(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-500952
(P2025-500952A)
(43)公表日　令和7年1月15日(2025.1.15)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C07K 16/18 (2006.01)		C07K	16/18	ZNA　4B064
C07K 16/46 (2006.01)		C07K	16/46	4B065
C12N 15/13 (2006.01)		C12N	15/13	4H045
C12N 1/15 (2006.01)		C12N	1/15	
C12N 1/19 (2006.01)		C12N	1/19	

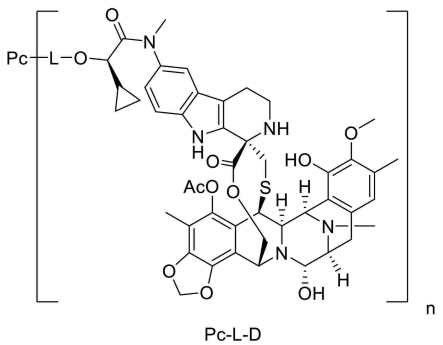
審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全109頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-537142(P2024-537142)
(86)(22)出願日　令和4年12月23日(2022.12.23)
(85)翻訳文提出日　令和6年6月19日(2024.6.19)
(86)国際出願番号　PCT/CN2022/141269
(87)国際公開番号　WO2023/116861
(87)国際公開日　令和5年6月29日(2023.6.29)
(31)優先権主張番号　202111592539.7
(32)優先日　令和3年12月23日(2021.12.23)
(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

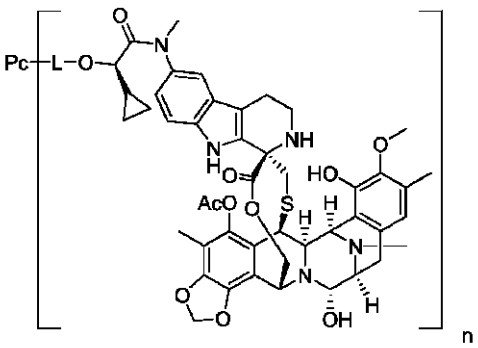
(71)出願人　519352757
江▲蘇▼恒瑞医▲薬▼股▲フン▼有限公司
ＪＩＡＮＧＳＵ ＨＥＮＧＲＵＩ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬＳ ＣＯ．， ＬＴＤ．
中国２２２０４７江▲蘇▼省▲リァン▼云▲港▼市▲経▼▲済▼技▲術▼▲開▼▲発▼区昆▲ルン▼山路７号
ＮＯ．７ ＫＵＮＬＵＮＳＨＡＮ ＲＯＡＤ， ＥＣＯＮＯＭＩＣ ＡＮＤ ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＩＣＡＬ ＤＥＶＥＬＯＰＭＥＮＴ ＺＯＮＥ， ＬＩＡＮＹＵＮＧＡＮＧ， ＪＩＡＮＧＳＵ ２２２０４７， ＣＨＩＮＡ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＤＬＬ３抗体、その抗体－薬物複合体及びその医薬的使用

(57)【要約】
抗ＤＬＬ３抗体、その抗体－薬物複合体及びその医薬的使用である。一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗ＤＬＬ３抗体－エクテイナシジン系薬物複合体に関し、そのうち、Ｐｃは抗ＤＬＬ３抗体である。



Pc-L-D

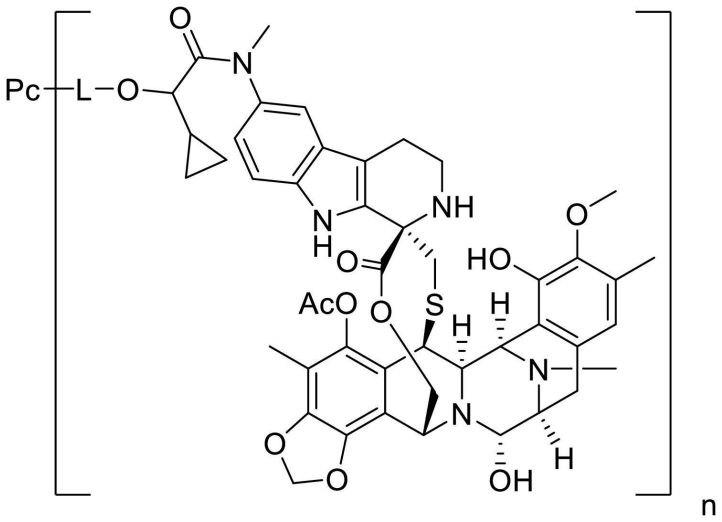


Pc-L-D

【特許請求の範囲】
【請求項１】
重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗ＤＬＬ３抗体であって、
ｉ）前記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び
前記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、
そのうち、配列番号５７はＰＬＹＸ$_1$ＹＧＲＳＹＮＸ$_2$ＶＡＹで示され、そのうち、Ｘ$_1$はＹ若しくはＨであり、Ｘ$_2$はＡ若しくはＧであり、又はｉｉ）前記重鎖可変領域は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号１８のアミノ酸配列ＨＣＤＲ３とを含み、及び
前記軽鎖可変領域は、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、
好ましくは、
前記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号２４、３０若しくは３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び
前記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含む、
抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項２】
マウス抗体、キメラ抗体又はヒト化抗体である、
請求項１に記載の抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項３】
ｉ）前記重鎖可変領域は、配列番号５０、１４、５１、５２、５３若しくは５４に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／又は
前記軽鎖可変領域は、配列番号５５、１５若しくは５６に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｉ）前記重鎖可変領域は、配列番号４３、１２、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２若しくは４４に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／又は
前記軽鎖可変領域は、配列番号４８、１３、４５、４６、４７若しくは４９に対して少なくとも９０％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、
好ましくは、
ｉ）前記重鎖可変領域は配列番号５０、５１、５２、５３及び５４から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖可変領域は配列番号５５若しくは５６のアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｉ）前記重鎖可変領域は配列番号４３、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２及び４４から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖可変領域は配列番号４８、４５、４６、４７及び４９から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｉｉ）前記重鎖可変領域は配列番号１４のアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖可変領域は配列番号１５のアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｖ）前記重鎖可変領域は配列番号１２のアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖可変領域は配列番号１３のアミノ酸配列を含み、
より好ましくは、

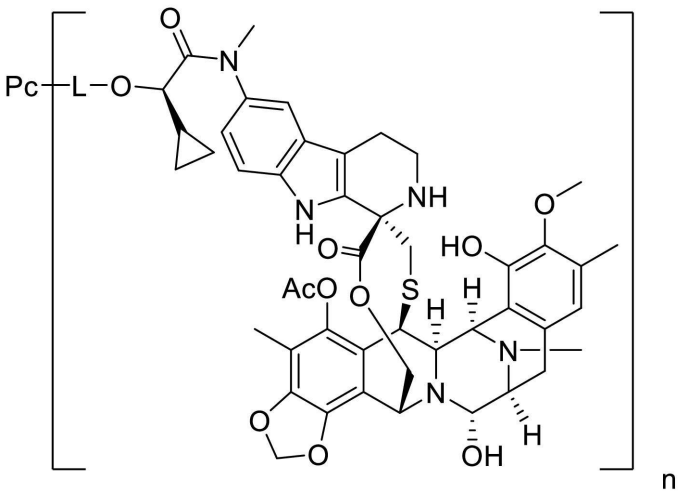
前記重鎖可変領域は配列番号５０のアミノ酸配列を含み、かつ前記軽鎖可変領域は配列番号５５のアミノ酸配列を含み、又は
前記重鎖可変領域は配列番号４３のアミノ酸配列を含み、かつ前記軽鎖可変領域は配列番号４８のアミノ酸配列を含む、
請求項１又は２に記載の抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項４】
抗体断片であり、好ましくは、前記抗体断片はＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）2、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｄ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ、二重抗体又はドメイン抗体である、
請求項１～３の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項５】
重鎖定常領域及び軽鎖定常領域を含み、好ましくは、前記重鎖定常領域は配列番号２８のアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖定常領域は配列番号２９のアミノ酸配列を含む、
請求項１～３の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項６】
重鎖及び軽鎖を含み、そのうち、
前記重鎖は配列番号６０に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖は配列番号６１に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、或いは
前記重鎖は配列番号５８に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／又は前記軽鎖は配列番号５９に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、
好ましくは、
前記重鎖は配列番号６０のアミノ酸配列を含み、かつ前記軽鎖は配列番号６１のアミノ酸配列を含み、或いは
前記重鎖は配列番号５８のアミノ酸配列を含み、かつ前記軽鎖は配列番号５９のアミノ酸配列を含む、
請求項５に記載の抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項７】
ａ）前記抗ＤＬＬ３抗体は、ヒトＤＬＬ３又はそのエピトープに結合するＫＤ値≦３　ｎＭ、≦２　ｎＭ又は≦１　ｎＭであり、前記ＫＤ値がＢｉａｃｏｒｅにより測定されること、
ｂ）前記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３を発現するＨ１１８４細胞に結合するＥＣ５０≦３　ｎＭであり、前記ＥＣ５０がＦＡＣＳにより検出されること、
ｃ）前記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３を発現する細胞によりエンドサイトーシス可能であること、及び
ｄ）前記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３又はそのエピトープに結合するＥＣ５０≦０．１ｎＭであり、前記ＥＣ$_{50}$がＥＬＩＳＡにより測定されること、という特性の中の少なくとも１つを有する、
請求項１～６の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体。
【請求項８】
請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体をコードする、
単離した核酸。
【請求項９】
請求項８に記載の単離した核酸を含む、
宿主細胞。
【請求項１０】
抗ＤＬＬ３抗体を調製する方法であって、前記抗体の発現に適する条件下で請求項９に記載の宿主細胞を培養することを含む、
方法。

【請求項１１】
抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、
請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体と、
薬物と、を含み、
好ましくは、前記薬物は、細胞毒性剤、放射性マーカー、蛍光団、発色団、現像剤、免疫調節剤、血管新生阻害剤、細胞成長阻害剤、アポトーシス促進剤及び細胞溶解酵素から選ばれる１つ又は複数である、
抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩。
【請求項１２】
一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）で示される構造を有し、
【化１】



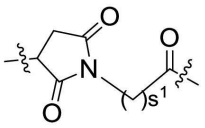
Pc-L-Da

そのうち、
Ｐｃは、請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、
Ｌはリンカーであり、
ｎは１～１０であり、好ましくは、ｎは３～５である、
請求項１１に記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩。
【請求項１３】
一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される構造を有し、
【化２】

