝－３－メトキシ－５－メチル－ｌ－オキソヘプタン－４－イル］－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミド、トリフルオロ酢酸塩の合成（＃１１８）。窒素下の４ｍＬのＴＨＦ中の＃１１６（４３５ｍｇ、０．５１５ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、２ｍＬの水に溶解したＬｉＯＨ（２４．７ｍｇ、１．０３ｍｍｏｌ、２．０当量）を、添加した。反応物を、ＬＣ－ＭＳがメチルエステルの鹸化を示すまで、室温で撹拌させた。反応物を、真空中で濃縮し、次いで、真空下に置いた。反応物を、ジクロロメタンで希釈し、窒素下に置いた。この撹拌混合物に、ＴＦＡ（３ｍＬ、４０．５ｍｍｏｌ、８０当量）を、添加した。反応物を、室温で３０分間撹拌した。次いで、反応物を、還元させた。残留物を、中圧逆相Ｃ１８クロマトグラフィー（勾配：各相中に０．０２％ＴＦＡを有する水中の５％～６０％アセトニトリル）＃１１８（３９６ｍｇ、８９％）によって白色固体として精製した。ＬＣ－ＭＳ（プロトコルＱ）：ｍ／ｚ　７３０．２［Ｍ＋Ｈ＋］，保持時間＝１．１８分；ＨＰＬＣ（４５℃でのプロトコルＡ）：ｍ／ｚ　７３０．５［Ｍ＋Ｈ＋］，保持時間＝７．０８８分（純度＞９８％）。１Ｈ　ＮＭＲ（４００　ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－ｄ６），８　９．０４－９．１３（ｍ），８．７５－８．８７（ｍ），８．７０（ｄ），８．３８（ｄ），８．ｌｌ（ｄ），７．１０－７．２４（ｍ），４．６６－４．７４（ｍ），４．４８－４．６４（ｍ），４．３７－４．４７（ｍ），３．９１－３．９９（ｍ），３．７７（ｍ），３．４７－３．５６（ｍ），３．３３－３．４７（ｍ），３．０８－３．３０（ｍ），２．９３－３．０７（ｍ），２．７５－２．８６（ｍ），２．６３－２．６９（ｍ），２．４５－２．５０（ｍ），２．２８－２．４４（ｍ），２．０３－２．２７（ｍ），１．８８－２．０２（ｍ），１．６８－１．８６（ｍ），１．５５－１．６７（ｍ），１．３０－１．４７（ｍ），１．１７－１．２９（ｍ），０．９８－１．０５（ｍ），０．９３－０．９７（ｍ），０．８３－０．９２（ｍ），０．７１－０．７９（ｍ）。

【０４６６】

ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１６／１６６６２９号（その全体が本明細書に組み込まれる）に従って、アシルドナー抗体へのコンジュゲーションを可能にするアミンドナーリンカーに共役したアウリスタチン化合物０１３１（２－メチル－Ｌ－プロリー－Ｎ－［（３Ｒ，４Ｓ，５Ｓ）－１－｛（２Ｓ）－２－［（１Ｒ，２Ｒ）－３－｛［（１Ｓ）－１－カルボキシ－２－フェニルエチル］アミノ｝－１－メトキシ－２－メチル－３－オキソプロピル］ピロリジン－１－イル｝－３－メトキシ－５－メチル－１－オキソヘプタン－４－イル］－Ｎ－メチル－Ｌ－バリンアミドの化学名を有する）は、本明細書でアミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－０１３１と称され、以下の構造を有する。

【０４６７】

【化８】



【０４６８】

実施例１６：ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０、及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ抗体のバイオコンジュゲーション

本発明の抗体を、リンカーを介して細胞傷害性薬物ペイロードにコンジュゲートして、抗体薬物コンジュゲート（ＡＤＣ）を生成した。使用されたコンジュゲーション方法は、部位特異的であった（すなわち、特定のシステイン残基または特定のグルタミン残基を介した）。

【０４６９】

ＡＤＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を、システイン部位特異的方法を使用した化学的コンジュゲーションを通じて産生した。リンカー－細胞傷害性薬物ペイロード（ＬＰ）、ｍｃ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１（本明細書でｖｃ０１０１とも称される）を、それらの操作されたシステイン残基を介して実施例１４に記載されるように調製された、抗ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０またはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０にコンジュゲートさせた。第１のステップとして、５－チオ－２－ニトロ安息香酸（ＴＮＢ）キャップした抗体を、２０倍モル過剰のトリス（３－スルホナトフェニル）ホスフィン（ＴＳＰＰ）によって３７℃で３時間還元し、その後、過剰なＴＳＰＰを除去した。還元された抗体を、２倍モル過剰のデヒドロアスコルビン酸（ＤＨＡ）中で２５℃で０．５時間インキュベートして、鎖間ジスルフィド結合を再形成した。ＬＰを、１０のＬＰ／抗体モル比率で反応混合物に添加し、１５％（体積／体積）のジメチルアセトアミド（ＤＭＡ）の存在下で２５℃でさらに１．５時間反応させた。インキュベーション後、２０倍モル過剰のＬ－システインを添加して、任意の未反応のＬＰをクエンチした。

【０４７０】

次いで、反応混合物を、脱塩して遊離ＬＰを除去し、疎水性相互作用クロマトグラフィー（ＨＩＣ）を介して精製した。精製したＡＤＣを、２０ｍＭのヒスチジン、８５ｍｇ／ｍＬのショ糖、ｐＨ５．８の製剤緩衝液中に透析し、－８０℃で保存した。タンパク質濃度を、ＵＶ分光光度計を介して決定した。ＡＤＣを、純度についてＳＥＣ、薬物負荷プロファイル及び薬物抗体比率（ＤＡＲ）を計算するための逆相（ＲＰ）ＵＰＬＣ及び液体クロマトグラフィーエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析（ＬＣ－ＥＳＩ　ＭＳ）を介してさらに特徴付けた。最終的なＡＤＣ調製物は、一般に、５％の高分子量種及びおよそ４のＤＡＲを有する９５％超のモノマー純度を有した。

【０４７１】

ＡＤＣ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ－アミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－０１３１（すなわち、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ－ＡｍＰＥＧ６Ｃ２－０１３１）を、グルタミン部位特異的アミド交換法を使用する化学的コンジュゲーションを通じて産生した。アミド転移反応では、抗体上のグルタミンは、アシルドナー、及びリンカー－細胞傷害性ペイロード上のアミン含有化合物、アシル受容体（アミンドナー）として作用した、ＰＣＴ公開第ＷＯ２０１６／１６６６２９号（その全体が本明細書に組み込まれる）に記載される構造を有するアミノ－ＰＥＧ６－Ｃ２－０１３１（本明細書でアミノＰＥＧ６－プロピオニルまたはＡｍＰｅｇ６Ｃ２－０１３１とも称される）として作用した。精製された抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ（アシルドナー）を、ｐＨ範囲７．５～８．５での２００ｍＭの塩化ナトリウム及びＴｒｉｓ　ＨＣｌ緩衝液中の０．７５単位／ｍｇの抗体（最終濃度）Ｓｔｒｅｐｔｏｖｅｒｔｉｃｉｌｌｉｕｍ　ｍｏｂａｒａｅｎｓｅトランスグルタミナーゼの存在下で、１～２ｍＭのＡｍＰｅｇ６Ｃ２－０１３１（最終濃度）の範囲の１０～２５モル過剰のアシルアクセプターと共にインキュベートした。２５℃で１４～２０時間のインキュベーション後、抗体薬物コンジュゲートを、当業者に既知の標準的クロマトグラフィー法を使用して、ブチルセファロースＨＩＣ－ＦＰＬＣ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）によって精製した。

【０４７２】

精製したＡＤＣを、２０ｍＭのヒスチジン、８５ｍｇ／ｍＬのショ糖、ｐＨ５．８の製剤緩衝液中に透析し、－８０℃で保存した。タンパク質濃度を、ＵＶ分光光度計を介して

決定した。ＡＤＣを、純度についてＳＥＣ、薬物負荷プロファイル及び薬物抗体比率（ＤＡＲ）を計算するための逆相（ＲＰ）ＵＰＬＣ及び液体クロマトグラフィーエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析（ＬＣ－ＥＳＩ　ＭＳ）を介してさらに特徴付けた。最終的なＡＤＣ調製物は、一般に、５％の高分子量種及びおよそ４のＤＡＲを有する９５％超のモノマー純度を有した。

【０４７３】

実施例１７：ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣの特徴付け

コンジュゲーション後（実施例１６及び１７を参照されたい）、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣを、２０ｍＭのヒスチジン、８５ｍｇ／ｍＬのショ糖、ｐＨ５．８中に製剤化し、３．２７ｍｇ／ｍＬでは、溶解性、粘度または凝集体形成に伴う明らかな問題はなかった。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を、純度についてサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）、薬物負荷プロファイル及び薬物抗体比率（ＤＡＲ）を計算するための逆相（ＲＰ）ＵＰＬＣ及び液体クロマトグラフィーエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析（ＬＣ－ＥＳＩ　ＭＳ）を介して特徴付けた。これらの結果は、ＤＡＲ　４．０　ＡＤＣの全体的な収率が５１％であり、遊離薬物がＬＯＱ未満であったことを示す。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣの完全性を決定するために、純度パーセントを、非還元及び還元キャピラリーゲル電気泳動（ｃＧＥ、Ｃａｌｉｐｅｒ　ＬａｂＣｈｉｐ　ＧＸＩＩ：Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）を使用して計算した。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣは優れた完全性を示し、調製物は、非還元ｃＧＥを使用する９９．４７％無傷のＡＤＣならびに還元条件下で重鎖及び軽鎖の９９．９１％の存在で、ＨＭＭＳまたはＬＭＭＳを実質的に欠くことが示された。示差走査熱量測定（ＤＣＳ）を使用して、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣの熱的安定性を決定した。この分析のために、２０ｍＭのヒスチジン、８．５％のスクロース、０．００５％のＥＤＴＡ、ｐＨ５．８中に製剤化されたＡＤＣを、オートサンプラーを有するＭｉｃｒｏＣａｌ　ＶＰ－キャピラリーＤＳＣ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　Ｂｉｏ－Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）の試料トレイに分注し、１０℃で５分間平衡化させ、次いで、毎時１００℃の速度で１１０℃までスキャンした。１６秒のフィルタリング期間を、選択した。生データをベースライン補正し、タンパク質濃度を正規化した。Ｏｒｉｇｉｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　７．０（ＯｒｉｇｉｎＬａｂ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｎｏｒｔｈａｍｐｔｏｎ，ＭＡ）を使用して、適切な数の遷移を有するＭＮ２状態モデルにデータを適合させた。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣは、以下の融解転移点、Ｔｍ１＝　６５．１５℃、Ｔｍ２＝７８．９７℃、Ｔｍ３＝８５．４５℃、及び見かけのＦａｂ　Ｔｍ＝７９．２℃によって実証されるように良好な熱的安定性を呈した。まとめると、これらの結果は、ヒトＩｇＧ１重鎖定常領域における操作された位置Ｃ２９０（ＫａｂａｔのＥＵ番号付けまたはＫａｂａｔの番号付けを使用して３０７）及び抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１抗体のカッパ定常領域におけるＫａｂａｔの番号付けに従うＣ１８３に対するｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ（本明細書で「ｖｃ」とも称される）リンカーを介したアウリスタチン０１０１（＃５４とも称される）のその部位特異的コンジュゲーションが、優れた完全性及び熱的安定性を有するコンジュゲートをもたらしたことを実証する。

【０４７４】

抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０及びそのそれぞれの部位特異的にコンジュゲートしたＡＤＣ、組換えヒトに対するＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、ＣＤＣＰ１－ＥＣＤの結合動態を、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）及び実施例７に記載される方法を使用するＢｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００機器（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用してｐＨ７．４及びｐＨ６．

８で決定した。ｐＨ６．８対生理学的ｐＨ７．４でＣＤＣＰ１－ＥＣＤへのＡＤＣ結合の比較を行って、ＡＤＣが酸性腫瘍微小環境内で結合することができるかどうかを解明した。ｐＨ７．４では、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０抗体及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣ両方は、同様のK_D値を有する（図２７）。さらに、ｐＨ６．８でのK_D値ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０抗体及びヒトＣＤＣＰ１　ＥＣＤに対するそのそれぞれの部位特異的にコンジュゲートしたＡＤＣは、ｐＨ７．４で計算されたものと同様である（図２７）。これらの組み合わせた結果は、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣが酸性腫瘍微小環境内でＣＤＣＰ１に結合するであろうことを示唆する。さらに、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　ＡＤＣについて得られた結合動態値は、ヒトＩｇＧ１重鎖定常領域における操作された位置Ｃ２９０（ＫａｂａｔのＥＵ番号付けまたはＫａｂａｔの番号付けを使用して３０７）及び抗ＣＤＣＰ１　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１抗体のカッパ定常領域におけるＫａｂａｔの番号付けに従うＣ１８３に対するｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ（本明細書で「ｖｃ」とも称される）リンカーを介したアウリスタチン０１０１（＃５４とも称される）のその部位特異的コンジュゲーションが、ＣＤＣＰ１結合特性を改変しないことを実証する。

【０４７５】

実施例１８：抗体依存的細胞媒介性細胞傷害性

抗体依存的細胞傷害性（ＡＤＣＣ）は、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞上のＦＣγＲＩＩＩａ受容体との、標的細胞の表面に結合した抗体のＦｃ部分の会合を通じて生じる。ＦＣγＲＩＩＩａとの標的細胞結合抗体相互作用は、標的細胞を殺滅するグランザイムなどの細胞溶解分子の放出をもたらすエフェクターＮＫ細胞におけるシグナル伝達を誘導する。抗体の抗腫瘍活性は、ＡＤＣＣに部分的に起因し得るか、またはＡＤＣＣによって増強され得る。ＣＤＣＰ１抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０及びＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を、インビトロで標的細胞上にＡＤＣＣを誘導するそれらの能力について評価した。この例では、２つの方法が使用され、１つはフローサイトメトリーベースの、１つはルシフェラーゼレポーターベースのアッセイである。