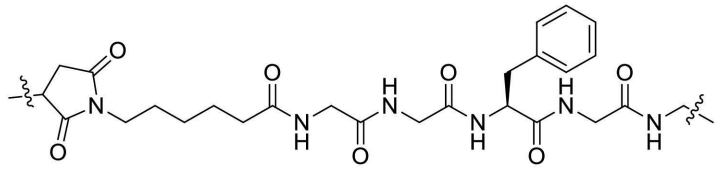


Pc-L-D

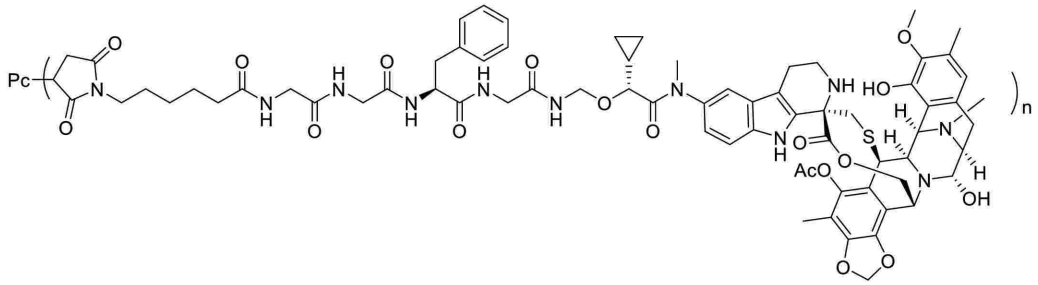
そのうち、
Ｐｃは、請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、
Ｌはリンカーであり、
ｎは１～１０であり、好ましくは、ｎは３～５である、
請求項１１又は１２に記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩。
【請求項１４】
前記リンカーは－Ｌ^{1}－Ｌ^{2}－Ｌ^{3}－Ｌ^{4}－であり、そのうち、
Ｌ^{1}は、－（スクシンイミド－３－イル－Ｎ）－Ｗ－Ｃ（Ｏ）－、－ＣＨ$_{2}$－Ｃ（Ｏ）－ＮＲ^{3}－Ｗ－Ｃ（Ｏ）－及び－Ｃ（Ｏ）－Ｗ－Ｃ（Ｏ）－から選ばれ、そのうち、Ｗは$Ｃ_{1-6}$アルキレン基、$Ｃ_{1-6}$アルキレン－$Ｃ_{3-6}$シクロアルキル基から選ばれ、そのうち、前記$Ｃ_{1-6}$アルキレン基、$Ｃ_{1-6}$アルキレン－$Ｃ_{3-6}$シクロアルキル基は、それぞれ独立的に任意選択的にさらにハロゲン、ヒドロキシ基、シアノ基、アミノ基、アルキル基、クロロアルキル基、重水素化アルキル基、アルコキシ基及びシクロアルキル基から選ばれる１つ又は複数の置換基で置換され、
Ｌ^{2}は、－ＮＲ^{4}（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$Ｏ）$_{p}$ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$Ｃ（Ｏ）－、－ＮＲ^{4}（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$Ｏ）$_{p}$ＣＨ$_{2}$Ｃ（Ｏ）－、－Ｓ（ＣＨ$_{2}$）$_{p}$Ｃ（Ｏ）－及び化学結合から選ばれ、そのうち、ｐは１～２０の整数であり、
Ｌ^{3}は、２～７個のアミノ酸残基から構成されるペプチド残基であり、そのうち、前記アミノ酸は、フェニルアラニン、グリシン、バリン、リジン、シトルリン、セリン、グルタミン酸及びアスパラギン酸から選ばれ、かつ任意選択的にさらにハロゲン、ヒドロキシ基、シアノ基、アミノ基、アルキル基、クロロアルキル基、重水素化アルキル基、アルコキシ基及びシクロアルキル基から選ばれる１つ又は複数の置換基で置換され、
Ｌ^{4}は、－ＮＲ^{5}（ＣＲ^{6}Ｒ^{7}）$_{t}$－、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{5}、－Ｃ（Ｏ）ＮＲ^{5}（ＣＨ$_{2}$）$_{t}$－及び化学結合から選ばれ、そのうち、ｔは１～６の整数であり、
Ｒ^{3}、Ｒ^{4}及びＲ^{5}は同一又は異なり、かつそれぞれ独立的に水素原子、アルキル基、ハロアルキル基、重水素化アルキル基及びヒドロキシアルキル基から選ばれ、
Ｒ^{6}とＲ^{7}は同一又は異なり、かつそれぞれ独立的に水素原子、ハロゲン、アルキル基、ハロアルキル基、重水素化アルキル基及びヒドロキシアルキル基から選ばれ、
好ましくは、
Ｌ^{1}は
【化３】



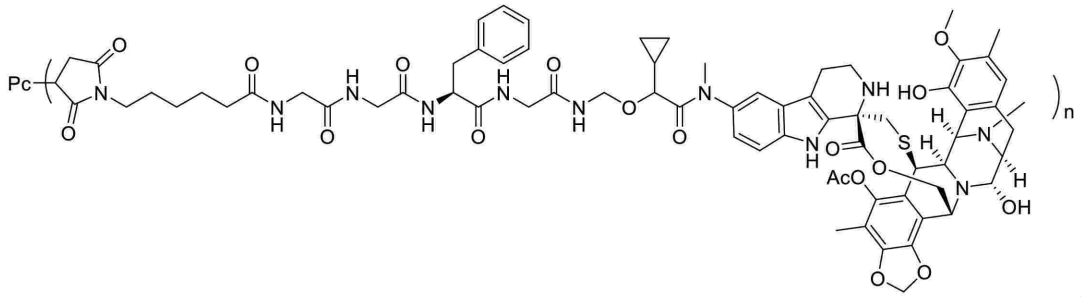
であり、ｓ^{1}は２～８の整数であり、
Ｌ^{2}は化学結合であり、
Ｌ^{3}はテトラペプチド残基であり、好ましくは、Ｌ^{3}はグリシン－グリシン－フェニルアラニン－グリシンを含むテトラペプチド残基であり、
Ｌ^{4}は－ＮＨ（ＣＨ$_{2}$）ｔ－であり、ｔは１又は２であり、
そのうち、前記Ｌ^{1}末端はＰｃに連結され、
より好ましくは、前記のリンカーは下記構造で示される、
【化４】



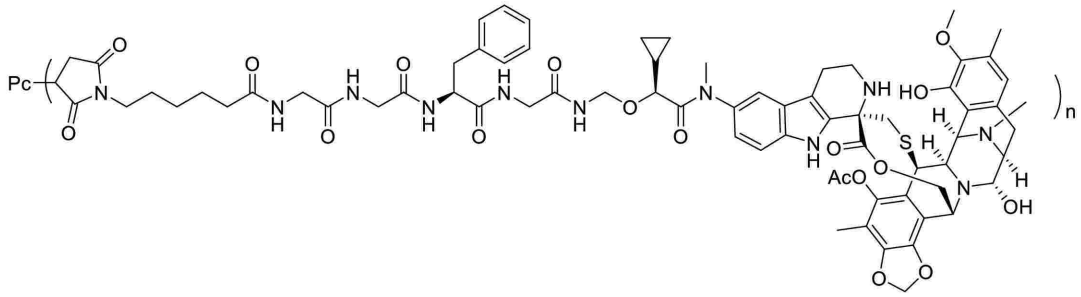
請求項１２又は１３に記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩。
【請求項１５】
前記抗体－薬物複合体は、
【化５】



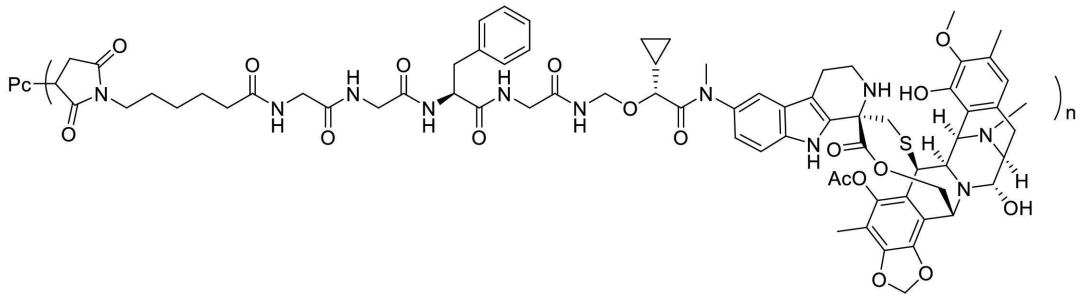
、



又は



から選ばれる構造を有し、
そのうち、
Ｐｃは請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、ｎは１～１０であり、
好ましくは、前記抗体－薬物複合体は、
【化６】



で示される構造を有し、そのうち、
Ｐｃは請求項６に記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、
そのうち、ｎは１～８であり、より好ましくは、ｎは３～５である、
請求項１１～１４の何れか一項に記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩。
【請求項１６】

医薬組成物であって、
請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは請求項１１～１５の何れか一項に記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩と、
１種又は複数種の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤又はベクターと、を含む、
医薬組成物。
【請求項１７】
請求項１～７の何れか一項に記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは請求項１１～１５の何れか一項に記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩、或いは請求項１６に記載の医薬組成物の、腫瘍又はがんを治療するための薬剤の調製における使用であって、好ましくは、前記腫瘍又はがんは、
肺がん、小細胞肺がん、大細胞肺がん、頭頸部扁平上皮がん、頭頸部がん、脳がん、神経膠腫、多形性膠芽腫、神経芽細胞腫、中枢神経系がん、神経内分泌腫瘍、咽頭がん、咽頭扁平上皮がん、口腔扁平上皮がん、鼻咽頭がん、食道がん、甲状腺がん、甲状腺髄様がん、悪性胸膜中皮腫、乳がん、トリプルネガティブ乳がん、肝がん、肝胆嚢がん、膵臓がん、胃がん、消化管がん、腸がん、結腸直腸がん、腎がん、明細胞腎細胞がん、卵巣がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、副腎がん、膠芽細胞腫、皮膚がん及び黒色腫から選ばれ、より好ましくは、前記腫瘍又はがんは小細胞肺がんである、
使用。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本願は、２０２１年１２月２３日に提出された中国特許出願（ＣＮ２０２１１１５９２５３９．７）の優先権を主張する。
【０００２】
本開示は、抗ＤＬＬ３抗体、その薬物複合体及びその調製方法に関する。同時に、本開示に記載の抗ＤＬＬ３抗体又はそのＡＤＣは、疾患又は病状を治療する薬剤の調製に適用可能である。
【背景技術】
【０００３】
ここでの記載は、必ずしも従来技術を構成するものではなく、本開示に関連する背景情報のみを提供する。
【０００４】
小細胞肺がん（Ｓｍａｌｌ　Ｃｅｌｌ　Ｌｕｎｇ　Ｃａｎｃｅｒ、ＳＣＬＣ）は、全肺がん症例の１０％～１５％を占める比較的悪性の肺がんタイプに属する。小細胞肺がんは、腫瘍の成長速度が速く、転移しやすく、５年生存率が７％未満である。小細胞肺がんの治療には、白金系／エトポシド併用の化学療法がよく使用されている。小細胞肺がん患者は、初期に化学療法によく反応するが、薬剤耐性及び再発を極めて起こしやすい。近年の免疫療法、例えば、ＰＤ－Ｌ１抗体とＰＤ１抗体は、小細胞患者に対して効果を若干有するが、有効率が約１５％である。特異的な標的治療薬は、未だ開発されていないことが現状である。
【０００５】
ＤＬＬ３は、Ｎｏｔｃｈを阻害するリガンドである。正常な状態では、ＤＬＬ３はゴルジ体にあり、がん細胞（例えば、小細胞肺がん細胞）においては、ＤＬＬ３は細胞表面に到達し、Ｎｏｔｃｈとシス結合し、細胞と細胞の結合及びＮｏｔｃｈの標的細胞へのエンドサイトーシスを阻害することにより、Ｎｏｔｃｈシグナル伝達経路を抑制し、腫瘍細胞の成長を促進する。ＤＬＬ３は、ＳＣＬＣ、大細胞神経内分泌がん、消化管神経内分泌腫瘍、小細胞膀胱がん、多形性膠芽腫、転移性去勢性前立腺がん、黒色腫などを含む、神経又は神経内分泌腫瘍において主に発現される。特にＳＣＬＣについては、８０％以上のＳＣＬＣにはＤＬＬ３の陽性発現があるが、正常な肺がん組織及び傍がん組織には発現され