【０４７６】

フローサイトメトリーベースの方法では、標的ＰＣ３細胞を、３７℃、５％のCO_2で一晩プレーティングした。細胞を、アッセイ培地（ＲＰＭＩ－１６４０（Ｇｉｂｃｏ）、１０％超低ＩｇＧ　ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ））中で９６ウェル組織培養プレート中で１０，０００細胞／ウェルで播種した。エフェクターＮＫ細胞を、ＣＤ５６＋／ＣＤ１６＋　ＮＫ細胞単離キットを使用する負の選択によって健康なヒトドナーから単離した。標的細胞をＣｅｌｌ　Ｔｒａｃｅ　Ｆａｒ　Ｒｅｄ（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒで蛍光標識し、その後、抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０またはＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の希釈系列を標的細胞に添加した。次いで、ＮＫエフェクター細胞を、７：１のエフェクター対標的比率のためにウェルあたり７０，０００細胞で添加した。この共培養物を、３７℃、５％のCO_2で４時間インキュベートした。次いで、非付着細胞を含む培地を、回収し、その後の使用のために取っておいた。付着細胞を、解離させ（細胞解離緩衝液、Ｇｉｂｃｏ）、遠心分離によって回収した。ペレット化した細胞を、非付着細胞を含むそれらの対応する培地と組み合わせ、生／死バイオレット死細胞染色（ＴｈｅｒｍｏＦｉｓｈｅｒ）で染色した。染色された細胞をＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａフローサイトメーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）上に流し、標的ＰＣ３細胞をＣｅｌｌＴｒａｃｅ　Ｆａｒ　Ｒｅｄ染色上でゲートした。死ＰＣ３細胞のパーセンテージを、ＰＣ３ゲートにおける生／死固定可能バイオレット死細胞染色陽性細胞によって決定した。図２８Ａに示されるように、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０及びＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の両方は、ＡＤＣＣを誘導し、ＮＫ細胞

上の受容体ＦＣγＲＩＩＩａに会合する。
【０４７７】
ＡＤＣＣもまた、ルシフェラーゼＡＤＣＣレポーターバイオアッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して評価した。このキットでは、操作されたＡＤＣＣレポーターＪｕｒｋａｔ細胞（バイオアッセイエフェクター細胞）はＦｃγＲＩＩＩ高親和性Ｖ１５８バリアント、及び抗体Ｆｃ結合によるＦｃγＲＩＩＩの活性化後にホタルルシフェラーゼの発現を駆動するＮＦＡＴ応答エレメントを安定的に発現する。ＰＣ３標的細胞を、９６ウェル組織培養プレート中にウェル当たり６２５０個の細胞で、３７℃、５％のCO_2で一晩プレーティングした。翌日、プレーティング培地（ＲＰＭＩ－１６４０（Ｇｉｂｃｏ）、１０％超低ＩｇＧ　ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）を除去し、抗体ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０またはＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の段階希釈を、添加し、室温で１５分間インキュベートした。次いで、バイオアッセイエフェクター細胞を、１２：１のエフェクター対標的比率で標的細胞に添加し、３７℃、５％のCO_2で一晩インキュベートした。翌日、７５μＬのＢｉｏ－Ｇｌｏルシフェラーゼアッセイ試薬を各ウェルに添加し、相対光単位（ＲＬＵ）における発光をＥｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用して測定した。図２８Ｂに示されるように、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０及びＡＤＣ　ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の両方は、ルシフェラーゼレポーター発現を誘導し、したがって、ＡＤＣＣ活性を示している受容体ＦＣγＲＩＩＩａに会合する。
【０４７８】
実施例１９：ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７－ＡｍＰＥＧ６Ｃ２－０１３１のインビトロ細胞傷害性
ＣＤＣＰ１　ＡＤＣｓ、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ－ＡｍＰＥＧ６Ｃ２－０１３１細胞傷害性を、幅広い細胞型、例えば、ヒト前立腺癌ＰＣ３、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）Ｈ１２９９、頭頸部癌ＳＣＣ－２５、肺腺癌Ｈ２００９、口腔扁平上皮癌ＰＥ／ＣＡ－ＰＪ－４９、及び初代ヒト大動脈平滑筋細胞（ＨｕＡｏＳＭＣ）に対して評価した。細胞を、６００ｎＭ～０．３５７２２５ｐＭの濃度の範囲のそれぞれのＡＤＣの６倍の９点希釈系列においてインキュベートした。細胞を、標準組織培養インキュベーター中で４日間維持し、その後、ＡＴＰｌｉｔｅ試薬を使用し、かつ製造業者が提案したプロトコル（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ　＃６０１６７３１）に従う生存分析が続いた。３反復の試料の発光計数の平均を、培地のみ対照（ＡＤＣなしの増殖培地）に正規化して、生存パーセントを計算した。ＡＤＣ　IC_{50}（細胞生存が５０％阻害される濃度）を、ロジスティック非線形回帰分析を使用して計算した。
【０４７９】
表８は、細胞株にわたる試験ＡＤＣのIC_{50}を示す。３つのＡＤＣは全て、全てのがん細胞株に対する細胞傷害性であった。しかしながら、ＣＤＣＰ１の最も少ない量を発現した非腫瘍原性の初代大動脈平滑筋細胞は、ＡＤＣの細胞傷害性効果に対して非常に抵抗性であった（陰性対照と異ならなかった）。ＣＤＣＰ１発現及び細胞傷害性の間に絶対的な相関はなかったが、最も感受性の高い細胞型であるＰＣ３は、最高レベルのＣＤＣＰ１を発現し、一方で、減少した細胞傷害性はより低い発現物（ｅｘｐｒｅｓｓｅｒ）と関連していた。
【０４８０】

【表８】

表８

細胞株	細胞型	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１ ＩＣ$_{50}$（ｐＭ）	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１ ＩＣ$_{50}$（ｐＭ）	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ－ＡｍＰＥＧ６Ｃ２－０１３１ ＩＣ$_{50}$（ｐＭ）	ｍＡｂＮｅｇ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１（陰性対照） ＩＣ$_{50}$（ｐＭ）	Ａｕｒ０１０１（ペイロードなし） ＩＣ$_{50}$（ｐＭ）
ＰＣ３	前立腺癌	３６．１±１４．９	４４．２±６．１	７．８	１２６７２３．３±１０５００６．４	６３．６
Ｈ１２９９	ＮＳＣＬＣ	９４７５．０±３９７．４	１８２８０±７２９７．３	３６．６	２５４２００±１２４４５．１	２０１．９
ＳＣＣ－２５	頭頸部癌	６４９．４±１７５．８	６４９．８±３０６．２	５３７．３	６８９３６．７±２３０８３．２	４７．０
Ｈ２００９	肺腺癌	７５４．６±２８４	１０１３．９±４００．９	２４２．９	１４８９０６．７±８５３９１．１	１１５．６
ＰＥ／ＣＡ－ＰＪ－４９	口腔扁平上皮癌	４１９２．３±２４９６．０	５６０４．３±４０１１．４	２２８２	６６４６６．７±２０１０９．０	３７．３
ＨｕＡｏＳＭＣ	初代大動脈平滑筋	２６９２６６．７±３７６４６．３	３００２３３．３±３６０７７．２	４２６４０００	３０１１６６．７±３７４０９．４	１７６．４

【０４８１】

実施例２０：患者由来異種移植（ＰＤＸ）担腫瘍マウスにおけるＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ－ＡｍＰＥＧ６Ｃ２－０１３１のインビボ有効性

ＡＤＣの効果を、免疫不全ＮＯＤ／ＳＣＩＤマウスに移植されたヒト腫瘍患者由来異種移植（ＰＤＸ）のインビボ増殖に対して評価した。初期のＰＤＸ細胞株を確立するために、初代ヒト腫瘍切除試料を、ヒト対象のための施設内審査委員会の承認に従い、ＨＩＰＡＡ規制に従って、臨床現場から調達した。腫瘍断片をマウスの皮下に移植し、動物を、健

康状態について毎日、かつ目視に検査よる腫瘍増殖について週当たり２回監視した。腫瘍が触知可能になると、腫瘍増殖を追跡し細胞の倍加時間を推定するために、腫瘍体積の測定を開始した。腫瘍体積を、方程式Ｖ＝（Ａ＊Ｂ^{2}）／２を使用して推定し、式中、Ａは長軸であり、Ｂは短軸である。腫瘍が５００ｍｍ^{3}～１，５００ｍｍ^{3}の体積に達した際に、それらを、研究のため、かつＰＤＸ系列としてナイーブマウスへの再移植のために採取した。腫瘍を、マウスにおける凍結保存または追加の継代のために、機械的に断片へと分離した。

【０４８２】

有効性研究のために、ＰＤＸ腫瘍を、継代マウスから無菌的に採取し、およそ２ｍｍの直径の断片に細かく刻んだ。ＰＤＸ腫瘍断片を、ナイーブな７～１０週齢のＮＯＤ－ＳＣＩＤマウスの右側腹部に移植した。

【０４８３】

腫瘍体積が約３０ｍｍ^{3}に達すると、腫瘍増殖の後に、開始する測定と共に蝕知可能性が最初に続いた。担腫瘍マウスのコホートが２００ｍｍ^{3}の平均に達すると、研究を腫瘍サイズに基づいて無作為化した。次いで、動物を、４日ごと（１、５、９、及び１３日目）に１回、合計４回の用量（ｑ４ｄｘ４）で試験ＡＤＣの静脈内注射によって投与した。規則的間隔で行われた各腫瘍測定のために、腫瘍体積を計算し、平均腫瘍サイズ＋／－平均の標準誤差（ＳＥＭ）を生き残った動物のコホートごとに導出して、腫瘍増殖速度を決定した。いくつかの研究では、「ウォーターフォールプロット」を、ＡＤＣの最終用量後の開始体積からの腫瘍体積の観察された最大値パーセント差異を計算することによって導出した。ほとんどのＰＤＸモデルを、免疫組織化学的アッセイを使用して細胞膜ＣＤＣＰ１発現について事前スクリーニングして、上記の実施例１に記載されるようにＨスコアを割り当てた。

【０４８４】

大量のＣＤＣＰ１を発現する２つの膵癌ＰＤＸモデル（ＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５０９、Ｈスコア２４５及びＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５１３、Ｈスコア１９０）を、０．３、１、もしくは３ｍｇ／ｋｇで４日間隔で４回投与された（ｑ４ｄｘ４、コホートサイズｎ＝１０）ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１またはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１への応答について評価した。膵腫瘍モデルＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５１３では、腫瘍はＡＤＣまたは用量に関係なく急速に進行し、全ての動物が１５日目までに死亡した（図２９Ａ～２９Ｂ）。以下のＲＥＣＩＳＴ基準を使用して、このモデルにおける応答を、進行性疾患（ＰＤ）として分類した。

【０４８５】

ＲＥＣＩＳＴ基準：
完全奏効（ＣＲ）：開始体積と比較して腫瘍体積の１００％減少
部分奏効（ＰＲ）：開始体積と比較して３０％超１００％未満の腫瘍体積の退縮
安定疾患（ＳＤ）開始体積から最大２０％増加した腫瘍体積の３０％退縮
進行性疾患（ＰＤ）開始時の体積と比較して２０％超の腫瘍増殖
ＣＲ及びＰＲの合計パーセンテージとして定義される客観的奏効率（ＯＲＲ）
ＲＥＣＩＳＴ決定のための測定を、試験化合物の最後の用量から少なくとも１日後での最大応答の日に記録した

【０４８６】

膵癌モデルＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５０９は、両方のＡＤＣで同様の応答を示し、ＰＤとしても分類された（図３０Ａ～３０Ｂ）。ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１治療は全ての用量でＰＤをもたらしたが（図３０Ｂ）、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１と比較してこのＡＤＣに関連する顕著な生存利益があった。特に、３ｍｇ／ｋｇを投与されたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１は、図３１に例示されるように全ての治療のうち最長の生存時間を生み出した（平均＋ＳＥ、４７．１＋０．７２日）。この生

存は、ＰＢＳ（平均＋ＳＥ、１６．９＋０．９９日；ログランク、ｐ＜０．０００１）または３ｍｇ／ｋｇのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１（平均＋ＳＥ、２０．８＋０．６８日；ログランク、ｐ＜０．０００１）を投与された動物よりも統計的に有意に長かった。

【０４８７】

ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１またはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１への応答もまた、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）モデルにおいて比較した。モデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０１に０．３、１、または３ｍｇ／ｋｇ（コホートサイズｎ＝１０）のＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１を投与した際に、ＮＳＣＬＣ腫瘍は急速に拡大し、応答をＰＤとして分類した（図３２Ａ）。ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０１はまた、０．３及び１ｍｇ／ｋｇでＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を投与された際に、ＰＤを実証した。しかしながら、３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１は、一過性の腫瘍退縮を示し、最終用量を少なくとも２週間超えるまで延長した部分奏効（ＰＲ）をもたらした（図３２Ｂ）。一過性の腫瘍退縮及びＰＲはまた、３ｍｇ／ｋｇでＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－Ｈ７Ｃ－ＡｍＰＥＧ６－０１３１またはＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１のいずれかを投与されたＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３（Ｈスコア２２７；コホートサイズｎ＝１０）において見られたが、退縮の持続期間はＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１でより大きかった（図３３Ａ及び３３Ｂ）。