ない。この発現の相違性により、ＤＬＬ３は、ＳＣＬＣを治療するための極めて潜在的な治療標的となる。

【０００６】

エクテイナシジン誘導体、例えば、ルルビネクテジン（Ｌｕｒｂｉｎｅｃｔｅｄｉｎ）は、ＤＮＡ二重らせん構造における副溝に共有結合することにより、ＲＮＡポリメラーゼＩ及びミトコンドリアＲＮＡポリメラーゼ活性にも、ｍＲＮＡの正常な転写過程にも影響を与えずに、トランス活性化されたＲＮＡポリメラーゼＩＩ媒介性の転写過程を選択的に阻害することができる、ＲＮＡポリメラーゼＩＩの阻害剤である。ＲＮＡポリメラーゼＩＩは、腫瘍細胞の転写中に過剰に活性化される傾向があり、ルルビネクテジンは、腫瘍細胞を有糸分裂中に異常化・アポトーシスし、最終的に細胞増殖を低下させることができる。腫瘍細胞は、高速で作動する転写過程によってその増殖を支持し、それらの腫瘍細胞は、特にルルビネクテジンに感受性が高く、ＳＣＬＣ、ＢＲＣＡ１／２変異乳がん、白金系薬剤耐性卵巣がん及び染色体転座による肉腫などを含む。

【０００７】

抗体－薬物複合体（ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｄｒｕｇ　ｃｏｎｊｕｇａｔｅ、ＡＤＣ）は、モノクローナル抗体又は抗体断片をリンカーを介して生物活性を有する薬物に連結し、抗体の正常細胞及び腫瘍細胞表面抗原に結合する特異性及び薬物（例えば、細胞毒性剤）の高効率を活用すると共に、抗体の治療効果が比較的に低く、薬物の毒性や副作用が大きすぎるといった欠陥を回避する。従来の化学療法薬と比べて、抗体－薬物複合体は、腫瘍細胞をより正確に殺傷すると共に、正常細胞への影響を低減させることができる。

【発明の概要】

【０００８】

本開示は、抗ＤＬＬ３抗体、そのＡＤＣ、及びその医薬的使用に関する。より具体的には、本開示は、種々の配列の真新しい抗ＤＬＬ３抗体、及び細胞毒性物質（例えば、エクテイナシジン系誘導体）とカップリングしたそのＡＤＣを提供する。

【０００９】

幾つかの実施形態において、本開示は、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む抗ＤＬＬ３抗体を提供し、そのうち、

ｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び

上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、そのうち、配列番号５７は$PLYX_1YGRSYNX_2VAY$で示され、そのうち、X_1はＹ若しくはＨであり、X_2はＡ若しくはＧであり、或いは

ｉｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号１８のアミノ酸配列ＨＣＤＲ３とを含み、及び

上記軽鎖可変領域は、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含む。

【００１０】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、

上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号２４、３０若しくは３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び

上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含む。

【００１１】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含む。

【００１２】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含む。

【００１３】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含む。

【００１４】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
ｉ）上記重鎖可変領域は、それぞれ配列番号２２、配列番号２３及び配列番号５７で示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２及びＨＣＤＲ３を含み、かつ上記軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号２５、配列番号２６及び配列番号２７で示されるＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３を含み、
そのうち、配列番号５７はＰＬＹX_1ＹＧＲＳＹＮX_2ＶＡＹで示され、そのうち、X_1はＹ若しくはＨであり、X_2はＡ若しくはＧであり、或いは
ｉｉ）上記重鎖可変領域は、それぞれ配列番号１６、配列番号１７及び配列番号１８で示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２及びＨＣＤＲ３を含み、かつ上記軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号１９、配列番号２０及び配列番号２１で示されるＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３を含む。幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、マウス抗体、キメラ抗体又はヒト化抗体である。幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、好ましくはヒト化抗体である。

【００１５】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、ヒト免疫グロブリンフレームワーク領域（ＦＲ領域）を含む。

【００１６】

一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、そのうち、配列番号５７はＰＬＹX_1ＹＧＲＳＹＮX_2ＶＡＹで示され、そのうち、X_1はＹ若しくはＨであり、X_2はＡ若しくはＧであり、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、４９Ａ及び９４Ｓから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは４３Ｉ復帰変異を含み、上記復帰変異部位は、Ｋａ

ｂａｔ番号付け規則に従う。
【００１７】
一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号１８のアミノ酸配列ＨＣＤＲ３とを含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、２７Ｙ、３０Ｔ、３８Ｋ、４３Ｋ、４８Ｉ、６７Ａ、６８Ａ、６９Ｌ、７１Ｖ、７３Ｋ、７５Ｓ、７６Ｎ及び９３Ａから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは、３６Ｌ、４３Ｓ、４４Ｆ、４６Ｇ、６９Ａ、７１Ｙ及び８５Ｄから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含む。上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００１８】
一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号１８のアミノ酸配列ＨＣＤＲ３とを含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、６８Ａ、６９Ｌ、７１Ｖ、７３Ｋ、７５Ｓ、７６Ｎの復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号１９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは、３６Ｌ、４６Ｇ、６９Ａ、７１Ｙ及び８５Ｄの復帰変異を含み、上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００１９】
一具体的な実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは１Ｅと９４Ｓの復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００２０】
一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号２４、３０若しくは３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、４９Ａ及び９４Ｓから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは、４３Ｉ復帰変異を含む。上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００２１】
一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを

含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、４９Ａ及び９４Ｓから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは、４３Ｉ復帰変異を含む。上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００２２】
一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、４９Ａ及び９４Ｓから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは、４３Ｉ復帰変異を含む。上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００２３】
一実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１と、配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２と、配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３とを含み、かつ上記重鎖可変領域のＦＲは、１Ｅ、４９Ａ及び９４Ｓから選ばれる１つ又は複数の復帰変異を含み、及び
上記軽鎖可変領域は、配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１と、配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２と、配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３とを含み、かつ上記軽鎖可変領域のＦＲは、４３Ｉ復帰変異を含む。上記復帰変異部位は、Ｋａｂａｔ番号付け規則に従う。
【００２４】
幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
ｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号１４、５０、５１、５２、５３若しくは５４に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号１５、５５若しくは５６に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する軽鎖可変領域を含み、或いは
ｉｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号１２、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３若しくは４４に対して少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号１３、４５、４６、４７、４８若しくは４９に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する軽鎖可変領域を含む。
【００２５】
幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
ｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号１４に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号１５に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する軽鎖可変領域を含み、或いは

ｉｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号５０、５１、５２、５３若しくは５４に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号５５若しくは５６に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、或いは
ｉｉｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号１２に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号１３に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、或いは
ｉｖ）上記重鎖可変領域は、配列番号３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３若しくは４４に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号４５、４６、４７、４８若しくは４９に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【００２６】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
ｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号５０に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号５５に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、或いは
ｉｉ）上記重鎖可変領域は、配列番号４３に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は
上記軽鎖可変領域は、配列番号４８に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【００２７】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
ｉ）上記重鎖可変領域は配列番号１４のアミノ酸配列を含み、及び／又は上記軽鎖可変領域は配列番号１５のアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｉ）上記重鎖可変領域は配列番号５０、５１、５２、５３及び５４から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列を含み、及び／又は上記軽鎖可変領域は５５若しくは５６のアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｉｉ）上記重鎖可変領域は配列番号１２のアミノ酸配列を含み、及び／又は上記軽鎖可変領域は配列番号１３のアミノ酸配列を含み、或いは
ｉｖ）上記重鎖可変領域は、配列番号４３、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２及び４４から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列を含み、及び／又は上記軽鎖可変領域は、配列番号４８、４５、４６、４７及び４９から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列を含む。

【００２８】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、
上記重鎖可変領域は配列番号５０のアミノ酸配列を含み、かつ上記軽鎖可変領域は配列番号５５のアミノ酸配列を含み、

上記重鎖可変領域は配列番号４３のアミノ酸配列を含み、かつ上記軽鎖可変領域は配列番号４８のアミノ酸配列を含む。

【００２９】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、上記抗ＤＬＬ３抗体は抗体断片であり、そのうち、上記抗体断片はＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）2、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆｄ、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、ｄｓＦｖ、二重抗体又はドメイン抗体である。

【００３０】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、軽鎖定常領域及び重鎖定常領域を含む。

【００３１】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４の定常領域を含む。

【００３２】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、λ鎖又はκ鎖の定常領域を含む。

【００３３】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、ＩｇＧ１の重鎖定常領域とκ鎖の軽鎖定常領域を含む。

【００３４】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、上記重鎖定常領域は配列番号２８の配列を含み、及び／又は軽鎖定常領域は配列番号２９の配列を含む。

【００３５】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは重鎖及び軽鎖を含み、そのうち、

上記重鎖は、配列番号６０に対して少なくとも８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は上記軽鎖は、配列番号６１に対して少なくとも８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、或いは

上記重鎖は、配列番号５８に対して少なくとも８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含み、及び／又は上記軽鎖は、配列番号５９に対して少なくとも８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％若しくは９９％の同一性を有する配列を含む。

【００３６】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、上記重鎖は配列番号６０で示される配列を含み、及び／又は上記軽鎖は配列番号６１で示される配列を含み、或いは

上記重鎖は配列番号５８で示される配列を含み、及び／又は上記軽鎖は配列番号５９で示される配列を含む。

【００３７】

別の態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗体と競合してＤＬＬ３又はそのエピトープに結合する、単離した抗ＤＬＬ３の抗体を提供する。

【００３８】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、そのうち、上記抗体は、下記特性の中の少なくとも１つを有する：

ａ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ヒトＤＬＬ３又はそのエピトープに結合するＫＤ値≦３ｎＭ、≦２　ｎＭ、≦１　ｎＭ、≦０．９　ｎＭ、≦０．８　ｎＭ、≦０．７　ｎＭ、≦０．６　ｎＭ、≦０．５　ｎＭ、≦０．４　ｎＭであり、上記ＫＤ値がＢｉａｃｏｒｅにより測定されること、

ｂ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３を発現するＨ１１８４細胞に結合するＥＣ５０≦３　ｎＭ、ＥＣ５０≦２　ｎＭ、ＥＣ５０≦１　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．５　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．２　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．１　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０９　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０８　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０７　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０６　ｎＭであり、上記ＥＣ５０がＦＡＣＳにより検出されること、

ｃ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３を発現する細胞によりエンドサイトーシス可能であること、

ｄ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３又はそのエピトープに結合するＥＣ５０≦０．１ｎＭ（≦０．０９　ｎＭ、≦０．０８　ｎＭ、≦０．０７　ｎＭ、≦０．０６　ｎＭ、≦０．０５　ｎＭ、≦０．０４　ｎＭ）であり、上記ＥＣ５０がＥＬＩＳＡにより測定されること、及び

ｅ）上記抗ＤＬＬ３抗体と陽性抗体（例えば、ＢＩ－７６４５３２）は、異なるＤＬＬ３エピトープを認識すること。

【００３９】

別の態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体をコードする、単離した核酸を提供する。

【００４０】

別の態様において、本開示は、上記単離した核酸を含むベクターを提供する。

【００４１】

さらなる態様において、本開示は、上記のベクター又は上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体を含む宿主細胞を提供する。

【００４２】

一態様において、本開示は、ＤＬＬ３に結合する抗体を調製する方法であって、上記抗体の発現に適する条件下で上記宿主細胞を培養することを含む方法を提供する。

【００４３】

さらなる態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体を含む抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩を提供する。

【００４４】

さらなる態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体と、上記抗ＤＬＬ３抗体にカップリングされる薬物とを含む抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩を提供する。

【００４５】

幾つかの実施形態において、上記抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、そのうち、上記薬物は、細胞毒性剤、放射性マーカー、蛍光団、発色団、現像剤、免疫調節剤、血管新生阻害剤、細胞成長阻害剤、アポトーシス促進剤及び細胞溶解酵素のうちの１種又は複数種から選ばれる。

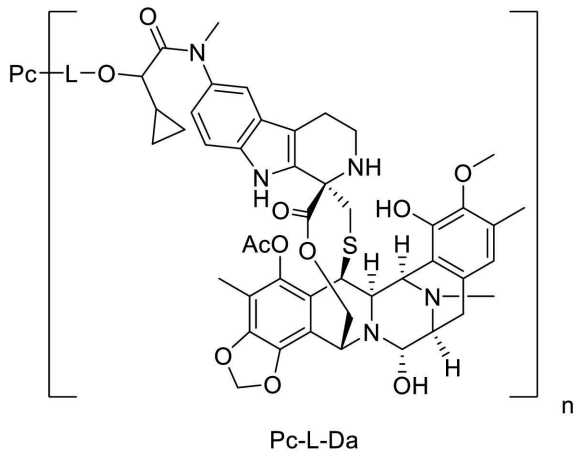
【００４６】

幾つかの実施形態において、そのうち、上記薬物は、エクテイナシジンＥｔ－７４３（Ｔｒａｂｅｃｔｅｄｉｎ、トラベクテジン）又はその誘導体である。幾つかの実施形態において、上記薬物は、エクテイナシジン誘導体、例えば、ルルビネクテジン（Ｌｕｒｂｉｎｅｃｔｅｄｉｎ）である。

【００４７】

幾つかの実施形態において、上記抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、それは、一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）で示される構造を有する：

【化１】



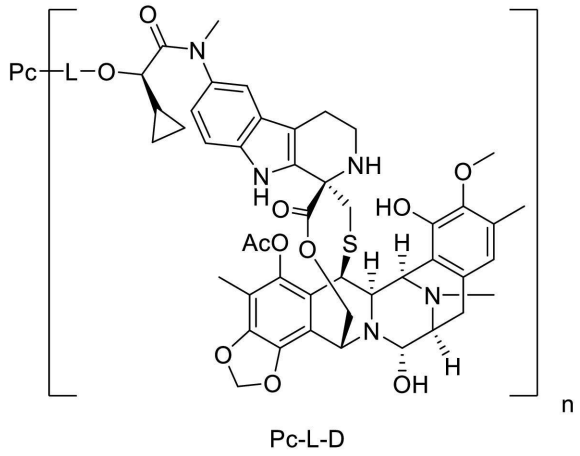
Pc-L-Da

そのうち、Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、Ｌはリンカーであり、ｎは１～１０（整数と小数を含む）であり、好ましくは、ｎは３～５である。

【００４８】

幾つかの実施形態において、上記抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、それは、一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩である：

【化２】



Pc-L-D

そのうち、Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、Ｌはリンカーであり、ｎは１～１０であり、好ましくは、ｎは３～５である。

【００４９】

幾つかの実施形態において、上記一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、そのうち、ｎは各抗体の平均薬物モジュール数であり、整数でも小数でもよい。幾つかの実施形態において、ｎは１～１０、又は１～９、又は２～１０、又は２～９、又は１～８、又は２～８、又は２～７、又は２～４、又は１～４、又は１～３、又は３～８、又は３～７、又は３～６、又は３～５、又は４～７、又は４～６、又は４～５の平均値であり、幾つかの実施形態において、ｎは１、２、３、４、５、６、７、８、９又は１０である。

【００５０】

幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、そのうち、リンカー－Ｌ－は$Ｌ^{1}$－$Ｌ^{2}$－$Ｌ^{3}$－$Ｌ^{4}$－であり、そのうち、

$Ｌ^{1}$は、－（スクシンイミド－３－イル－Ｎ）－Ｗ－Ｃ（Ｏ）－、－$ＣＨ_{2}$－Ｃ（Ｏ）－$ＮＲ^{3}$－Ｗ－Ｃ（Ｏ）－及び－Ｃ（Ｏ）－Ｗ－Ｃ（Ｏ）－から選ばれ、そのうち、Ｗは

C_{1-6}アルキレン基、C_{1-6}アルキレン－C_{3-6}シクロアルキル基から選ばれ、そのうち、上記C_{1-6}アルキレン基、C_{1-6}アルキレン－C_{3-6}シクロアルキル基は、それぞれ独立的に任意選択的にさらにハロゲン、ヒドロキシ基、シアノ基、アミノ基、アルキル基、クロロアルキル基、重水素化アルキル基、アルコキシ基及びシクロアルキル基から選ばれる１つ又は複数の置換基で置換され、

L^2は、－NR^4（CH_2CH_2O）$_pCH_2CH_2C$（Ｏ）－、－NR^4（CH_2CH_2O）$_pCH_2C$（Ｏ）－、－Ｓ（CH_2）$_pC$（Ｏ）－及び化学結合から選ばれ、そのうち、ｐは１～２０の整数であり、

L^3は、２～７個のアミノ酸残基から構成されるペプチド残基であり、そのうち、上記アミノ酸は、フェニルアラニン（Ｆ）、グリシン（Ｇ）、バリン（Ｖ）、リジン（Ｋ）、シトルリン、セリン（Ｓ）、グルタミン酸（Ｅ）及びアスパラギン酸（Ｄ）から選ばれ、かつ任意選択的にさらにハロゲン、ヒドロキシ基、シアノ基、アミノ基、アルキル基、クロロアルキル基、重水素化アルキル基、アルコキシ基及びシクロアルキル基から選ばれる１つ又は複数の置換基で置換され、

L^4は、－NR^5（CR^6R^7）$_t$－、－Ｃ（Ｏ）NR^5、－Ｃ（Ｏ）NR^5（CH_2）$_t$－及び化学結合から選ばれ、そのうち、ｔは１～６の整数であり、

R^3、R^4及びR^5は同一又は異なり、かつそれぞれ独立的に水素原子、アルキル基、ハロアルキル基、重水素化アルキル基及びヒドロキシアルキル基から選ばれ、

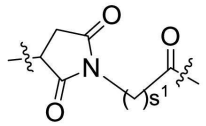
R^6及びR^7は同一又は異なり、かつそれぞれ独立的に水素原子、ハロゲン、アルキル基、ハロアルキル基、重水素化アルキル基及びヒドロキシアルキル基から選ばれる。

【００５１】

幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、そのうち、リンカー－Ｌ－は$L^1-L^2-L^3-L^4-$であり、そのうち、

L^1は

【化３】



であり、s^1は２～８の整数であり、２、３、４、５、６、７若しくは８を含むが、これらに限定されず、

L^2は化学結合であり、

L^3はテトラペプチド残基であり、好ましくは、L^3はグリシン－グリシン－フェニルアラニン－グリシンを含むテトラペプチド残基であり、

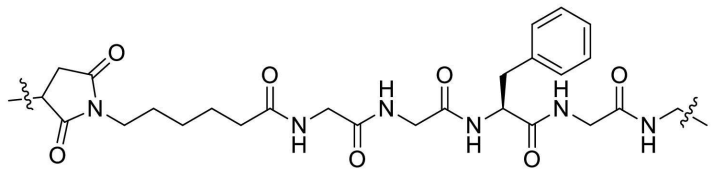
L^4は－ＮＨ（CH_2）ｔ－であり、ｔは１又は２であり、

そのうち、上記L^1末端はＰｃに連結される。

【００５２】

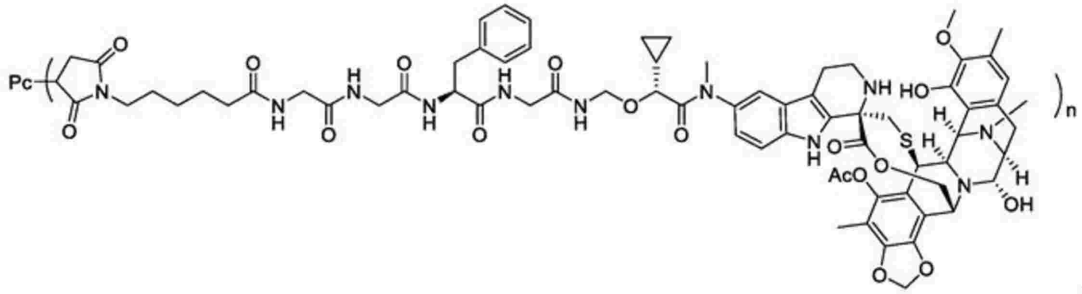
幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、そのうち、－Ｌ－は、

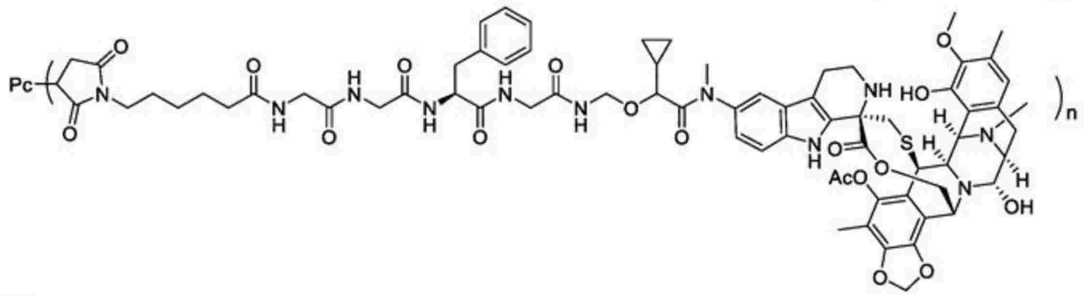
【化４】



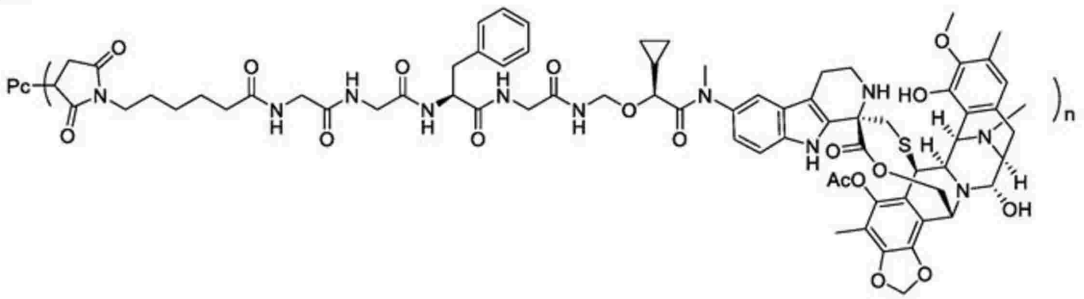
である。

【００５３】
幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、上記抗体－薬物複合体は下記から選択される構造を有する：
【化５】

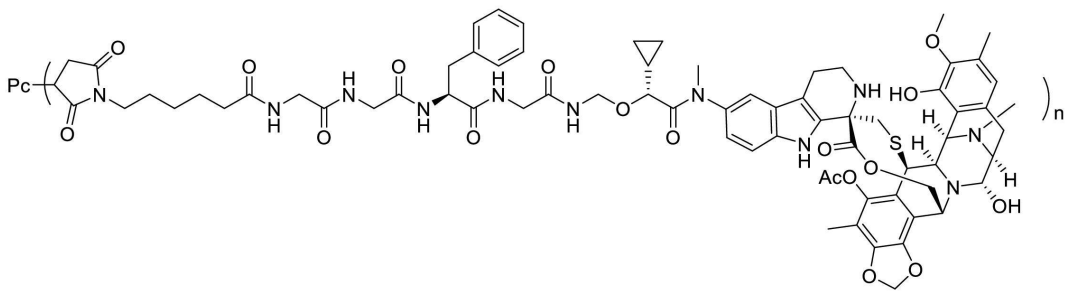




又は



そのうち、Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、ｎは１～１０である。
【００５４】
幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、上記抗体－薬物複合体は下記のような構造を有する：
【化６】