【０４８８】

ＰＤＸコホートが上記のようにＡＤＣ及び対照化合物を投与される追加の研究を行って、ＮＳＣＬＣ及び頭頸部癌に対する現在の標準治療（ＳＯＣ）と比較したＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の性能を決定した。ＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－１５１３７（コホートサイズｎ＝１０）では、４．５及び１．５ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１は、３５日間（最後の治療後２週間超）にわたって持続的な腫瘍退縮をもたらし、その時点でＳＯＣコホートにおける平均腫瘍サイズ（パクリタキセル、２２．５ｍｇ／ｋｇ）は２倍になった（図３４Ａ）。４．５ｍｇ／ｋｇ用量では、退縮は４２日目以降も維持され、その時点でパクリタキセルコホートにおける全てのマウスは過剰な腫瘍増殖のために犠死されていた。頭頸部癌モデルＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１５（Ｈスコア１６１；コホートサイズｎ＝１０）、１．５ｍｇ／ｋｇで投与されたＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１は、２５日目（最終投与後１週間超）に腫瘍退縮を引き起こし、その時点でＳＯＣコホート（シスプラチン、５ｍｇ／ｋｇ）における腫瘍は、２倍超のサイズを有した（図３４Ｂ）。同じモデルでは、４．５ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１ならびに３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１（重鎖アミノ酸９６位でのグリシン残基がアラニンに置き換えられたことを除いてＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１と同じ抗体配列を有するＡＤＣ）は、８０日の持続期間を超える腫瘍退縮（最後の投与から９週間後）を誘導した。ＰＤＸ－ＮＳＸ－１５１３７及びＰＤＸ－ＨＮＸ－２４７１５の両方は、３ｍｇ／ｋｇでの陰性対照Ｎｅｇ－ＡＤＣを投与された際に、一過性の腫瘍退縮を実証した。しかしながら、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０－ｖｃ０１０１（４．５ｍｇ／ｋｇ）及びＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１（３ｍｇ／ｋｇ）両方への応答は、Ｎｅｇ－ＡＤＣよりも優れていた。陰性対照のこの非特異的効果は、腫瘍微小環境におけるプロテアーゼ感受性リンカーの切断に起因するように推定される。

【０４８９】

上記のＰＤＸモデルでは、ＡＤＣ治療が腫瘍退縮をもたらした場合でも、腫瘍は完全に根絶されず、最終的には全てが増殖を再開した。新たな腫瘍増殖がＡＤＣ治療に対する抵抗性の発達と関連するかどうかを調査するために、第１に、ＰＤＸ　ＮＳＣＬＣモデルＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３に０．３、１、及び３ｍｇ／ｋｇで４回、各々４日間隔でＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を静脈内投与した（コホートサイズｎ＝１０）。４２日目での陰性対照Ｎｅｇ－ＡＤＣ応答よりも優れた３ｍｇ／ｋｇコホートにおける持続的な腫瘍退縮を認め（最終用量後３週間超）、その後腫瘍が拡大した。５６日目に、平均腫瘍サイズは、ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１　３ｍｇ／ｋｇコホートにおける初期体積のおよそ４倍に増加した（図３５Ａ）。その時、腫瘍を、３ｍｇ／ｋｇコホートから切除し、組み合わせ、解離させ、及びナイーブＮＯＤ／ＳＣＩＤマウスのコホートへ再移植した。以前のコホートにおけるように、腫瘍をおよそ２００mm^3の平均体積に達するまで拡大させ、その時点で、動物を無作為に治療群に割り当てた（ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１、１、３、６ｍｇ／ｋｇ；陰性対照Ｎｅｇ－ＡＤＣ　３、６ｍｇ／ｋｇ、ＰＢＳ；ｑ４ｄｘ４；ｎ＝１０動物／コホート）。３ｍｇ／ｋｇでのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１での治療がおよそ４０日目まで腫瘍退縮を誘導することを認めた。４０日目までにＮｅｇ－ＡＤＣ　３ｍｇ／ｋｇ対照群における全てのマウスは、過剰な腫瘍増殖のために犠死されていた（図３５Ｂ）。６ｍｇ／ｋｇのＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１コホートでは、退縮は５０日目を過ぎて見られ、その時点でＮｅｇ－ＡＤＣの６ｍｇ／ｋｇ対照群における全てのマウスは、過剰な腫瘍増殖のために犠死されていた（図３５Ｂ）。これらの結果は、腫瘍が元の群においてＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１治療後に再増殖したが、この再増殖はこのＡＤＣに対する抵抗性の発達とは関連していないことを示す。実際、ナイーブコホートにおける腫瘍は、元のコホートと同じように治療に対して感受性であるように見えた。

【０４９０】

マウスのより小さなコホート（ｎ＝４～５）を使用した追加のＰＤＸ研究を、３ｍｇ／ｋｇでｑ４ｄｘ４でＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１を投与された頭頸部癌及びＮＳＣＬＣモデルを用いて行った。腫瘍増殖を以前と同様に監視し、腫瘍サイズの最大平均変化（安定疾患までの退縮について最終用量の少なくとも１日後または進行性疾患について２１日目［最終用量後７日］に測定された）を決定した。最大変化の体積を、平均前治療開始体積で除し、次いで、１００を減算して変化パーセントを導出した（例えば、２００mm^3の開始値からの２０mm^3への腫瘍退縮は、（２０／２００）－１００＝－９０％を与え、負の値は腫瘍退縮を示す）。このようにして、多数の独立したＰＤＸモデルにわたる最大変化を、「ウォーターフォールプロット」において視覚化した。かかるウォーターフォールプロットは、図３６において１４の異なるＰＤＸモデルについて示される。この図におけるデータはまた、１０のコホートサイズを有した上記のより大きな複数用量研究（ＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５１３、ＰＤＸ－ＰＡＸ－２４５０９、ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１１３、ＰＤＸ－ＮＳＸ－２６１０１、ＰＤＸ－ＨＮＸ－２６７５５、ＰＤＸ－ＮＳＸ－１５１３７）のうちのいくつかの３ｍｇ／ｋｇからの発見を含むことに注意されたい。この分析は、多数のＮＳＣＬＣ及び頭頸部癌ＰＤＸにわたる幅広い有効性プロファイルを明らかにした。合計で、１つの完全奏効及び１０の部分奏効が見られ、この実験系列において７９％の客観的応答率（ＯＲＲ）が得られた。

【０４９１】

ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０－ｖｃ０１０１の有効性の幅のより包括的に理解を得るために、多数の適応症にわたるＰＤＸモデルの大きなパネルを、組み立てた。このパネルにおける腫瘍型は、卵巣、乳房、膀胱、頭頸部、ＮＳＣＬＣ、及び小細胞肺癌を含んだ。これらのモデルのうちのほとんどにおけるＣＤＣＰ１の発現をＩＨＣによって検証し、Ｈスコアを各々に割り当てた。続いて、小さな担癌コホート（ｎ＝４～５マウス）を、確立し、３ｍｇ／ｋｇでＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－

１８３／２９０－ｖｃ０１０１を投与して、ウォーターフォールプロットを導出した（図３７）。繰り返しになるが、幅広い有効性プロファイルが、適応症にわたって見られた。特に、０／３膀胱癌ＰＤＸモデルは、膀胱癌がこのＡＤＣについての生存可能な適応症でない場合があることを示唆する部分または完全奏効を与えた。この系列において分析された４０の合計のモデルのうち、２０％が完全奏効を与え、さらに４３％が部分奏効を与え、全ての適応症のうち６３％の客観的奏効率であった。

【０４９２】

【表９Ａ】

表９

抗体	重鎖（ＨＣ）									軽鎖（ＬＣ）					
	V_H	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3	JH	CH1	ヒンジ	CH2	CH3	HC	V_L	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3	JKまたはJL	CL	LC
CP13E10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
CP13E10-183/290	1	2	3	4	5	6	7	18	9	19	11	12	13	14	15	20	21
CP13E10-H7C-K222R-N297A	1	2	3	4	5	22	23	24	9	25	11	12	13	14	15	16	17
CP13E10-54HC-89LC	26	2	3	27	28	6	7	8	9	29	30	12	13	31	15	16	32
CP13E10-54HC-89LC-183/290	26	2	3	27	28	6	7	18	9	33	30	12	13	31	15	20	34
CP13E10-54HC-89LC-H7C-K222R-N297A	26	2	3	27	28	22	23	24	9	35	30	12	13	31	15	16	32
CP13E10-54HC-89LCv1	26	2	3	27	28	6	7	8	9	29	36	12	13	31	15	16	37
CP13E10-54HC-89LCv1-183/290	26	2	3	27	28	6	7	18	9	33	36	12	13	31	15	20	38
CP13E10-54HC-89LCv1-H7C-K222R-N297A	26	2	3	27	28	22	23	24	9	35	36	12	13	31	15	16	37
CP13E10-54HCv13-89LCv1	39	2	3	40	28	6	7	8	9	41	36	12	13	31	15	16	37

【０４９３】

【表９Ｂ】

CP13E10-54HCv13-89LCv1-183/290	39	2	3	40	28	6	7	18	9	42	36	12	13	31	15	20	38	
CP13E10-54HCv13-89LCv1-H7C-K222R-N297A	39	2	3	40	28	22	23	24	9	43	36	12	13	31	15	16	37	
CP13E10-291	44	2	3	45	28	6	7	8	9	46	11	12	13	14	15	16	17	
抗体 23	47	48	49	50	5	6	7	8	9	51	52	53	54	55	56	57	58	
抗体 24	59	60	61	62	63	6	7	8	9	64	65	66	67	68	69	16	70	
抗体 76	47	48	49	50	5	6	7	8	9	51	71	72	54	73	56	57	74	

【０４９４】

【表１０Ａ】

表１０：配列表

配列番号	記載	配列
1	ＣＰ１３Ｅ１０　V_H Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGVLRYFDWLLDY YYYMDVWGKGTTVTVSS
2	ＣＰ１３Ｅ１０　ＨＣ　ＣＤＲ１	SYYMH
3	ＣＰ１３Ｅ１０　ＨＣ　ＣＤＲ２	IINPSGGSTSYAQKFQG
4	ＣＰ１３Ｅ１０　ＨＣ　ＣＤＲ３	DGVLRYFDWLLDYYYY
5	ＣＰ１３Ｅ１０　ＪＨ	WGKGTTVTVSS
6	ＣＰ１３Ｅ１０　ＣＨ１	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
7	ＣＰ１３Ｅ１０ヒンジ	EPKSCDKTHTCPPCP
8	ＣＰ１３Ｅ１０　ＣＨ２	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
9	ＣＰ１３Ｅ１０　ＣＨ３ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
１０	ＣＰ１３Ｅ１０　ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGVLRYFDWLLDY YYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
１１	ＣＰ１３Ｅ１０　V_L Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QRPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRANVFTFGQGTKVEIK
１２	ＣＰ１３Ｅ１０　ＬＣ　ＣＤＲ１	RASQSVGSYLA
１３	ＣＰ１３Ｅ１０　ＬＣ　ＣＤＲ２	DASNRAT
１４	ＣＰ１３Ｅ１０　ＬＣ　ＣＤＲ３	QQRANVFT
１５	ＣＰ１３Ｅ１０　ＪＫ	FGQGTKVEIK

【０４９５】

【表１０Ｂ】

１６	ＣＰ１３Ｅ１０　ＣＬ	(R)TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
１７	ＣＰ１３Ｅ１０　ＬＣ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QRPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRANVFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
１８	ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０ ＣＨ２	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT**C**PREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
１９	ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０ ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGVLRYFDWLLDY YYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKT**C**PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
２０	ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０ ＣＬ	(R)TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLS**C**ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
２１	ＣＰ１３Ｅ１０－１８３／２９０ ＬＣ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QRPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRANVFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS**C**ADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
２２	ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２ ２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＣＨ１	ASTKGPSVFPLAPSSKSTLLQGSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV
２３	ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２ ２Ｒ－Ｎ２９７Ａヒンジ	EPKSCDRTHTCPPCP
２４	ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２ ２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＣＨ２	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK

【０４９６】

【表１０Ｃ】

２５	ＣＰ１３Ｅ１０－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣ ＬＬＱＧ：Ｈ７Ｃグルタミン含有トランスグルタミナーゼ（「Ｑ」）タグ ＡＤＣ均一性を増加させるために含まれたＫ２２２Ｒ及びＮ２９７Ａ置換 （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGVLRYFDWLLDY YYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTLL QGSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
２６	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSS
２７	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　ＨＣ　ＣＤＲ３	DGELRHFDHLLDYHYY
２８	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　ＪＨ	WGQGTTVTVSS
２９	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
３０	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　V_L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QRPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQGTKVEIK
３１	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　ＬＣ　ＣＤＲ３	QQRAQEFT

【０４９７】

【表１０Ｄ】

３２	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ　ＬＣ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QRPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
３３	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０　ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTCPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
３４	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣ－１８３／２９０　ＬＣ	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QRPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSCADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
３５	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣＨ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣ ＬＬＱＧ：Ｈ７Ｃグルタミン含有トランスグルタミナーゼ（「Ｑ」）タグ ＡＤＣ均一性を増加させるために含まれたＫ２２２Ｒ及びＮ２９７Ａ置換 （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTLL QGSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
３６	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１　V_L	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQGTKVEIK

【０４９８】

【表１０Ｅ】

３７	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１　ＬＣ	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
３８	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０　ＬＣ	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLQPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLS**C**ADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
３９	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１　V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDAELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSS
４０	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１　ＨＣ　ＣＤＲ３	DAELRHFDHLLDYHYYMDV
４１	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１　ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDAELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK

【０４９９】

【表１０Ｆ】

４２	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDAELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTCPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
４３	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣｖ１３－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣ ＬＬＱＧ：Ｈ７Ｃグルタミン含有トランスグルタミナーゼ（「Ｑ」）タグ ＡＤＣ均一性を増加させるために含まれたＫ２２２Ｒ及びＮ２９７Ａ置換 （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDAELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTLL QGSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDRTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
４４	ＣＰ１３Ｅ１０－２９１　V_H Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGELRHFDQVYNY HYYMDVWGQGTTVTVSS
４５	ＣＰ１３Ｅ１０－２９１　ＨＣＣＤＲ３ 組み込まれたＶ（Ｈ９７）Ｅ、Ｈ（Ｈ１００Ｃ）Ｑ、Ｌ（Ｈ１００Ｄ）Ｖ、Ｌ（Ｈ１００Ｅ）Ｙ、Ｄ（Ｈ１００Ｆ）Ｎ変異	DGELRHFDQVYNYHYYMDV