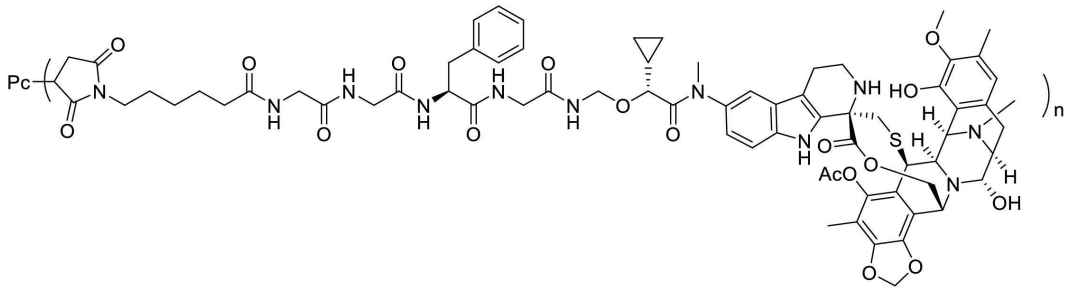
そのうち、
ｎは１～１０であり、
Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、好ましくは、Ｐｃは抗ＤＬＬ３抗体であり、それは、

配列番号６０で示される重鎖と配列番号６１で示される軽鎖、又は
配列番号５８で示される重鎖と配列番号５９で示される軽鎖を含む。

【００５５】

幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、上記抗体－薬物複合体は下記のような構造を有する：

【化７】

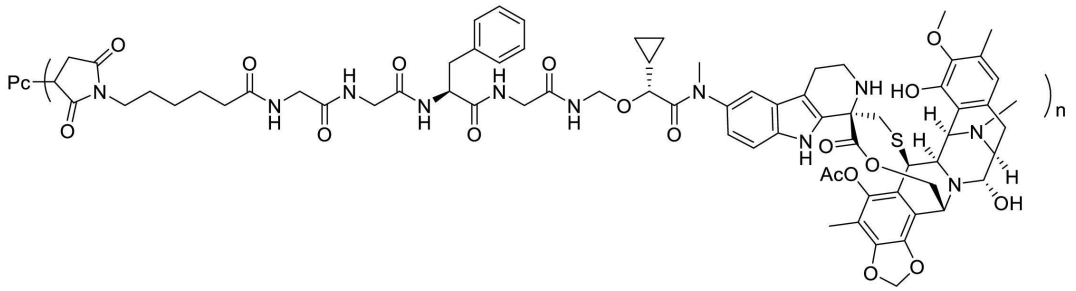


そのうち、
Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、好ましくは、Ｐｃは抗ＤＬＬ３抗体であり、それは、
配列番号６０で示される重鎖と配列番号６１で示される軽鎖、又は
配列番号５８で示される重鎖と配列番号５９で示される軽鎖を含み、
ｎは１～８である。

【００５６】

幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、上記抗体－薬物複合体は下記のような構造を有する：

【化８】

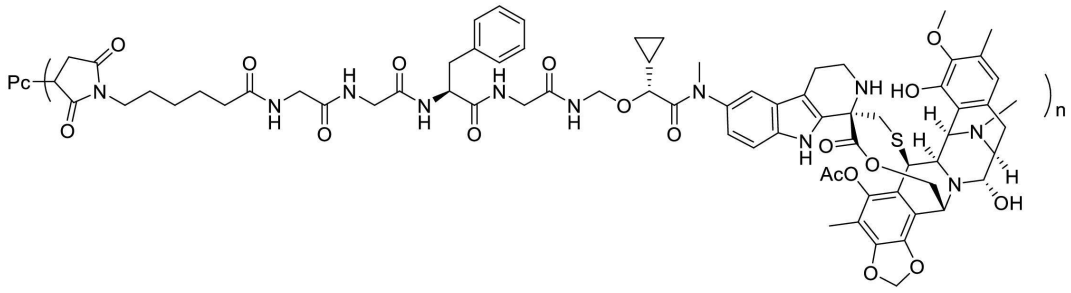


そのうち、
Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、好ましくは、Ｐｃは抗ＤＬＬ３抗体であり、それは、
配列番号６０で示される重鎖と配列番号６１で示される軽鎖、又は
配列番号５８で示される重鎖と配列番号５９で示される軽鎖を含み、
ｎは３～５である。

【００５７】

幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、上記抗体－薬物複合体は下記のような構造を有する：

【化９】

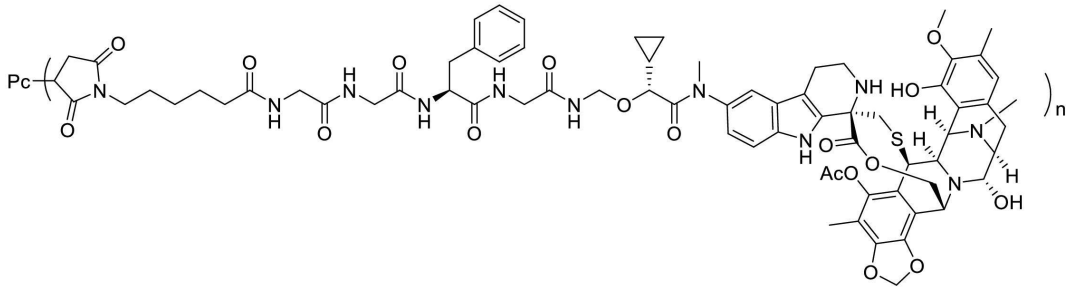


そのうち、
Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、好ましくは、Ｐｃは抗ＤＬＬ３抗体であり、それは、
配列番号６０で示される重鎖と配列番号６１で示される軽鎖、又は
配列番号５８で示される重鎖と配列番号５９で示される軽鎖を含み、
ｎは３．７３～４．２７である。

【００５８】

幾つかの実施形態において、上記何れか１つに記載の一般式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）若しくは（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）で示される抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩であって、上記抗体－薬物複合体は下記のような構造を有する：

【化１０】



そのうち、
Ｐｃは上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体であり、好ましくは、Ｐｃは抗ＤＬＬ３抗体であり、それは、
配列番号６０で示される重鎖と配列番号６１で示される軽鎖、又は
配列番号５８で示される重鎖と配列番号５９で示される軽鎖を含み、
ｎは３．７２～４．８８である。

【００５９】

本開示は、抗体－薬物複合体を調製する方法であって、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体を還元し、そして（Ｌ－Ｄ）若しくは（Ｌ－Ｄａ）で示される化合物とカップリング反応させ、本開示に記載の抗体－薬物複合体を得ることを含む方法をさらに提供する。

【００６０】

別の態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは上記何れか１つに記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩と、１種又は複数種の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤又はベクターとを含む医薬組成物を提供する。幾つかの実施形態において、上記単位用量の医薬組成物は、０．１～３０００　ｍｇ又は１～１０００　ｍｇの上記抗ＤＬＬ３抗体又は上記抗体－薬物複合体を含む。

【００６１】

別の態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは上記何れか１つに記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩、或いはそれを含む医

薬組成物の薬剤としての使用を提供する。

【００６２】

別の態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは上記何れか１つに記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩、或いは上記医薬組成物の、ＤＬＬ３媒介性の疾患又は病状を治療するための薬剤の調製における使用を提供する。幾つかの実施形態において、そのうち、上記ＤＬＬ３媒介性の疾患又は病状は、腫瘍又はがんである。幾つかの実施形態において、そのうち、上記ＤＬＬ３媒介性の疾患又は病状は、ＤＬＬ３を発現する疾患又は病状である。

【００６３】

別の態様において、本開示は、上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは上記何れか１つに記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩、又は上記医薬組成物の、腫瘍又はがんを治療又は予防するための薬剤の調製における使用を提供し、好ましくは、そのうち、上記腫瘍又はがんは、

肺がん（例えば、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、大細胞肺がん）、頭頸部扁平上皮がん、頭頸部がん、脳がん、神経膠腫、多形性膠芽腫、神経芽細胞腫、中枢神経系がん、神経内分泌腫瘍、咽頭がん、咽頭扁平上皮がん、口腔扁平上皮がん、鼻咽頭がん、食道がん、甲状腺がん（例えば、甲状腺髄様がん）、悪性胸膜中皮腫、乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん）、肝がん、肝胆嚢がん、膵臓がん、胃がん、消化管がん、腸がん、結腸直腸がん（例えば、結腸がんと直腸がん）、腎がん、明細胞腎細胞がん、卵巣がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、副腎がん、膠芽細胞腫、皮膚がん及び黒色腫から選ばれ、より好ましくは、そのうち、上記腫瘍又はがんは小細胞肺がんである。

【００６４】

より好ましくは、上記腫瘍又はがんは、ＤＬＬ３を発現する腫瘍又はがんである。

【００６５】

別の態様において、本開示は、さらに、腫瘍又はがんを治療及び／又は予防するための方法に関し、当該方法は、それを必要とする対象に治療有効量の上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは上記何れか１つに記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩、或いは上記医薬組成物を投与することを含み、好ましくは、そのうち、上記腫瘍又はがんはＤＬＬ３を発現する腫瘍又はがんである。

【００６６】

別の態様において、本開示は、さらに、腫瘍又はがんを治療又は予防するための方法に関し、当該方法は、それを必要とする対象に治療有効量の上記何れか１つに記載の抗ＤＬＬ３抗体、或いは上記何れか１つに記載の抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩、或いは上記医薬組成物を投与することを含み、そのうち、上記腫瘍又はがんは、

肺がん（例えば、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、大細胞肺がん）、頭頸部扁平上皮がん、頭頸部がん、脳がん、神経膠腫、多形性膠芽腫、神経芽細胞腫、中枢神経系がん、神経内分泌腫瘍、咽頭がん、咽頭扁平上皮がん、口腔扁平上皮がん、鼻咽頭がん、食道がん、甲状腺がん（例えば、甲状腺髄様がん）、悪性胸膜中皮腫、乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん）、肝がん、肝胆嚢がん、膵臓がん、胃がん、消化管がん、腸がん、結腸直腸がん（例えば、結腸がんと直腸がん）、腎がん、明細胞腎細胞がん、卵巣がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、副腎がん、膠芽細胞腫、皮膚がん及び黒色腫から選ばれ、好ましくは、そのうち、上記腫瘍又はがんは小細胞肺がんである。

【００６７】

別の態様において、本開示は、薬剤として、好ましくはがん又は腫瘍を治療する薬剤として、より好ましくはＤＬＬ３を発現するがん又は腫瘍を治療する薬剤としての上記抗ＤＬＬ３抗体、又は上記抗体－薬物複合体をさらに提供する。

【００６８】

本開示に提供される抗ＤＬＬ３抗体及び抗体－薬物複合体は、細胞表面抗原との良好な

親和性を有し、ＤＬＬ３を発現する細胞により効果的にエンドサイトーシス可能であり、かつ腫瘍成長を阻害する効果が強いと共に、良好な安全性を有する。

【図面の簡単な説明】

【００６９】

【図１Ａ】～

【図１Ｃ】Ｈｕ６とＨｕ１００抗体の異なる種のＤＬＬ３への結合を示す。そのうち、図１Ａは、Ｈｕ６とＨｕ１００抗体のＨ１１８４細胞への結合のＦＡＣＳ結果を示し、図１ＢはＨｕ６とＨｕ１００抗体のｃｙｎｏＤＬＬ３／ＣＨＯ－ｓ細胞への結合のＦＡＣＳ結果を示し、図１ＣはＨｕ６とＨｕ１００抗体のｒａｔＤＬＬ３／ＣＨＯ－ｓ細胞への結合のＦＡＣＳ結果を示す。

【図２】異なる抗ＤＬＬ３抗体の競合的結合実験の結果を示す。その結果、Ｈｕ６とＨｕ１００は、ＢＩ－７６４５３２と競合しないので、抗体Ｈｕ６とＨｕ１００は、ＢＩ－７６４５３２とは異なるエピトープに結合することが示唆されている。

【図３】Ｈｕ６とＨｕ１００抗体が細胞によりエンドサイトーシスされた結果を示し、その結果、Ｈｕ６とＨｕ１００は、何れも細胞によりエンドサイトーシス可能なことを示す。

【図４Ａ】～

【図４Ｅ】ＡＤＣ－１とＡＤＣ－２の異なる細胞の成長への阻害作用を示す。そのうち、図４ＡはＡＤＣ－１とＡＤＣ－２のＤＬＬ３低発現ＤＭＳ５３細胞の成長への阻害結果を示し、図４ＢはＡＤＣ－１とＡＤＣ－２のＤＬＬ３高発現Ｈ１１８４細胞の成長への阻害結果を示し、図４ＣはＡＤＣ－１とＡＤＣ－２のＤＬＬ３非発現ＨＴ－２９細胞の成長への阻害結果を示し、図４ＤはＡＤＣ－１とＡＤＣ－２のＤＬＬ３非発現Ｕ－２ＯＳ細胞の成長への阻害結果を示し、図４ＥはＡＤＣ－１とＡＤＣ－２のＤＬＬ３非発現ＣＨＯ－Ｋ１細胞の成長への阻害結果を示す。

【図５】ＡＤＣ－１とＡＤＣ－２によるバイスタンダー細胞毒性効果の結果を示す。

【図６】ＡＤＣ－１とＡＤＣ－２によるマウスのＤＭＳ５３細胞皮下移植腫瘍の成長への阻害結果を示す。

【図７】ＡＤＣ－１とＡＤＣ－２によるマウスのＨ１１８４細胞皮下移植腫瘍の成長への阻害結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【００７０】

一、用語

本開示がさらに容易に理解されるように、以下、幾つかの技術・科学用語を説明する。本明細書で特に明確な定義のない限り、本明細書に使用される技術・科学用語の全ては、当業者に一般的に理解された意味と同じ意味を持っている。

【００７１】

特に逆の説明がない限り、明細書と特許請求の範囲に使用される用語は、下記の意味を有する。

【００７２】

明細書及び特許請求の範囲に用いられる単数形である「１つ」、「１種」及び「上記」は、文脈でそうではないと明記しない限り、複数の指示対象を含む。

【００７３】

文脈で特に明記のない限り、特許の明細書と特許請求の範囲において、「含有する」、「有する」、「含む」という言葉などは、排他的又は網羅的な意味ではなく、「含むが、これらに限定されない」という意味として理解すべきである。

【００７４】

「及び／又は」という用語は、「及び」と「又は」という２つの意味を含むことを指す。例えば、「Ａ、Ｂ及び／又はＣ」という語句は、Ａ、Ｂ及びＣ、Ａ、Ｂ又はＣ、Ａ又はＣ、Ａ又はＢ、Ｂ又はＣ、ＡとＣ、ＡとＢ、ＢとＣ、Ａ（単独）、Ｂ（単独）及びＣ（単独）のそれぞれをカバーしようとする。本開示において商品名が使用される場合、当該商

品名の製品の製剤、当該商品名の製品の薬剤及び活性薬物部分を含むことが意図されている。

【００７５】

本開示に用いられるアミノ酸の３文字コード及び１文字コードは、Ｊ．ｂｉｏｌ．ｃｈｅｍ、２４３、ｐ３５５８（１９６８）に記載された通りである。

【００７６】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸と合成したアミノ酸、及び天然に存在するアミノ酸と同じように作用するアミノ酸類似体とアミノ酸模倣体を指す。天然に存在するアミノ酸は、コドンによってコードされるようなアミノ酸、及び後に修飾されるようなアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、γ－カルボキシグルタミン酸及びＯ－ホスホセリンである。アミノ酸類似体は、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造（即ち、水素、カルボキシ基、アミノ基及びＲ基に結合したα炭素）を有する化合物を指し、例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムである。このような類似体は、修飾Ｒ基（例えば、ノルロイシン）又は修飾ペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持している。アミノ酸模倣体は、アミノ酸の一般的な化学構造と異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じように作用する化学化合物を指す。

【００７７】

「アミノ酸変異」という用語は、アミノ酸置換（アミノ酸置き換えとも呼ばれる）、欠失、挿入及び修飾を含む。最終構築体がＦｃ受容体への結合を低減するなどの所望の特性を有すれば、置換、欠失、挿入及び修飾の任意の組み合わせを行うことにより、最終構築体を実現することができる。アミノ酸配列の欠失及び挿入は、ポリペプチド鎖のアミノ末端及び／又はカルボキシ末端での欠失と挿入を含む。具体的なアミノ酸変異は、アミノ酸置換であってもよい。一実施形態において、アミノ酸変異は、非保存的アミノ酸置換であり、即ち、１つのアミノ酸を異なる構造及び／又は化学的特性を有する別のアミノ酸で置換する。アミノ酸置換は、天然に存在しないアミノ酸又は２０種の天然アミノ酸の誘導体（例えば、４－ヒドロキシプロリン、３－メチルヒスチジン、オルニチン、ホモセリン、５－ヒドロキシリジン）による置き換えを含む。アミノ酸変異は、この分野で公知の遺伝学的又は化学的方法により生成することができる。遺伝学的方法は、部位特異的変異導入、ＰＣＲ、遺伝子合成などを含んでもよい。遺伝子工学以外のアミノ酸側鎖基を改変する方法、例えば、化学修飾も利用可能であろうと予測される。本明細書では、様々な名称で同一のアミノ酸変異を示すことができる。本明細書では、位置＋アミノ酸残基という方式で特定の部位でのアミノ酸残基を示すことができ、例えば、３６６Ｗは、３６６部位でのアミノ酸残基がＷであることを示す。Ｔ３６６Ｗは、３６６番目の部位でのアミノ酸残基がＷで元のＴを置換したことを示す。

【００７８】

「抗体」という用語は、所望の抗原結合活性を示せば、最も広い意味で使用され、かつ種々の抗体構造をカバーしており、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、単一特異性抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、全長抗体及び抗体断片（又は抗原結合断片、又は抗原結合部分）を含むが、これらに限定されない。完全抗体は、一般的に、２つの軽鎖及び２つの重鎖を含む。Ｎ末端からＣ末端へ、それぞれの重鎖には、可変重鎖ドメイン、重鎖可変領域とも呼ばれる可変領域（ＶＨ）が１つあり、その次は３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３）である。同様に、Ｎ末端からＣ末端へ、それぞれの軽鎖には、可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＬ）が１つあり、その次は１つの定常軽鎖ドメイン（軽鎖定常領域、ＣＬ）である。

【００７９】

「全長抗体」、「完全抗体」及び「全抗体」という用語は、本明細書で入れ替えて使用されてもよく、天然抗体の構造とほぼ類似の構造を有するか又は重鎖にＦｃ領域がある抗体を指す。天然完全抗体の軽鎖は、軽鎖可変領域ＶＬ及び定常領域ＣＬを含み、ＶＬは軽鎖のアミノ末端にあり、軽鎖定常領域はκ鎖及びλ鎖を含み、重鎖は可変領域ＶＨ及び定

常領域（ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３）を含み、ＶＨは重鎖のアミノ末端にあり、定常領域はカルボキシ末端にあり、そのうち、ＣＨ３はカルボキシ末端に最も近く、重鎖は、ＩｇＧ（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４サブタイプが含まれる）、ＩｇＡ（ＩｇＡ１とＩｇＡ２サブタイプが含まれる）、ＩｇＭ及びＩｇＥを含む任意のアイソタイプに属してもよい。

【００８０】

抗体「可変領域」又は「可変ドメイン」という用語は、抗体の重鎖又は軽鎖における抗体の抗原への結合に関与するドメインである。本明細書では、抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）と軽鎖可変領域（ＶＬ）は、４つの保存的なフレームワーク領域（ＦＲ）及び３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）をそれぞれ含む。そのうち、「相補性決定領域」又は「ＣＤＲ」という用語は、可変ドメインにおける抗原との結合を主に促進する領域を指し、「フレームワーク」又は「ＦＲ」は、ＣＤＲ残基を除く可変ドメイン残基を指す。ＶＨは、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２及びＨＣＤＲ３という３つのＣＤＲ領域を含み、ＶＬは、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２及びＬＣＤＲ３という３つのＣＤＲ領域を含む。それぞれのＶＨ及びＶＬは、アミノ末端（Ｎ末端とも呼ばれる）からカルボキシ末端（Ｃ末端とも呼ばれる）へ、ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４という順に配列された３つのＣＤＲと４つのＦＲとからなる。

【００８１】

ＣＤＲのアミノ酸配列の境界は、様々な公知の方案、例えば、「Ｋａｂａｔ」番号付け規則（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９９１）、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５ｔｈ ｅｄ．、Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤを参照）、「Ｃｈｏｔｈｉａ」番号付け規則、「ＡＢＭ」番号付け規則、「ｃｏｎｔａｃｔ」番号付け規則（Ｍａｒｔｉｎ、ＡＣＲ．Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｖａｒｉａｂｌｅ Ｄｏｍａｉｎｓ［Ｊ］．２００１を参照）及びＩｍＭｕｎｏＧｅｎＴｉｃｓ（ＩＭＧＴ）番号付け規則（Ｌｅｆｒａｎｃ、Ｍ．Ｐ．ｅｔ ａｌ．、Ｄｅｖ．Ｃｏｍｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２７、５５－７７（２００３）、Ｆｒｏｎｔ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０１８ Ｏｃｔ １６、９：２２７８）などによって決定することができ、様々な番号付けシステム間の対応関係は当業者によく知られているものであり、例示的に、下記の表１に示す通りである。

【００８２】

【表１】

表１．　ＣＤＲ番号付けシステム間の関係

ＣＤＲ	ＩＭＧＴ	Ｋａｂａｔ	ＡｂＭ	Ｃｈｏｔｈｉａ	Ｃｏｎｔａｃｔ
ＨＣＤＲ１	２７－３８	３１－３５	２６－３５	２６－３２	３０－３５
ＨＣＤＲ２	５６－６５	５０－６５	５０－５８	５２－５６	４７－５８
ＨＣＤＲ３	１０５－１１７	９５－１０２	９５－１０２	９５－１０２	９３－１０１
ＬＣＤＲ１	２７－３８	２４－３４	２４－３４	２４－３４	３０－３６
ＬＣＤＲ２	５６－６５	５０－５６	５０－５６	５０－５６	４６－５５
ＬＣＤＲ３	１０５－１１７	８９－９７	８９－９７	８９－９７	８９－９６