【０５００】

【表１０Ｇ】

４６	ＣＰ１３Ｅ１０－２９１　ＨＣ（Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWV RQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDT STSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGELRHFDQVYNY HYYMDVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
４７	抗体２３V_H Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPTYFDWTRRGYY YMDVWGKGTTVTVSS
４８	抗体２３ＨＣ　ＣＤＲ１	SYAIS
４９	抗体２３ＨＣ　ＣＤＲ２	GIIPIFGTANYAQKFQG
５０	抗体２３ＨＣ　ＣＤＲ３	DPTYFDWTRRGYYYMDV
５１	抗体２３ＨＣ	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPTYFDWTRRGYY YMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
５２	抗体２３V_L Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQQ KSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFSGSSSGTMATLTI SGARVEDEADYYCYSTDSSDNHRKGFGGGTKLTVL
５３	抗体２３ＬＣ　ＣＤＲ１	SGDALPKKYAY
５４	抗体２３ＬＣ　ＣＤＲ２	EDSKRPS
５５	抗体２３ＬＣ　ＣＤＲ３	YSTDSSDNHRKG
５６	抗体２３ＪＬ	FGGGTKLTVL

【０５０１】

【表１０Ｈ】

５７	抗体２３ＣＬ	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSL TPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
５８	抗体２３ＬＣ	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQQ KSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPERFSGSSSGTMATLTI SGARVEDEADYYCYSTDSSDNHRKGFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
５９	抗体２４V_H Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGVGLPDIWGQGTM VTVSS
６０	抗体２４ＨＣ　ＣＤＲ１	SYGMH
６１	抗体２４ＨＣ　ＣＤＲ２	VISYDGSNKYYADSVKG
６２	抗体２４ＨＣ　ＣＤＲ３	GVGLPDI
６３	抗体２４ＪＨ	WGQGTMVTVSS
６４	抗体２４ＨＣ （Ｋ）：調製され得る＋／－リジン	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGVGLPDIWGQGTM VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
６５	抗体２４V_L Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	EIVMTQSPDTLSLSPGERATLSCRASQKIYYSYLAWY QQKPGQAPRLLISGASTRASDISDRFSGGGSGTDFTL TINSLESEDAAVYYCQQYDSLPVTFGRGTKLEIK
６６	抗体２４ＬＣ　ＣＤＲ１	RASQKIYYSYLA
６７	抗体２４ＬＣ　ＣＤＲ２	GASTRAS
６８	抗体２４ＬＣ　ＣＤＲ３	QQYDSLPVT
６９	抗体２４ＪＫ	FGRGTKLEIK

【０５０２】

【表１０Ｉ】

７０	抗体２４ＬＣ	EIVMTQSPDTLSLSPGERATLSCRASQKIYYSYLAWY QQKPGQAPRLLISGASTRASDISDRFSGGGSGTDFTL TINSLESEDAAVYYCQQYDSLPVTFGRGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
７１	抗体７６V_L Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲには下線が引かれている	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAFWYQQ KSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPEKFSGSSSGTMATLTI SGAQVEDEADYYCYSTDSSDNPRGVFGGGTKLTVL
７２	抗体７６ＬＣ　ＣＤＲ１	SGDALPKKYA
７３	抗体７６ＬＣ　ＣＤＲ３	YSTDSSDNPRGV
７４	抗体７６ＬＣ	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAFWYQQ KSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPEKFSGSSSGTMATLTI SGAQVEDEADYYCYSTDSSDNPRGVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
７５	ＣＰ１３Ｅ１０　V_H ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGTATTACGATATTTTGACTGGTTATTAGACTAC TACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGC

【０５０３】

【表１０Ｊ】

７６	ＣＰ１３Ｅ１０　ＨＣ ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGTATTACGATATTTTGACTGGTTATTAGACTAC TACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT(AAA)

【０５０４】

【表１０Ｋ】

７７	ＣＰ１３Ｅ１０　V_L ヌクレオチド配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAGACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCAACGTATTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
７８	ＣＰ１３Ｅ１０　ＬＣ ヌクレオチド配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAGACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCAACGTATTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT TGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGA GTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG GGGAGAGTGT
７９	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　V_H ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGAGTTACGACACTTTGACCACTTATTAGACTAC CACTACTACATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGC

【０５０５】

【表１０Ｌ】

８０	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　ＨＣ ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGAGTTACGACACTTTGACCACTTATTAGACTAC CACTACTACATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT(AAA)

【０５０６】

【表１０Ｍ】

８１	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　V_L ヌクレオチド配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAGACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCCAAGAGTTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
８２	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣ　ＬＣ ヌクレオチド配列	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAGACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCCAAGAGTTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT TGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGA GTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG GGGAGAGTGT
８３	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣｖ１　V_L ヌクレオチド配列	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTACAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCCAAGAGTTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

【０５０７】

【表１０Ｎ】

８４	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ ＬＣｖ１　ＬＣ ヌクレオチド配列	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTACAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCCAAGAGTTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT TGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGA GTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG GGGAGAGTGT

【０５０８】

【表１００】

８５	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０　ＨＣヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGAGTTACGACACTTTGACCACTTATTAGACTAC CACTACTACATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACATGCCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCCG GA(AAA)

【０５０９】

【表１０Ｐ】

８６	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－１８３／２９０　ＬＣヌクレオチド配列	GAAATTGTGATGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTT TGTCTCCAGGGGAGAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTGGCAGCTACTTGGCCTGGTACCAA CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATG ATGCTTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTT CAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCACC ATCAGCAGCCTACAGCCTGAAGATTTTGCGGTTTATT ACTGTCAGCAGCGTGCCCAAGAGTTCACTTTTGGCCA GGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT TGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGA GTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCTGCGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAG GGGAGAGTGT

【０５１０】

【表１０Ｑ】

８７	ＣＰ１３Ｅ１０－５４ＨＣ－８９ＬＣｖ１－Ｈ７Ｃ－Ｋ２２２Ｒ－Ｎ２９７Ａ　ＨＣ ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGAGTTACGACACTTTGACCACTTATTAGACTAC CACTACTACATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCCTGCTG CAGGGGTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGG TCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTAGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGC AACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTT GTGACCGTACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACC TGAACTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCC CCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCC CTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA AGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCT CACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCC CCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAG ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCT TCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCT CCCTGTCCCCCGGA(AAA)

【０５１１】

【表１０Ｒ】

８８	ＣＰ１３Ｅ１０－２９１　V_H ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGAATTACGACACTTTGACCAGGTATACAACTAC CACTACTACATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGC

【０５１２】

【表１０Ｓ】

８９	ＣＰ１３Ｅ１０－２９１　ＨＣヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGA AGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATC TGGATACACCTTCACCAGCTACTATATGCACTGGGTG CGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAA TAATCAACCCTAGTGGTGGTAGCACAAGCTACGCACA GAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACG TCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGA GATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGA TGGCGAATTACGACACTTTGACCAGGTATACAACTAC CACTACTACATGGACGTCTGGGGCCAGGGGACCACGG TCACCGTCTCGAGCGCGTCGACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTA CAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGA CCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACAT CTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGG GGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGT CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCA CCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAA CCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACA GGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACC AAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCC GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAC AACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGG GT(AAA)

【０５１３】

【表１０Ｔ】

９０	ＣＵＢドメイン含有タンパク質１アイソフォーム１前駆体［Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ］ 参照：ＮＰ＿０７３７５３．３	MAGLNCGVSIALLGVLLLGAARLPRGAEAFEIALPRE SNITVLIKLGTPTLLAKPCYIVISKRHITMLSIKSGE RIVFTFSCQSPENHFVIEIQKNIDCMSGPCPFGEVQL QPSTSLLPTLNRTFIWDVKAHKSIGLELQFSIPRLRQ IGPGESCPDGVTHSISGRIDATVVRIGTFCSNGTVSR IKMQEGVKMALHLPWFHPRNVSGFSIANRSSIKRLCI IESVFEGEGSATLMSANYPEGFPEDELMTWQFVVPAH LRASVSFLNFNLSNCERKEERVEYYIPGSTTNPEVFK LEDKQPGNMAGNFNLSLQGCDQDAQSPGILRLQFQVL VQHPQNESNKIYVVDLSNERAMSLTIEPRPVKQSRKF VPGCFVCLESRTCSSNLTLTSGSKHKISFLCDDLTRL WMNVEKTISCTDHRYCQRKSYSLQVPSDILHLPVELH DFSWKLLVPKDRLSLVLVPAQKLQQHTHEKPCNTSFS YLVASAIPSQDLYFGSFCPGGSIKQIQVKQNISVTLR TFAPSFQQEASRQGLTVSFIPYFKEEGVFTVTPDTKS KVYLRTPNWDRGLPSLTSVSWNISVPRDQVACLTFFK ERSGVVCQTGRAFMIIQEQRTRAEEIFSLDEDVLPKP SFHHHSFWVNISNCSPTSGKQLDLLFSVTLTPRTVDL TVILIAAVGGGVLLLSALGLIICCVKKKKKKTNKGPA VGIYNDNINTEMPRQPKKFQKGRKDNDSHVYAVIEDT MVYGHLLQDSSGSFLQPEVDTYRPFQGTMGVCPPSPP TICSRAPTAKLATEEPPPRSPPESESEPYTFSHPNNG DVSSKDTDIPLLNTQEPMEPAE

【０５１４】

他の実施形態

本開示は、その詳細な記載と併せて記載されてきた一方で、前述の記載は添付の特許請求の範囲によって定義される本開示の範囲を例示し、それを限定しないように意図されることを理解されたい。他の態様、利点、及び変更は、以下の特許請求の範囲内にある。

【０５１５】

参照による組み込み

本明細書で参照される全ての特許及び刊行物は、それらの全体の参照により本明細書に組み込まれる。

【０５１６】

本明細書で考察される刊行物は、本出願の出願日前のそれらの開示に対してのみ提供される。本明細書におけるいずれの内容も、本発明が先行発明によりかかる刊行物に先行する資格がないことを認めるものと解釈されるべきでない。

本明細書で使用される場合、全ての表題は、単純に組織化するためのものであり、いかなる方法においても本開示を限定するように意図されない。

（付記）

本開示は以下の態様を含む。

項目１：

ＣＵＢドメイン含有タンパク質－１（ＣＤＣＰ１）に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、

（ｉ）

（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域１（ＣＤＲＨ１）、

（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域２（ＣＤＲＨ２）、及び
（ｃ）配列番号２７、配列番号４、配列番号４０、及び配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨ相補性決定領域３（ＣＤＲＨ３）を含む、重鎖可変領域（ＶＨ）と、
（ｉｉ）
（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域１（ＣＤＲＬ１）、
（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域２（ＣＤＲＬ２）、及び
（ｃ）配列番号３１及び配列番号１４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬ相補性決定領域３（ＣＤＲＬ３）を含む、軽鎖可変領域（ＶＬ）と、を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目２：
ＣＤＣＰ１に特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合断片であって、
（ｉ）
（ａ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ１、
（ｂ）配列番号３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ２、及び
（ｃ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＣＤＲＨ３を含む、ＶＨと、
（ｉｉ）
（ａ）配列番号１２のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ１、
（ｂ）配列番号１３のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ２、及び
（ｃ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＣＤＲＬ３を含む、ＶＬと、を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目３：
配列番号２６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３０または３６のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含むＶＬを含む、項目１または２に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目４：
配列番号２６のアミノ酸配列を含むＶＨ、及び配列番号３６のアミノ酸配列を含むＶＬを含む、項目１～３のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目５：
配列番号２９のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３２または３７のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、項目１～４のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目６：
配列番号２９のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、項目１～５のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目７：
配列番号３３のアミノ酸配列に対して少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３４または３８のアミノ酸配列に対して少なくとも９

０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、または１００％同一なアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、項目１～４のいずれか１項に記載の単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目８：

ＣＤＣＰ１４に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合断片であって、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、前記単離された抗体またはその抗原結合断片。

項目９：

項目１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする、単離された核酸。

項目１０：

ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片のＶＨ、ＶＬ、または両方をコードする単離された核酸であって、前記核酸が、配列番号７９の核酸配列、配列番号８３の核酸配列、または両方を含む、前記単離された核酸。

項目１１：

ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片の重鎖、軽鎖、または両方をコードする単離された核酸であって、前記核酸が、配列番号８５の核酸配列、配列番号８６の核酸配列、または両方を含む、前記単離された核酸。

項目１２：

項目９～１１のいずれか１項に記載の核酸を含む、ベクター。

項目１３：

項目１２に記載のベクターを含む、宿主細胞。

項目１４：

前記宿主細胞が、ＣＨＯ細胞、ＣＯＳ細胞、ＨＥＫ－２９３細胞、ＮＳ０細胞、ＰＥＲ．Ｃ６（登録商標）細胞、またはＳｐ２．０細胞からなる群から選択される哺乳動物細胞である、項目１３に記載の宿主細胞。

項目１５：

抗体、またはその抗原結合断片が宿主細胞によって発現される条件下で項目１３または１４に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記抗体またはその抗原結合断片を作成する、方法。

項目１６：

前記抗体またはその抗原結合断片を単離することをさらに含む、項目１５に記載の方法。

項目１７：

前記抗体が、薬物部分にコンジュゲートされる、項目１～８のいずれか１項に記載の抗体またはその抗原結合断片を含む、抗体薬物コンジュゲート。

項目１８：

前記抗体が、リンカーを介して前記薬物部分にコンジュゲートされる、項目１７に記載の抗体薬物コンジュゲート。

項目１９：

リンカーが、バリン－シトルリン（ｖａｌ－ｃｉｔ）、６－マレイミドカプロイル（ｍｃ）、メトキシ－ポリエチレングリコールマレイミド６（ＭａｌＰｅｇ６）、ｐ－アミノベンジルカルバメート（ＰＡＢＣ）、ジメチルアミノエタノール（ＤＭＡＥ）、マレイミドプロパノイル（ＭＰ）、加水分解ペグ－マレイミド、アラニン－フェニルアラニン（ａｌａ－ｐｈｅ）、ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ＰＡＢ）、Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート（ＳＰＰ）、Ｎ－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）、Ｎ－スクシンイミジル（４－ヨード－アセチル）アミノベンゾエート（ＳＩＡＢ）、６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢ）、及び６－マレイミドカプロイル－バリン－シトルリン－ｐ－アミノベ