【００８３】

特に説明のない限り、本開示における可変領域及びＣＤＲ配列は何れも、Ｋａｂａｔ番号付け規則に適用される。

【００８４】

「抗体断片」という用語は、完全抗体とは異なる分子を指し、完全抗体の結合する抗原に結合する、完全抗体の一部を含む。抗体断片の実例は、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、単一ドメイン抗体、単鎖Ｆａｂ（ｓｃＦａｂ）、二重抗体

、線形抗体、単鎖抗体分子（例えば、ｓｃＦｖ）及び抗体断片からなる多重特異性抗体を含むが、これらに限定されない。

【００８５】

「Ｆｃ領域」又は「断片結晶化可能領域」という用語は、抗体重鎖のＣ末端領域を定義するためであり、天然Ｆｃ領域及び改変されたＦｃ領域を含む。幾つかの実施形態において、Ｆｃ領域は、同一又は異なる２つのサブユニットを含む。幾つかの実施形態において、ヒトＩｇＧ重鎖のＦｃ領域は、Ｃｙｓ２２６位置でのアミノ酸残基から、又はＰｒｏ２３０からそのカルボキシ末端へ延びるように定義される。本明細書に記載の抗体に用いられる好適なＦｃ領域は、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２（ＩｇＧ２Ａ、ＩｇＧ２Ｂ）、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４のＦｃ領域を含む。幾つかの実施形態において、Ｆｃ領域の境界は変えてもよく、例えば、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（ＥＵ番号付けシステムによる残基４４７）の欠失、又はＦｃ領域のＣ末端グリシンとリジン（ＥＵ番号付けシステムによる残基４４６と４４７）の欠失である。特に説明のない限り、Ｆｃ領域の番号付け規則はＥＵ番号付けシステムであり、ＥＵインデックスとも呼ばれる。

【００８６】

「キメラ抗体」という用語は、抗体における重鎖及び／又は軽鎖の一部が特定の供給源又は種から誘導されるが、重鎖及び／又は軽鎖の残りの部分が他の異なる供給源又は種から誘導される抗体を指す。

【００８７】

「ヒト化抗体」という用語は、非ヒト抗体の反応性を維持すると共に、ヒトにおいて低い免疫原性を有する抗体である。例えば、非ヒトＣＤＲ領域を保持すると共に、そのヒト対応物（即ち、定常領域及び可変領域のフレームワーク領域部分）で抗体の残りの部分を置換することにより達成してもよい。

【００８８】

「ヒト抗体」、「ヒト化抗体」、「全ヒト抗体」、「完全ヒト抗体」という用語は入れ替えて使用されてもよく、可変領域及び定常領域がヒト配列である抗体を指す。当該用語は、ヒト遺伝子に由来するが、例えば、可能性のある免疫原性が低減され、親和性が増加され、望ましくないフォールディングを引き起こし得るシステイン又はグリコシル化部位が除去されたなどの配列を有する抗体をカバーしている。当該用語は、非ヒト細胞（ヒト細胞の特徴を有しないグリコシル化を付与し得る）において組換えて産生されるような抗体をカバーしている。当該用語は、ヒト免疫グロブリンの重鎖及び軽鎖遺伝子座を含むトランスジェニックマウスで既に飼育された抗体もカバーしている。ヒト抗体の定義には、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体が明確に除外されている。

【００８９】

「親和性」という用語は、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合リガンド（例えば、抗原）との間の非共有相互作用の全強度を指す。特に明記のない限り、本明細書に使用されるように、結合「親和性」は、内部結合親和性を指し、結合ペア（例えば、抗体と抗原）のメンバー間の相互作用を反映する。分子Ｘによるそのリガンド Ｙへの親和性は、一般的に、解離定数（ＫＤ）で示すことができる。親和性は、この分野で既知の通常の方法（本明細書に記載の方法を含む）により測定することができる。

【００９０】

本明細書に使用されるように、「ｋａｓｓｏｃ」又は「ｋａ」という用語は、特定の抗体－抗原相互作用の会合速度を指し、「ｋｄｉｓ」又は「ｋｄ」という用語は、特定の抗体－抗原相互作用の解離速度を指す。「ＫＤ」という用語は解離定数を指し、ｋｄとｋａの比率（即ち、ｋｄ／ｋａ）から得られ、かつモル濃度（Ｍ）で示される。抗体のＫＤ値は、この分野で公知の方法により測定することができる。例えば、表面プラズモン共鳴をシステムなどのバイオセンシングシステムによって測定し、又は溶液平衡滴定法（ＳＥＴ）によって溶液中の親和性を測定する。

【００９１】

「エフェクター機能」という用語は、抗体Ｆｃ領域（天然配列Ｆｃ領域又はアミノ酸配

列が変異したＦｃ領域）によるものとすることができると共に、抗体のアイソタイプによって変えられる生物学的活性を指す。抗体のエフェクター機能の例は、Ｃ１ｑ結合と補体依存性細胞毒性、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞毒性（ＡＤＣＣ）、貪食作用、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）のダウンレギュレーション及びＢ細胞の活性化を含むが、これらに限定されない。

【００９２】

「モノクローナル抗体」という用語は、基本的に均質な抗体の集団を指し、即ち、当該集団に含まれる抗体分子のアミノ酸配列は、少し存在し得る天然変異を除き、同じである。それに対して、ポリクローナル抗体製剤は、一般的に、その可変ドメインにおいて、一般的に異なるエピトープに特異的である異なるアミノ酸配列を有する複数種の異なる抗体を含む。「モノクローナル」は、任意の特定の方法により抗体を産生しなければならないと解釈すべきではない。

【００９３】

幾つかの実施形態において、本開示に提供される抗体は、モノクローナル抗体である。

【００９４】

「抗原」という用語は、例えば、抗原結合タンパク質（例えば、抗体を含む）の選択的結合剤により結合可能な分子又は分子部分を指す。抗原は、異なる抗原結合タンパク質（例えば、抗体）と相互作用することができる１つ又は複数のエピトープを有してもよい。

【００９５】

「エピトープ」という用語は、抗体又はその抗原結合断片と特異的に結合可能な抗原上の領域（ａｒｅａ又はｒｅｇｉｏｎ）を指す。エピトープは、連続的なアミノ酸列（線状エピトープ）によって形成され、又は、例えば抗原のフォールディング（即ち、三次フォールディング）により空間的に近接した非連続的なアミノ酸（配座エピトープ）を含んでもよい。配座エピトープと線状エピトープは、変性溶媒の存在下で、抗体の配座エピトープへの結合が検出できないという点で異なっている。エピトープは、独特な空間配座にある少なくとも３、少なくとも４、少なくとも５、少なくとも６、少なくとも７、又は８～１０個のアミノ酸を含む。特定のエピトープに結合する抗体（即ち、同じエピトープに結合するようなもの）のスクリーニングは、この分野における通常の方法により行うことができ、例えば、アラニンスキャンニング、ペプチドブロット、ペプチド切断解析、エピトープ切除、エピトープ抽出、抗原の化学修飾（Ｐｒｏｔ．　Ｓｃｉ．　９（２０００）４８７－４９６を参照）と交差阻害が挙げられるが、これらに限定されない。

【００９６】

「抗ＤＬＬ３抗体」及び「ＤＬＬ３に結合する抗体」という用語は、十分な親和性でＤＬＬ３又はそのエピトープに結合可能な抗体を指す。一実施形態において、抗ＤＬＬ３抗体の無関係タンパク質への結合程度は、当該抗体のＤＬＬ３への結合の少なくとも約１０％未満であり、上記結合は、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）表面プラズモン共鳴測定法により測定することができる。

【００９７】

「特異的に結合可能」、「特異的に結合」又は「結合」という用語は、他の抗原又はエピトープに比べて、抗体がより高い親和性で、ある抗原又はそのエピトープに結合できることを指す。一般的に、抗体は、約１×１０$^{-7}$　Ｍ以下（例えば、約１×１０$^{-8}$　Ｍ以下）の平衡解離定数（ＫＤ）で抗原又はそのエピトープに結合する。幾つかの実施形態において、抗体の抗原に結合するＫＤは、当該抗体の非特異的抗原（例えば、ＢＳＡ、カゼイン）に結合するＫＤの１０％以下（例えば、１％）である。ＫＤは、既知の方法により測定することができ、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）表面プラズモン共鳴測定法により測定される。しかし、抗原又はそのエピトープに特異的に結合する抗体は、他の関連抗原に交差反応性を有する可能性があり、例えば、他の種（相同）（例えば、ヒト、又はカニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ、ｃｙｎｏ）、チンパンジー（Ｐａｎ　ｔｒｏｇｌｏｄｙｔｅｓ）（ｃｈｉｍｐａｎｚｅｅ、ｃｈｉｍｐ）などのサル）又はマーモセット（Ｃａｌｌｉｔｈｒｉｘ　ｊａｃｃｈｕｓ

）（ｃｏｍｍｏｎｍａｒｍｏｓｅｔ、ｍａｒｍｏｓｅｔ）由来の対応する抗原に対して交差反応性を有する。

【００９８】

「核酸」という用語は、本明細書において「ポリヌクレオチド」という用語と入れ替えて使用されてもよく、かつ単鎖若しくは二本鎖の形態を呈するデオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチド及びそのポリマーを指す。上記用語は、既知のヌクレオチド類似体又は修飾を含む骨格残基又は連結核酸をカバーする。上記核酸は合成した、天然に存在する、及び天然に存在しないものであり、参照核酸と類似の結合特性を有すると共に、参照ヌクレオチドと同じように代謝される。このような類似体の実例は、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスフェート、キラル－メチルホスフェート、２－Ｏ－メチルリボヌクレオチド、ペプチド－核酸（ＰＮＡ）を含むが、これらに限定されない。「単離した」核酸は、その天然環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離した核酸は、下記の細胞に含まれる核酸分子を含み、上記細胞は一般的に当該核酸分子を含むが、当該核酸分子は染色体外に存在し、又はその天然染色体位置とは異なる位置に存在する。ポリペプチド又は融合タンパク質をコードする単離した核酸は、ポリペプチド又は融合タンパク質をコードする１つ以上の核酸分子を指し、単一のベクター又は別個のベクターにある１つ以上の核酸分子と、宿主細胞における１つ以上の位置に存在する１つ以上の核酸分子とを含む。特に説明のない限り、特定の核酸配列は、その保存的に修飾された変異体（例えば、縮重コドン置換）と相補配列及び明記した配列も暗黙的にカバーしている。具体的に、以下詳述するように、縮重コドン置換は、１つ又は複数の選ばれた（又は全ての）コドンの３番目が混合塩基及び／又はデオキシイノシン残基で置換された配列を産生することにより得ることができる。

【００９９】

「ポリペプチド」及び「タンパク質」という用語は、本明細書で入れ替えて使用されてもよく、アミノ酸残基のポリマーを指し、そのうち、１つ又は複数のアミノ酸残基は、対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学模倣体であるアミノ酸ポリマーに適用され、かつ天然に存在するアミノ酸ポリマー及び天然に存在しないアミノ酸ポリマーに適用される。特に説明のない限り、特定のポリペプチド配列は、その保存的に修飾された変異体をさらに暗黙的にカバーしている。

【０１００】

配列「同一性」という用語は、２つの配列のアミノ酸／核酸が等価位置で相同である程度（百分率）を指し、２つの配列に対して最適アラインメントを行う場合、最大の同一性の百分率が得られるように、必要に応じてギャップを導入し、かつ何れの保存的置換も配列同一性の一部とは見なされない。配列同一性の百分率を測定するために、アラインメントは、この分野の技術で既知の技術、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、ＡＬＩＧＮ－２又はＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアなどの公的に取得可能なコンピュータソフトウェアにより、実現することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大アラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、測定アラインメントに適用されるパラメータを決定することができる。