ンジルカルバメート（ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ）からなる群から選択される、項目１２または１３に記載の抗体薬物コンジュゲート。
項目２０：
前記薬物部分が、細胞傷害性剤、免疫調節剤、イメージング剤、化学療法剤、または治療用タンパク質である、項目１７～１９のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲート。
項目２１：
ＣＤＣＰ１に特異的に結合する抗体を含む抗体薬物コンジュゲートであって、前記抗体が、少なくとも１つの操作されたシステイン、配列番号３３のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号３８のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、前記抗体が、少なくとも１つの操作されたシステインを介してリンカー薬物部分ｍｃ－ｖａｌ－ｃｉｔ－ＰＡＢＣ－０１０１にコンジュゲートされる、前記抗体薬物コンジュゲート。
項目２２：
前記抗体が、ＫａｂａｔのＥｕインデックスの番号付けに従って抗体重鎖定常ドメインの２９０位に、かつＫａｂａｔの番号付けに従って軽鎖定常ドメインの１８３位に位置する２つの操作されたシステインを含む、項目２１に記載の抗体薬物コンジュゲート。
項目２３：
項目１～８のいずれか１項に記載の抗体、または項目１７～２２のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲートと、薬学的に許容される担体と、を含む、薬学的組成物。
項目２４：
がん、自己免疫疾患、炎症性疾患、または感染性疾患を治療する方法であって、それを必要とする対象に、項目１～８のいずれか１項に記載の抗体、項目１７～２２のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲート、または項目２３の組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法。
項目２５：
疾患または障害の治療を必要とする対象における細胞上のＣＤＣＰ１の発現によって媒介されるか、または関連する前記疾患もしくは前記障害を治療する方法であって、項目１７～２２のいずれか１項に記載の抗体薬物コンジュゲート、または項目２３に記載の組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法。
項目２６：
がんの治療を必要とする患者において前記がんを治療するための方法であって、
（ａ）変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳの量について腫瘍試料を評価することと、
（ｂ）変異体肝キナーゼＢ１（ＬＫＢ１）及び／またはＫｉｒｓｔｅｎラット肉腫ウイルス（ＫＲＡＳ）の量が参照試料よりも高い場合、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤をがん患者に投与することと、を含む、前記方法。
項目２７：
前記腫瘍試料が、凍結された腫瘍組織生検、培養された細胞、循環腫瘍細胞、及びホルマリン固定されパラフィン包埋された腫瘍組織生検から選択される、項目２６に記載の方法。
項目２８：
変異体ＫＲＡＳが、Ｇ１２Ｃ、Ｇ１２Ａ、Ｇ１２Ｄ、Ｇ１２Ｒ、Ｇ１２Ｓ、Ｇ１２Ｖ、Ｇ１３Ｃ、及びＧ１３Ｄ変異体から選択される、項目２６または２７に記載の方法。
項目２９：
評価することが、変異を含む疑いのある腫瘍試料またはその断片からのＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳ核酸を増幅すること、ならびに前記増幅された核酸を配列決定することによって行われる、項目２６～２８のいずれか１項に記載の方法。
項目３０：
評価することが、ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳを指向する抗体またはその形式を前記腫瘍試料に接触させること、ならびに結合する抗体またはその形式を定量化することによって行われる、項目２６～２８のいずれか１項に記載の方法。
項目３１：

肺癌の治療を必要とする患者において前記肺癌を治療する方法であって、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤を前記患者に投与することを含み、前記肺癌がＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する前記薬剤がＣＤＣＰ１活性化薬剤である、前記方法。

項目３２：

前記肺癌が、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）である、項目３１に記載の方法。

項目３３：

ＡＫＴ活性化について前記肺癌の試料を評価することをさらに含む、項目３１または３２に記載の方法。

項目３４：

前立腺癌の治療を必要とする患者における前記前立腺癌を治療する方法であって、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤を前記患者に投与することを含み、前記前立腺癌がＡＫＴ活性化によって特徴付けられ、ＣＤＣＰ１に結合する前記薬剤がＣＤＣＰ１活性化剤である、前記方法。

項目３５：

ＡＫＴ活性化について前記前立腺癌の試料を評価することをさらに含む、項目３４に記載の方法。

項目３６：

前記方法が、ＡＫＴ阻害剤を投与することをさらに含む、項目３１～３５のいずれか１項に記載の方法。

項目３７：

前記患者が、ＡＫＴ阻害剤での治療を受けている、項目３１～３６のいずれか１項に記載の方法。

項目３８：

前記ＡＫＴ阻害剤が、アフレセルチブ、ＡＲＱ　７５１、ＡＲＱ　０９２、ＡＺＤ５３６３、ＢＡＹ１１２５９７６、ＧＳＫ２１４１７９５、ＧＳＫ６９０６９３、イパタセルチブ、ＬＹ２７８０３０１、ＭＫ２２０６、及びペリフォシンから選択される、項目３７に記載の方法。

項目３９：

前記患者が、任意選択で、ＫＸ２－３９１、ボスチニブ、サラカチニブ、及びダサチニブから選択されるＳｒｃ阻害剤での治療を受けていない、項目２６～３８のいずれか１項に記載の方法。

項目４０：

前記患者が、任意選択で、ＫＸ２－３９１、ボスチニブ、サラカチニブ、及びダサチニブから選択されるＳｒｃ阻害剤での治療を以前に受けていない、項目２６～３９のいずれか１項に記載の方法。

項目４１：

がんの治療を必要とする患者における前記がんを治療するための方法であって、

（ａ）標的細胞上のＣＤＣＰ１に結合し、かつ前記標的細胞上のＣＤＣＰ１に接触する際に内部移行する薬剤を選択することと、

（ｂ）がん患者に前記薬剤を投与することであって、ＣＤＣＰ１に結合する前記薬剤が、ＣＤＣＰ１を活性化し、セリン／トレオニン－タンパク質ホスファターゼ４制御性サブユニット２（ＰＰＰ４Ｒ２）調節剤にコンジュゲートされる、前記投与することと、を含む、前記方法。

項目４２：

がんの治療を必要とする患者における前記がんを治療するための方法であって、

（ａ）ＣＤＣＰ１に結合する薬剤を投与することであって、ＣＤＣＰ１に結合する前記薬剤が、ＣＤＣＰ１を活性化しない抗体である、前記投与することと、

（ｂ）ポリ（ＡＤＰ－リボース）グリコヒドロラーゼ（ＰＡＲＧ）を調節する薬剤を投与することと、を含む、前記方法。

項目４３：

ＰＡＲＧを調節する前記薬剤が、ＰＡＲＧ阻害剤である、項目４２に記載の方法。
項目４４：
前記ＰＡＲＧ阻害剤が、オラパリブ、タラゾパリブ、ベリパリブ、ルカパリブ、イニパリブ、Ｅ７０１６、ＣＥＰ９７２２、ＢＧＢ－２９０及び３－アミノベンズアミドから選択される、項目４２に記載の方法。いくつかの実施形態では、ＰＡＲＧを調節する前記薬剤は、ＰＡＲＧ阻害剤である。いくつかの実施形態では、前記ＰＡＲＧ阻害剤は、オラパリブ、タラゾパリブ、ベリパリブ、ルカパリブ、イニパリブ、Ｅ７０１６、ＣＥＰ－９７２２、ＢＧＢ－２９０及び３－アミノベンズアミドから選択される。
項目４５：
ＣＤＣＰ１に結合する前記薬剤が、ＣＤＣＰ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である、項目２６～４４のいずれか１項に記載の方法。
項目４６：
ＣＤＣＰ１に特異的である前記抗体またはその抗原結合部分が、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ、ダイアボディ、線状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、及び前記抗体の抗原結合部分を含む融合タンパク質のうちの１つ以上から選択される、項目４５に記載の方法。
項目４７：
ＣＤＣＰ１に特異的である前記抗体またはその抗原結合部分が、抗腫瘍剤とコンジュゲートされる、項目４６に記載の方法。
項目４８：
前記方法が、抗腫瘍剤を投与することをさらに含む、項目２１～４２のいずれか１項に記載の方法。
項目４９：
前記投与が、連続的または同時的である、項目４８に記載の方法。
項目５０：
前記抗腫瘍剤が、化学療法剤である、項目４７～４９のいずれか１項に記載の方法。
項目５１：
前記化学療法剤が、チオテパ及びＣＹＴＯＸＡＮシクロホスファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、及びピポスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ（ｍｅｔｕｒｅｄｏｐａ）、及びウレドーパ（ｕｒｅｄｏｐａ）などのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、及びトリメチローロメラミン（ｔｒｉｍｅｔｈｙｌｏｌｏｍｅｌａｍｉｎｅ）を含むエチレンイミン及びメチラメラミン（ｍｅｔｈｙｌａｍｅｌａｍｉｎｅ）；アセトゲニン（例えば、ブラタシン及びブラタシノン）；カンプトテシン（合成類似体トポテカンを含む）；ブリオスタチン；ＣＣ－１０６５（そのアドゼレシン、カルゼレシン、及びビゼレシン合成類似体を含む）；クリプトフィシン（例えば、クリプトフィシン１及びクリプトフィシン８）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似体、ＫＷ－２１８９及びＣＢ　１－ＴＭ１を含む）；エリュテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチイン；スポンギスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド（ｃｈｏｌｏｐｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベムビチン（ｎｏｖｅｍｂｉｃｈｉｎ）、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カムルスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、及びラニムスチンなどのニトロソウレア（ｎｉｔｒｏｓｕｒｅａ）；エンジイン抗生物質（例えば、特に、カリケアマイシンガンマ１１及びカリケアマイシンオメガ１１（例えば、Ａｇｎｅｗ，Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．，３３：１８３－１８６（１９９４）を参照されたい）；ダイネミシンＡを含むダイネミシン；クロドロネートなどのビスホスホネート；エスペラミシン；同様にネオカルチノスタチンクロモフォア及び関連する色素タンパク

質エンジイン抗生物質クロモフォア）、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン（ａｕｔｈｒａｍｙｃｉｎ）、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン（ｃａｒａｂｉｃｉｎ）、カミノマイシン（ｃａｍｉｎｏｍｙｃｉｎ）、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮドキソルビシン（モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンＣなどのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン（ｐｏｔｆｉｒｏｍｙｃｉｎ）、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン（ｒｏｄｏｒｕｂｉｃｉｎ）、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシンなどの抗生物質；メトトレキサート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）などの代謝拮抗剤；デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン（ｐｔｅｒｏｐｔｅｒｉｎ）、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、６－アザウリジン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジンなどのピリミジン類似体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤（ａｎｔｉ－ａｄｒｅｎａｌ）；フロリニン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）などの葉酸補給剤；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキサート；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルミチン（ｅｌｆｏｒｍｉｔｈｉｎｅ）；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダイニン（ｌｏｎｉｄａｉｎｉｎｅ）；マイタンシン及びアンサミトシンなどのメイタンシノイド（ｍａｙｔａｎｓｉｎｏｉｄ）；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール（ｍｏｐｉｄａｎｍｏｌ）；ニトラエリン（ｎｉｔｒａｅｒｉｎｅ）；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸（ｐｏｄｏｐｈｙｌｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）；２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ多糖複合体（ＪＨＳ　Ｎａｔｕｒａｌ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，Ｏｒｅｇ．）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフラン（ｓｉｚｏｆｕｒａｎ）；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン（ｔｒｉａｚｉｑｕｏｎｅ）；２，２’，２”－トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（例えば、Ｔ－２毒素、ベラクリン（ｖｅｒｒａｃｕｒｉｎ）Ａ、ロリジンＡ及びアングイジン（ａｎｇｕｉｄｉｎｅ））；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン（ｇａｃｙｔｏｓｉｎｅ）；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイド、例えば、ＴＡＸＯＬパクリタキセル、パクリタキセルのＡＢＲＡＸＡＮＥクレモフォールフリーのアルブミン操作ナノ粒子製剤（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｐａｒｔｎｅｒｓ，Ｓｃｈａｕｍｂｅｒｇ，１１１．）、及びＴＡＸＯＴＥＲＥドセタキセル（Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ　Ｒｏｒｅｒ，Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ）；クロランブシル（ｃｈｌｏｒａｎｂｕｃｉｌ）；ＧＥＭＺＡＲゲムシタビン；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキサート；シスプラチン、オキサリプラチン、及びカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；白金；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ＮＡＶＥＬＢＩＮＥビノレルビン；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；ゼローダ；イバンドロネート；イリノテカン（Ｃａｍｐｔｏｓａｒ、ＣＰＴ－１１）（５－ＦＵ及びロイコボリンを用いるイリノテカンの治療レジメンを含む）；トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ　２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；レチノイン酸などのレチノイド；カペシタビン；コンブレタスタチン；ロイコボリン（ＬＶ）；オキサリプラチン治療レジメン（ＦＯＬＦＯＸ）を含むオキサリプ

ラチン；ラパチニブ（Ｔｙｋｅｒｂ）；細胞増殖を低減するＰＫＣ－α、Ｒａｆ、Ｈ－Ｒａｓ、ＥＧＦＲ（例えば、エルロチニブ（Ｔａｒｃｅｖａ））、及びＶＥＧＦの阻害剤、ならびに上記のうちのいずれかの薬学的に許容される塩、酸、または誘導体から選択される、項目５０に記載の方法。

項目５２：

前記抗腫瘍剤が、細胞傷害性剤である、項目４８または４９に記載の方法。

項目５３：

前記細胞傷害性剤が、メトトレキサート、アミノプテリン、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン；メクロレタミン、チオエパ（ｔｈｉｏｅｐａ）クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）、マイトマイシンＣ、ロムスチン（ＣＣＮＵ）、１－メチルニトロソウレア、シクロホスファミド、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、シス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン及びカルボプラチン（パラプラチン）などのアルキル化剤；ダウノルビシン、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロン、及びビサントレンを含むアントラサイクリン；ダクチノマイシン（アクチノマイシンＤ）、ブレオマイシン、カリケアマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（ＡＭＣ）を含む抗生物質；ビンカアルカロイド、ビンクリスチン、ビンブラスチンなどの抗有糸分裂剤、ならびにそれらの混合物から選択される、項目５２に記載の方法。

項目５４：

前記細胞傷害性剤が、パクリタキセル（タキソール）、リシン、シュードモナス外毒素、ゲムシタビン、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン（ｄｉｈｙｄｒｏｘｙ　ａｎｔｈｒａｃｉｎ　ｄｉｏｎｅ）、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシ尿素、及びそれらの混合物から選択される、項目５２に記載の方法。

項目５５：

前記抗腫瘍剤が、チェックポイント阻害剤である、項目４８または４９に記載の方法。

項目５６：

前記チェックポイント阻害剤が、ＴＩＭ－３、ＢＴＬＡ、ＰＤ－１、ＣＴＬＡ－４、Ｂ７－Ｈ４、ＧＩＴＲ、ガレクチン－９、ＨＶＥＭ、ＰＤ－Ｌ１、ＰＤ－Ｌ２、Ｂ７－Ｈ３、ＣＤ２４４、ＣＤ１６０、ＴＩＧＩＴ、ＳＩＲＰα、ＩＣＯＳ、ＣＤ１７２ａ、及びＴＭＩＧＤ２のうちの１つを標的とする薬剤である、項目５５に記載の方法。

項目５７：

ＰＤ－１を標的とする前記薬剤が、任意選択で、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、及びピジリズマブから選択される、ＰＤ－１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である、項目５６に記載の方法。

項目５８：

ＰＤ－Ｌ１を標的とする前記薬剤が、任意選択で、アテゾリズマブ、アベルマブ、デュルバルマブ、及びＢＭＳ－９３６５５９から選択される、ＰＤ－Ｌ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である、項目５６に記載の方法。

項目５９：

ＣＴＬＡ－４を標的とする前記薬剤が、ＣＴＬＡ－４に特異的であり、任意選択で、イピリムマブ及びトレメリムマブから選択される抗体またはその抗原結合部分である、項目５６に記載の方法。

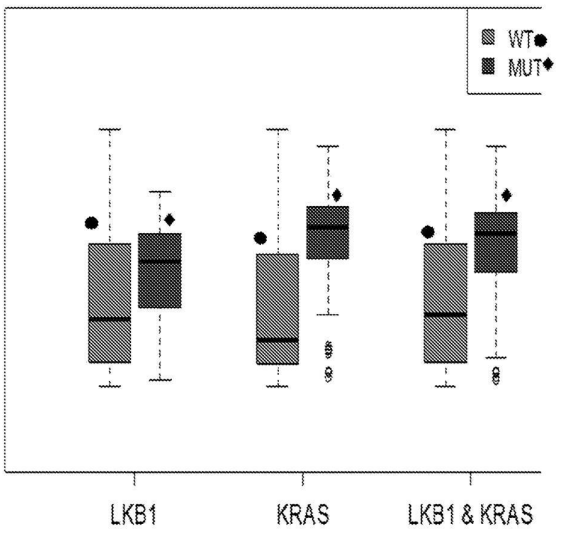
項目６０：

前記抗腫瘍剤が、低酸素誘導因子－２（ＨＩＦ－２）阻害剤である、項目４８または４９に記載の方法。

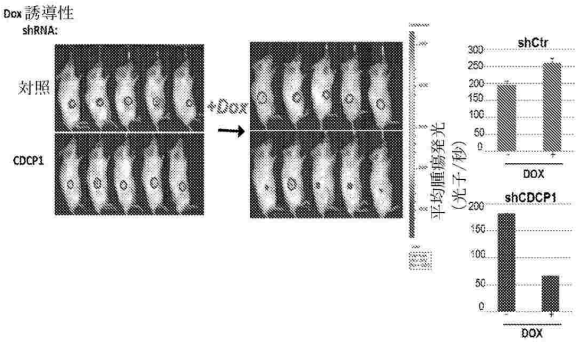
項目６１：
前記ＨＩＦ－２阻害剤が、ＰＴ２３８５及びＰＴ２９７７から選択される、項目６０に記載の方法。
項目６２：
前記がんが、低酸素によって特徴付けられた腫瘍である、上記の項目のいずれか１項に記載の方法。
項目６３：
前記がんが、基底細胞癌、胆道癌、膀胱癌、骨癌、脳及び中枢神経系癌、乳癌、腹膜癌、子宮頸癌、絨毛癌、大腸癌、結合組織癌、消化器系癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃癌（ｇａｓｔｒｉｃ ｃａｎｃｅｒ）（胃腸癌を含む）、神経膠芽腫、肝癌、肝細胞癌、上皮内新生物、腎臓または腎癌、喉頭癌、白血病、肝臓癌、肺癌（例えば、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺扁平上皮癌）、黒色腫、骨髄腫、神経芽細胞腫、口腔癌（唇、舌、口、及び咽頭）、卵巣癌、膵癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、直腸癌、呼吸器系癌、唾液腺癌、肉腫、皮膚癌、扁平上皮細胞癌、胃癌（ｓｔｏｍａｃｈ ｃａｎｃｅｒ）、精巣癌、甲状腺癌、子宮または子宮内膜癌、泌尿器系癌、外陰癌、ホジキン及び非ホジキンリンパ腫、同様にＢ細胞リンパ腫を含むリンパ腫（低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、中悪性度／濾胞性ＮＨＬ、中悪性度びまん性ＮＨＬ、高悪性度免疫芽球性ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非分割細胞ＮＨＬ、巨大腫瘤病変ＮＨＬ、マントル細胞リンパ腫、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、及びワルデンストレーム高ガンマグロブリン血症を含む、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、ヘアリーセル白血病、慢性骨髄芽球性白血病、同様に他の癌腫及び肉腫、ならびに移植後リンパ増殖性障害（ＰＴＬＤ）、同様に母斑症、浮腫に関連する異常な血管増殖（例えば、脳腫瘍に関連するもの）、ならびにメグズ症候群のうちの１つ以上から選択される、項目２６～３０または４０～６２のいずれか１項に記載の方法。
項目６４：
腫瘍の試料において変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の存在、不在、または量を決定することを含む、前記腫瘍がＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答するかどうかを決定する方法であって、それによって前記変異体ＬＫＢ１及び／または前記ＫＲＡＳの存在、あるいは参照試料に対する変異体ＬＫＢ１及び／またはＫＲＡＳタンパク質または遺伝子の増加した量が、ＣＤＣＰ１に結合する薬剤での治療に応答する可能性を示している、前記方法。
項目６５：
ＣＤＣＰ１に結合する前記薬剤が、ＣＤＣＰ１に特異的である抗体またはその抗原結合部分である、項目６４に記載の方法。
項目６６：
ＣＤＣＰ１に特異的である前記抗体またはその抗原結合部分が、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、一本鎖Ｆｖ、ダイアボディ、線状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、及び前記抗体の抗原結合部分を含む融合タンパク質のうちの１つ以上から選択される、項目６５に記載の方法。
項目６７：
ＣＤＣＰ１に特異的である前記抗体またはその抗原結合部分が、抗腫瘍剤とコンジュゲートされる、項目６６に記載の方法。

【図面】

【図１】

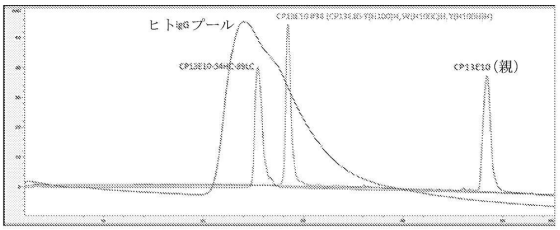


【図２】



【図３】

Y(H100)H、W(H100C)H、Y(H100H)H の CP13E10 抗体への組み込みは顕著に疎水性を減少させた



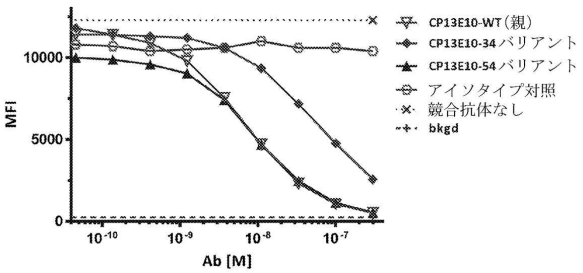
【図４】

TSKgel ブチル-NPR クロマトグラフィーカラムからの CDCP1 バリアントについての秒での溶出時間

抗体	分析用HIC 溶出時間（分）
CP13E10-WT	48.63
CP13E10-34	28.42
CP13E10-54HC-89LC	25.38

【図５】

CDRH3点変異V(H97)EのCP13E10-34バリアントへの組み込みは
CP13E10-WT（親）抗体のものへのCDCP1結合特性を回復した



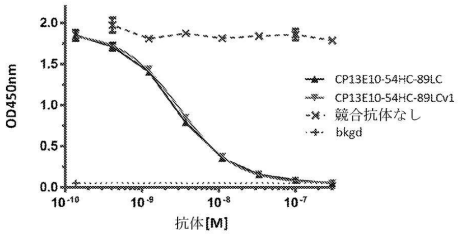
【図６】

組換えヒト、カニクイザル及びマウスCDCP1-ECDタンパク質について
決定された抗CDCP1抗体の結合動態

抗体	ヒト CDCP1 ECD KD [nM] (SPR)	カニクイザル CDCP1 ECD KD [nM] (SPR)	マウスCDCP1 ECD KD [nM] (SPR)
CP13E10-WT	219.30	232.13	323.10
CP13E10-34	607.06	ND	3920.62
CP13E10-291	2.90	3.12	286.44
CP13E10-54HC-89LC	52.88	79.89	195.54
CP13E10-54HC-89LC (実験2)	41.99	63.44	175.91
CP13E10-54HC-89LCv1 (実験2)	44.50	69.50	158.00

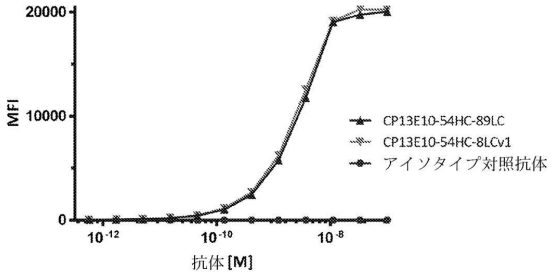
【図７】

CP13E10-54HC-89LCv1に組み込まれたIGKV146生殖系列置換はCDCP1結合特性を改変しない

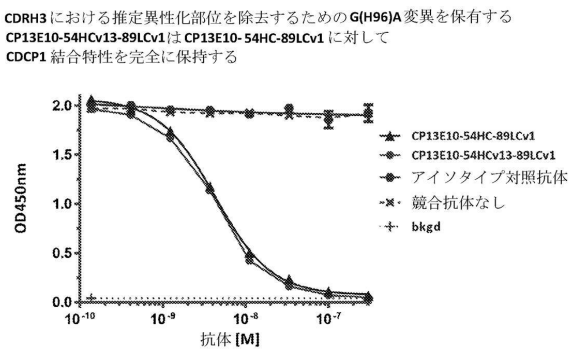


【図８】

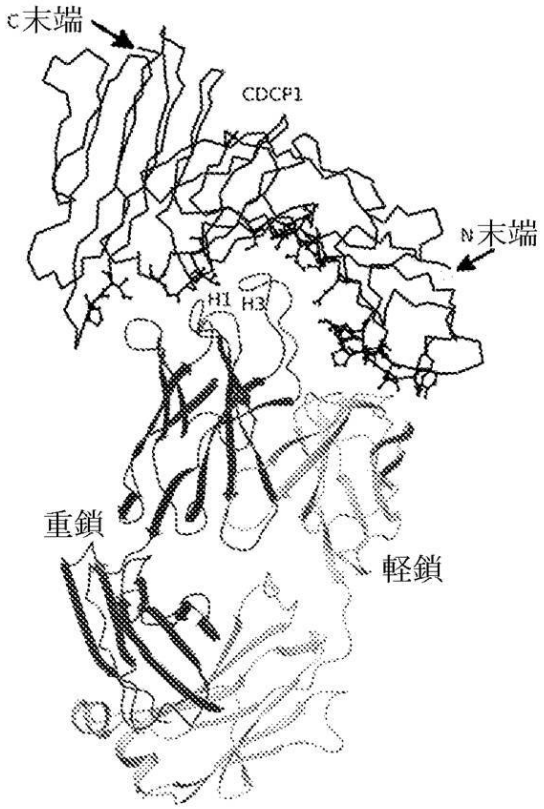
PC3前立腺癌細胞の表面上で発現したCDCP1への生殖系列化した
CP13E10-54HC-89LCv1結合はCP13E10-54HC-89LCと同一であった



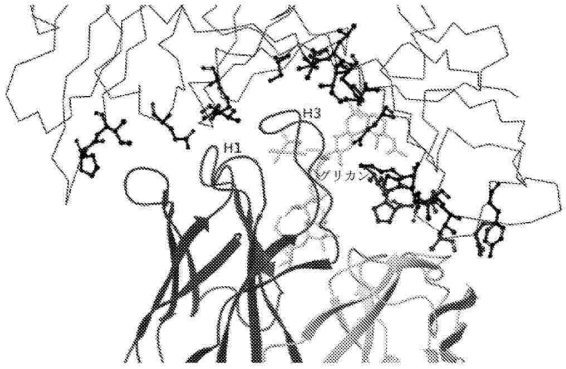
【図９】



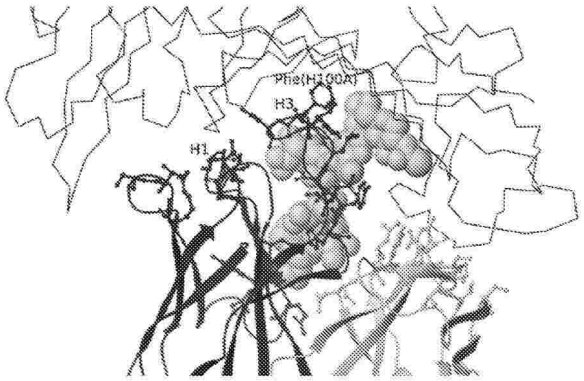
【図１０】



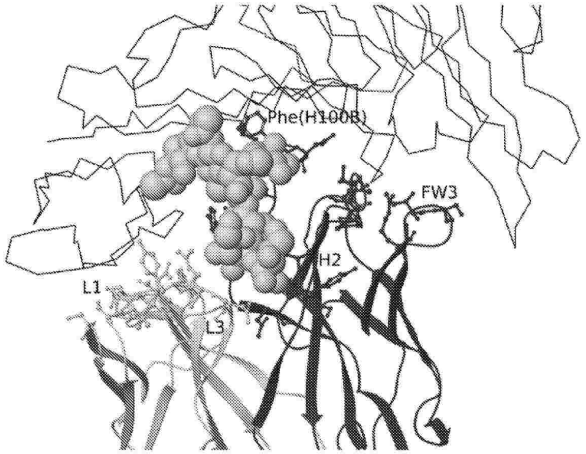
【図１１】



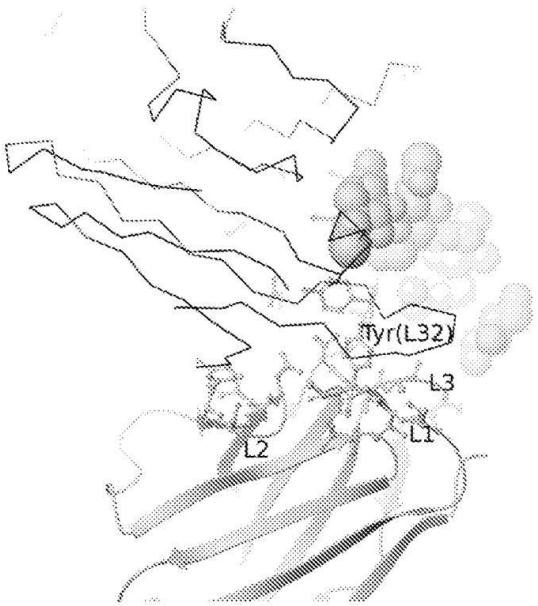
【図１２】



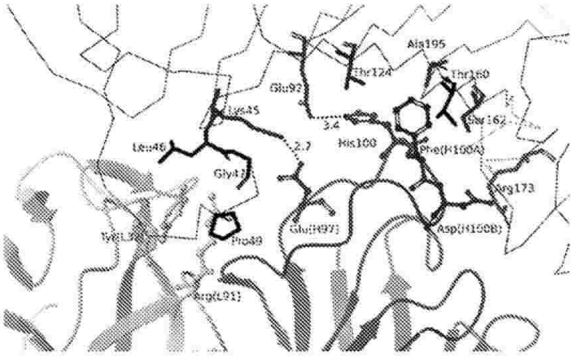
【図１３】



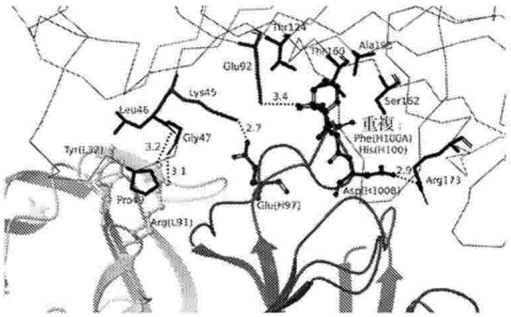
【図１４】



【図１５】



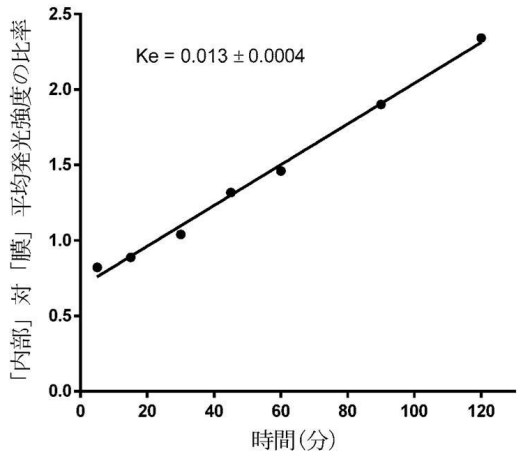
A



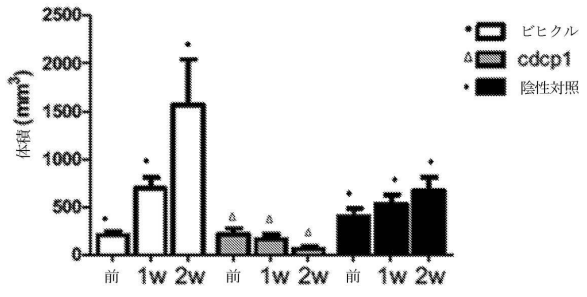
B

【図１６】

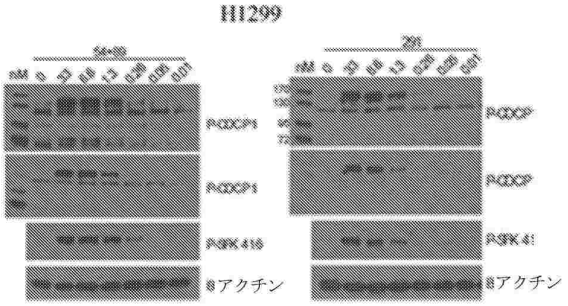
PC3 細胞における抗**CDCP1-AlexaFluor647** の内在化速度



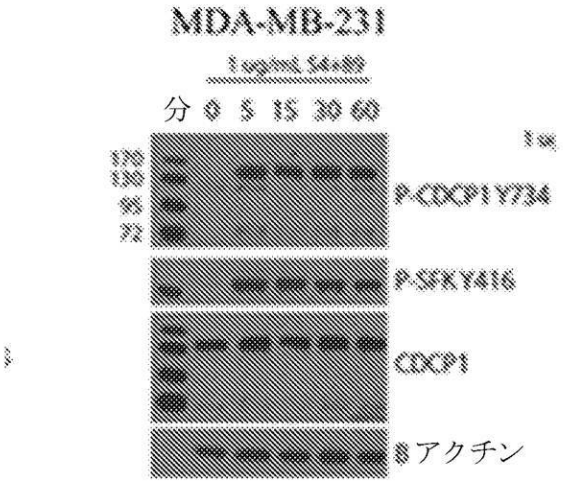
【図１７】



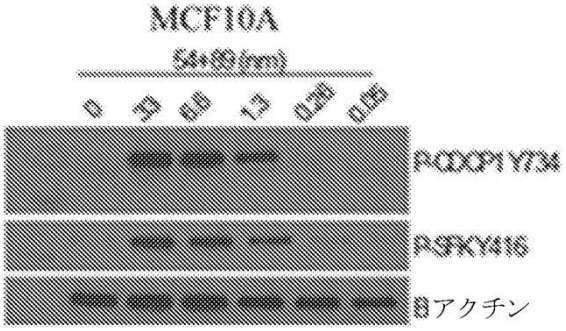
【図１８Ａ】



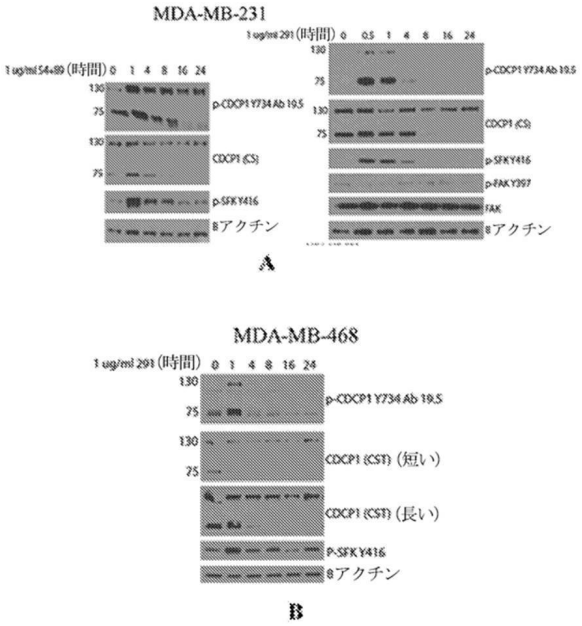
【図１８Ｂ】



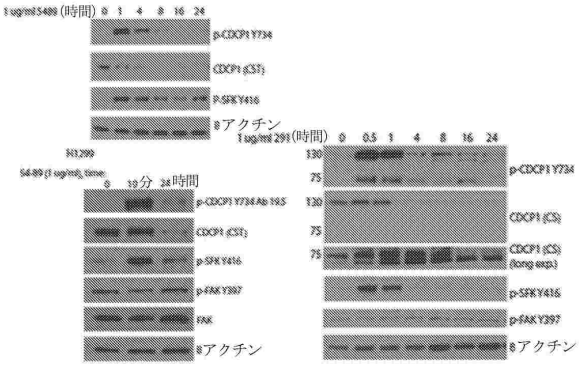
【図１８Ｃ】



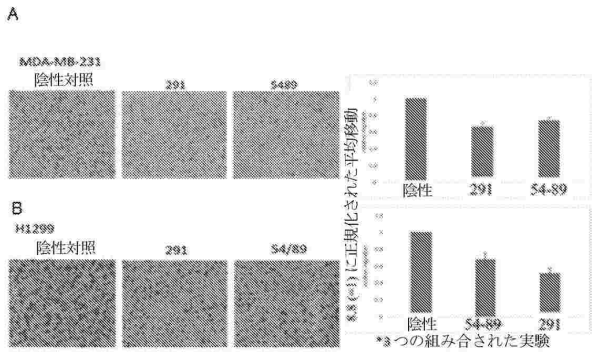
【図１９】



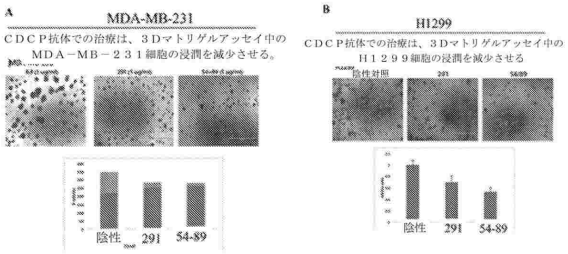
【図２０】



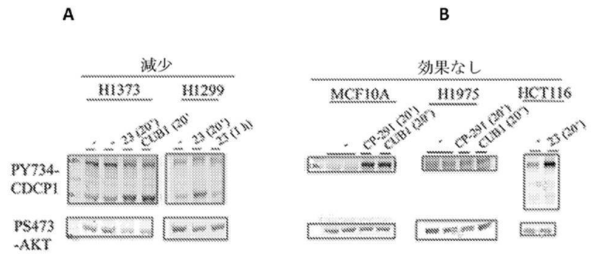
【図２１】



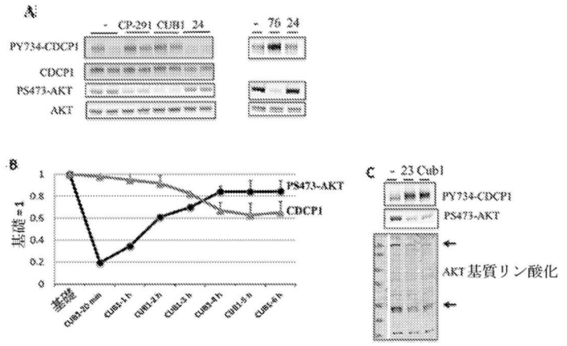
【図２２】



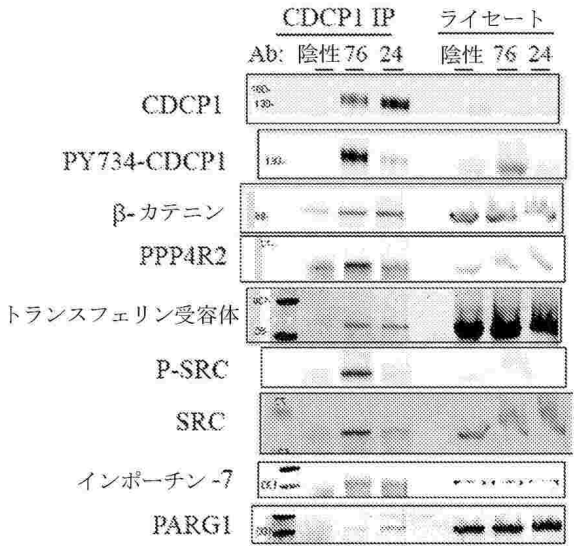
【図２３】



【図２４】

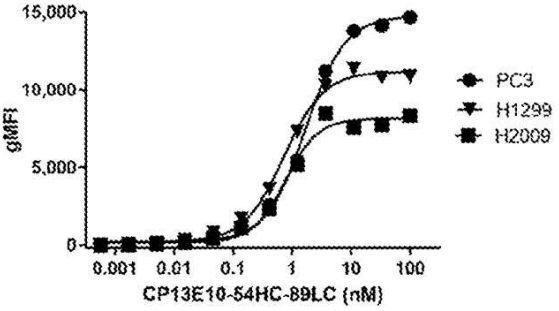


【図２５】

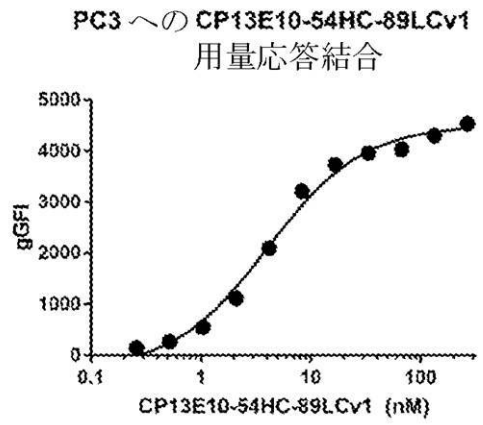


【図２６Ａ】

細胞株への CP13E10-54HC-89LC 用量応答結合



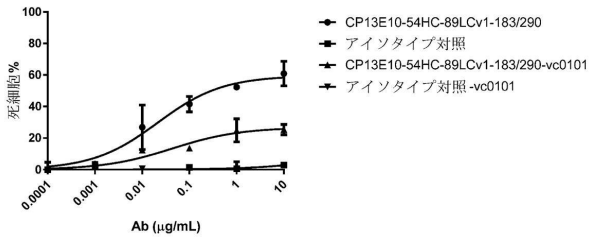
【図２６Ｂ】



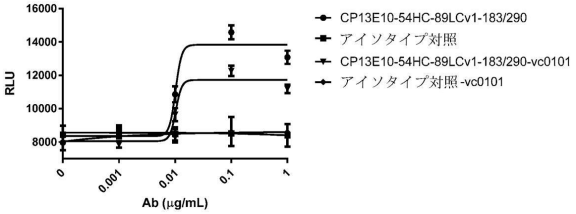
【図２７】

抗体または ADC	ヒト CDCP1 ECD K_D [nM] pH7.4	ヒト CDCP1 ECD K_D [nM] pH6.8
CP13E10-54HC-89LCv1-183/290 抗体	47.38	68.88
CP13E10-54HC-89LCv1-183/290-vc0101 ADC	45.63	66.55

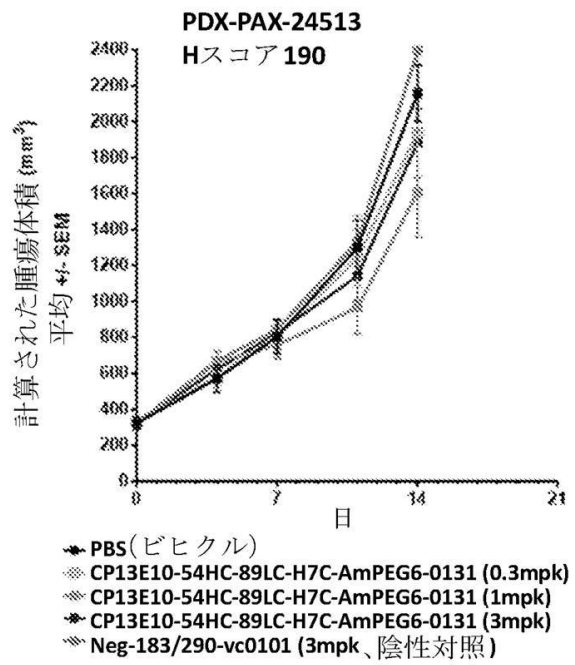
【図２８Ａ】



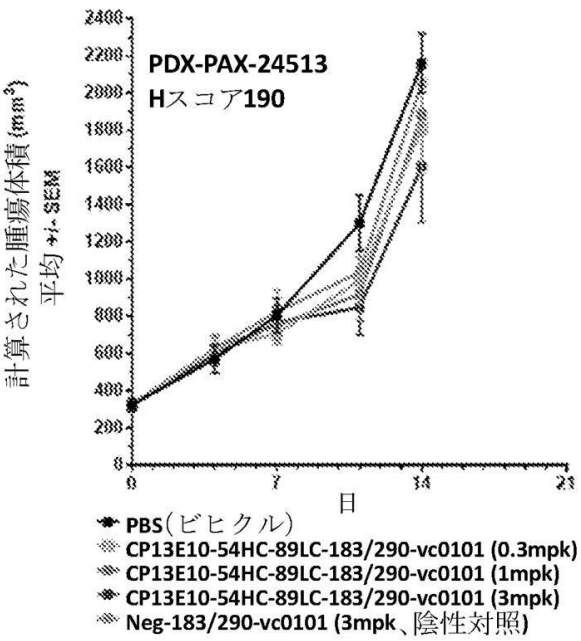
【図２８Ｂ】



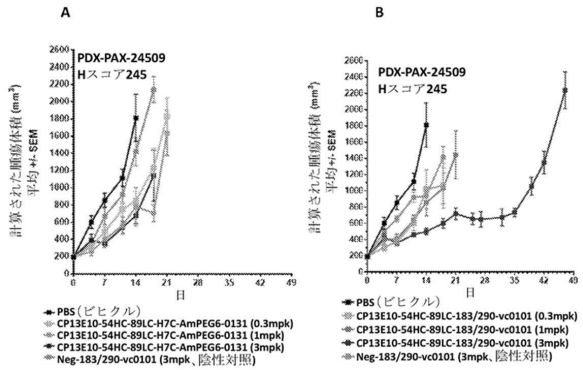
【図２９Ａ】



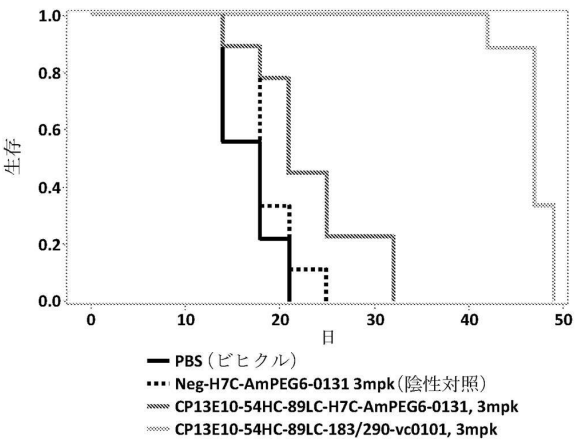
【図２９Ｂ】



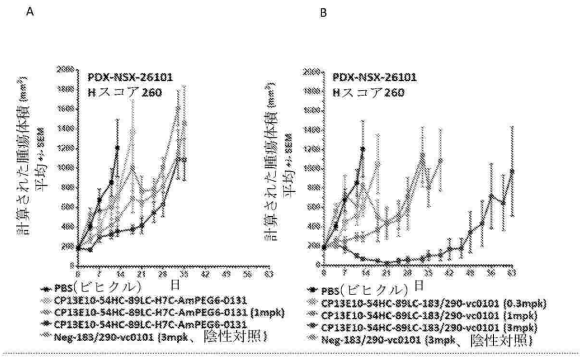
【図３０】



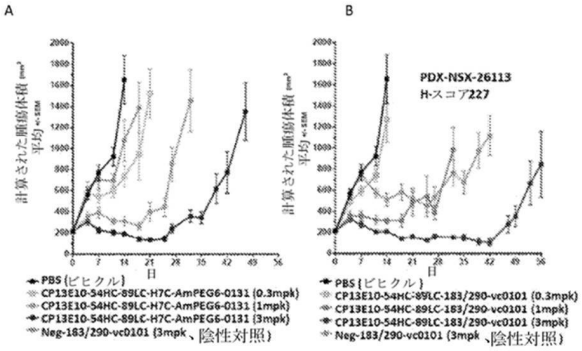
【図３１】



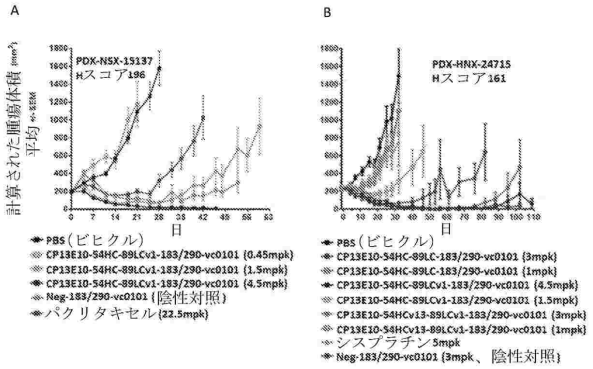
【図３２】



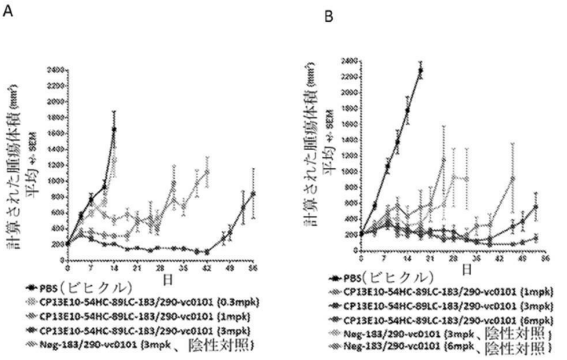
【図３３】



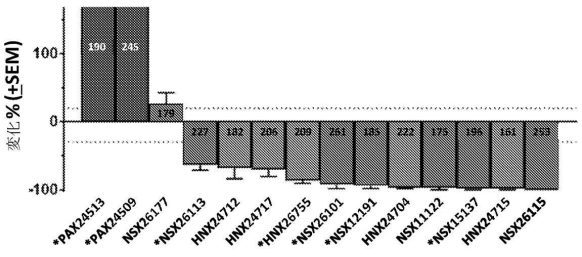
【図３４】



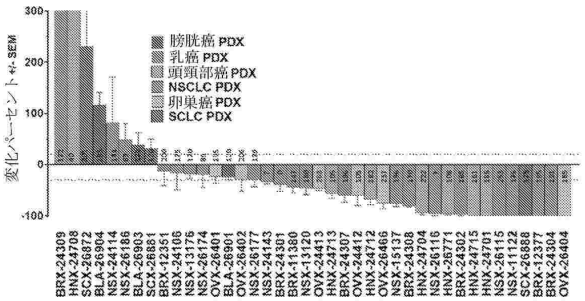
【図３５】



【図３６】



【図３７】



【配列表】
0007440509000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	L
A61K 45/00 (2006.01)		A61K	39/395	T
A61K 47/68 (2017.01)		A61K	45/00	
A61P 35/00 (2006.01)		A61K	45/00	101
A61P 37/04 (2006.01)		A61K	47/68	
A61P 43/00 (2006.01)		A61P	35/00	
		A61P	37/04	
		A61P	43/00	111

９５番、スウィート３１０
(74)代理人 110001519
弁理士法人太陽国際特許事務所
(72)発明者 カントレー、ルイス、シー．
アメリカ合衆国 １００２１ ニューヨーク州 ニューヨーク、ボックス ５０ イースト ６９ ストリート ４１３ ルーム １３６２
(72)発明者 ソルトフ、スティーヴン、ピー．
アメリカ合衆国 ０２４６８ マサチューセッツ州 ワバン、チェスナット ストリート ８２３
(72)発明者 エマーリュン、ブルック、エム．
アメリカ合衆国 ９２１３０ カリフォルニア州 サン ディエゴ、シグネチャー ポイント、１３０３３ ナンバー １７５
(72)発明者 プロギアニス、ジョージ
アメリカ合衆国 ０２２１５ マサチューセッツ州 ボストン、ビーアール－２ ブルックリン アベニュー ３３０ ベス イスラエル ディコネス メディカル センター 内
(72)発明者 ホダコスキ、シンディー、エム．
アメリカ合衆国 １００４４ ニューヨーク州 ニューヨーク、１３７ メイン ストリート、４６５
(72)発明者 リウ、ホイ
アメリカ合衆国 ０１７７８ マサチューセッツ州 ウェイランド、グレゴリー レーン １１
(72)発明者 アポストロウ、イリナ
アメリカ合衆国 ０２０６１ マサチューセッツ州 ノーウェル、リバー ストリート ６２５
(72)発明者 ベイツ、ブライアン、ゲイザー
アメリカ合衆国 ０１８２４ マサチューセッツ州 チェルムスフォード、ハイ ストリート ９３
(72)発明者 マーケット、キンバリー、アン
アメリカ合衆国 ０２１４３ マサチューセッツ州 サマービル、スプリングフィールド ストリート、６６ アパートメント １
(72)発明者 ベネット、エリック、エム．
アメリカ合衆国 ０２４７４ マサチューセッツ州 アーリントン、モーニングサイド ドライブ ４５
(72)発明者 モスヤック、リディア
アメリカ合衆国 ０２４６９ マサチューセッツ州 ニュートン、リトルフィールド ロード ９９
(72)発明者 チスチャコヴァ、リュドミラ、ジー．
アメリカ合衆国 ０２１８０ マサチューセッツ州 ストーンハム、オグラディ サークル ３
(72)発明者 ロスフィヨルド、エドワード、クリスティアン
アメリカ合衆国 ０７４３６ ニュージャージー州 オークランド、ハナー ロード ７
(72)発明者 ロンドン、アイザック、ジェイ．
アメリカ合衆国 ９４１１４ カリフォルニア州 サン フランシスコ、グランド ビュー アベニュー、６４７ ナンバー２
(72)発明者 ホアン、チャオ、パイ
アメリカ合衆国 ９４５７７ カリフォルニア州 サン レアンドロ、アコレード ドライブ ３４５

審査官 加藤 幹

(56)参考文献 国際公開第２０１８／１１２３３４（WO，A１）
Alexander J MARTINKO et al.，Targeting RAS-driven human cancer cells with antibodies to

upregulated and essential cell-surface proteins，eLife，2018年01月23日，Vol.7，DOI: 10.7554/eLife.31098

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)

Ｃ１２Ｎ　１５／

Ｃ０７Ｋ　１６／

ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）

ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）