【０１０１】

「ベクター」という用語は、それに連結された別のポリヌクレオチドを輸送可能なポリヌクレオチド分子を指す。１種のベクターは「プラスミド」であり、付加されたＤＮＡセグメントに連結可能な環状二本鎖ＤＮＡ環を指す。もう１種のベクターはウイルスベクターであり、例えば、アデノ随伴ウイルスベクター（ＡＡＶ又はＡＡＶ２）であり、その中で、別のＤＮＡセグメントがウイルスゲノムに連結可能である。あるベクターは、それらが導入された宿主細胞において自己複製することができる（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクター及びエピソーマル哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーマル哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入された後、宿主細胞のゲノムに整合されることで、宿主ゲノムと共に複製することができる。「発現ベクター」又は「発現構築体」という用語は、宿主細胞を形質転換することができると共に、それと操作可能に連結され

た１つ又は複数の異種コード領域の発現を教示及び／又は制御する核酸配列を含有するベクターを指す。発現構築物は、転写、翻訳を影響又は制御すると共に、イントロンがある場合にそれと操作可能に連結されたコード領域のＲＮＡスプライスを影響する配列を含んでもよいが、これらに限定されない。

【０１０２】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養物」という用語は、入れ替えて使用されてもよく、かつ外因性核酸が導入された細胞を指し、このような細胞の子孫を含む。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、継代数を考慮せず、初代の形質転換された細胞及びそれより誘導された子孫を含む。子孫は、核酸内容物が親細胞と完全に同じでなくてもよく、変異を含んでもよい。本明細書では、初代形質転換細胞からスクリーニング又は選択された細胞と同じ機能又は生物学的活性を有する変異体子孫が含まれる。宿主細胞は、原核及び真核宿主細胞を含み、そのうち、真核宿主細胞は、哺乳動物細胞、昆虫細胞株の植物細胞及び真菌細胞を含むが、これらに限定されない。例示的な宿主細胞は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＮＳＯ、ＳＰ２細胞、ＨｅＬａ細胞、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）細胞、サル腎臓細胞（ＣＯＳ）、ヒト肝細胞がん細胞（例えば、ＨｅｐＧ２）、Ａ５４９細胞、３Ｔ３細胞及びＨＥＫ－２９３細胞、ピキア・パストリス（Ｐｉｃｈｉａｐａｓｔｏｒｉｓ）、ピキア・フィンランディカ（Ｐｉｃｈｉａ ｆｉｎｌａｎｄｉｃａ）、カンジダ・アルビカンス（Ｃａｎｄｉｄａ ａｌｂｉｃａｎｓ）、アスペルギルス・ニガー（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ ｎｉｇｅｒ）、アスペルギルス・オリザエ（Ａｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ ｏｒｙｚａｅ）、トリコデルマ・リーゼイ（Ｔｒｉｃｈｏｄｅｒｍａ ｒｅｅｓｅｉ）である。

【０１０３】

「抗体－薬物複合体」（ａｎｔｉｂｏｄｙ ｄｒｕｇ ｃｏｎｊｕｇａｔｅ、ＡＤＣ）は、抗体（又はその抗原結合断片）を直接又はリンカーを介して薬物に連結した複合体である。

【０１０４】

「薬物（Ｄｒｕｇ、略語：Ｄ）」は、生物活性又は検出可能活性を有する任意の物質（例えば、治療剤、検出可能標識、結合剤など）及びインビボで活性剤に代謝される任意のプロドラッグである。治療剤の実例としては、細胞毒性剤、化学療法剤、細胞成長阻害剤及び免疫調節剤が含まれる。化学療法剤は、がんの治療に使用可能な化学化合物である。代表的な治療剤は、細胞毒素、細胞毒性剤及び細胞成長阻害剤を含む。

【０１０５】

細胞毒性効果とは、標的細胞の欠失、除去及び／又は死滅である。細胞毒性薬剤は、細胞に対する細胞毒性及び／又は細胞成長阻害効果を有する薬剤を指す。細胞成長阻害効果とは、細胞増殖の阻害である。細胞成長阻害剤は、細胞に対して細胞成長阻害効果を有することにより、細胞の特定のサブグループの成長及び／又は増殖を阻害する薬剤を指す。

【０１０６】

追加の代表的な治療剤は、放射性同位体、化学療法薬、免疫調節剤、抗血管新生剤、抗増殖剤、アポトーシス促進剤及び細胞溶解酵素（例えば、ＲＮＡｓｅ）を含む。これらの薬剤の説明用語は、互いに排他的ではないので、上記用語の１つ又は複数で治療剤を説明することができる。例えば、選択される放射性同位体は、細胞毒素でもある。治療剤は、上記何れか１つの薬学的に許容される塩、酸又は誘導体として調製されてもよい。一般的に、薬剤として放射性同位体を有する複合体は放射性免疫複合体と呼ばれ、薬物として化学療法剤を有する複合体は化学免疫複合体と呼ばれる。

【０１０７】

細胞毒性剤の実例としては、アントラサイクリン、オーリスタチン、ＣＣ－１０６５、ドラスタチン（ｄｏｌａｓｔａｔｉｎ）、デュオカルマイシン、エンジイン、ゲルダナマイシン（ｇｅｌｄａｎａｍｙｃｉｎ）、メイタンシン（ｍａｙｔａｎｓｉｎｅ）、ピューロマイシン、タキサン、ビンブラスチン、ＳＮ－３８、チューブリシン（ｔｕｂｕｌｙｓｉｎ）、ｈｅｍｉａｓｔｅｒｌｉｎ、エリブリン、Ｔｒａｂｅｃｔｅｄｉｎ、Ｌｕｒｂｉ

ｎｅｃｔｅｄｉｎ及びその立体異性体、アイソスター、類似体又は誘導体を含むが、これらに限定されない。化学療法剤、植物毒素、他の生物活性タンパク質、酵素（即ち、ＡＤＥＰＴ）、放射性同位体、光増感剤（即ち、光線力学治療用）が使用されてもよい。

【０１０８】

「標識」という用語は、本明細書に使用される場合、「標識された」抗体が生成されるように抗体に直接的又は間接的に複合される検出可能な化合物又は組成物を指す。標識は、それ自体が検出可能なもの（例えば、放射性同位体標識又は蛍光標識）であってもよく、又は酵素標識の場合、標識は、基質化合物若しくは組成物の検出可能な化学変化に触媒作用を及ぼすことができる。放射性同位体標識は、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、毒素などの検出不可能な実体であってもよい。

【０１０９】

「リンカーユニット」、「リンカー」という用語は、一端が抗体に連結され、他端が薬物に連結された化学構造の断片又は結合を指し、他のリンカーに連結された上で抗体又は薬物に連結されてもよい。リンカーの抗体への結合は、例えば、表面リジン、酸化炭水化物への還元的カップリング、鎖間ジスルフィド結合の還元によって放出されたシステイン残基、特定の部位で改変された反応性システイン残基、及びアシルドナーグルタミンを含むタグ又はトランスグルタミナーゼ及びアミンの存在下でのポリペプチドの改変により反応性になる内因性グルタミンを介するといった複数種の方法で達成されてもよい。複数種のＡＤＣ連結システムは、この分野で既知のものであり、ヒドラゾン－、ジスルフィド－及びペプチド－に基づく連結を含む。

【０１１０】

リンカーは、１種又は複数種のリンカー要素を含んでもよい。例示的なリンカー要素は、６－マレイミドカプロイル（「ＭＣ」）、マレイミドプロピオニル（「ＭＰ」）、バリン－シトルリン（「ｖａｌ－ｃｉｔ」又は「ｖｃ」）、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」、本明細書では、「ＭＣＣ」とも呼ばれる）及び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」）を含む。

【０１１１】

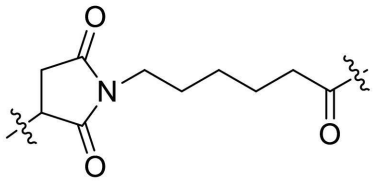
リンカーは、伸長体、スペーサー及びアミノ酸ユニットという要素又はその組み合わせから選ばれてもよい。リンカーは、例えば、ＵＳ２００５０２３８６４９Ａ１に記載されたようなこの分野で既知の方法により合成することができる。リンカーは、細胞において薬剤を放出しやすくする「切断可能リンカー」であってもよい。例えば、酸不安定性リンカー（例えば、ヒドラゾン）、プロテアーゼ感受性（例えば、ペプチダーゼ感受性）リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー、又はジスルフィド含有リンカー（Ｃｈａｒｉ ｅｔ ａｌ.、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５２：１２７－１３１（１９９２）、米国特許Ｎｏ．５、２０８、０２０）を使用してもよい。

【０１１２】

リンカー要素は、下記のものを含むが、これらに限定されない：

次のような構造を持つ、ＭＣ＝６－マレイミドカプロイル：

【化１１】



、

Ｖａｌ－Ｃｉｔ又は「ｖｃ」＝バリン－シトルリン（プロテアーゼ切断可能リンカーに

おける例示的なジペプチド）、
　シトルリン＝２－アミノ－５－ウレイドペンタン酸、
　ＰＡＢ＝ｐ－アミノベンジルオキシカルボニル（「自己犠牲」リンカー要素の例）、
　Ｍｅ－Ｖａｌ－Ｃｉｔ＝Ｎ－メチル－バリン－シトルリン（そのうち、カテプシンＢにより切断されないように、リンカーペプチド結合は修飾されている）、
　ＭＣ（ＰＥＧ）６－ＯＨ＝マレイミドカプロイル－ポリエチレングリコール（抗体システインに付着可能）、
　ＳＰＰ＝Ｎ－スクシンイミジル４－（２－ピリジルチオ）ペンタノエート、
　ＳＰＤＰ＝Ｎ－スクシンイミジル３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート、
　ＳＭＣＣ＝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、
　ＩＴ＝イミノチオラン。
【０１１３】
　「Ｌ－Ｄ」は、薬物（Ｄ）をリンカー（Ｌ）に結合して産生したリンカー－薬物部分である。
【０１１４】
　「薬物担持量」は、薬物抗体比（Ｄｒｕｇ－ｔｏ－Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｒａｔｉｏ、ＤＡＲ）とも呼ばれ、即ち、ＡＤＣ中のそれぞれの抗体にカップリングされた薬物の平均数量である。それは、例えば、それぞれの抗体が約１～約１０個の薬物にカップリングされる範囲内にあってもよく、また、ある実施例において、それぞれの抗体が約１～約８個の薬物にカップリングされる範囲内にあり、好ましくは、２～８、２～７、２～６、２～５、２～４、１～３、３～４、３～５、５～６、５～７、５～８及び６～８の範囲から選ばれる。本開示に係るＡＤＣの一般式は、上記一定の範囲内での抗体－薬物複合体の集合を含む。本開示の実施形態において、薬剤担持量はｎで表されてもよく、小数又は整数である。薬物担持量は、ＵＶ／可視分光法、質量分析、ＥＬＩＳＡ試験、ＨＩＣ及びＲＰ－ＨＰＬＣなどの通常の方法により測定することができる。
【０１１５】
　本開示の一実施形態において、薬物は、リンカーを介して抗体の反応性基（例えば、メルカプト基）にカップリングされる。
【０１１６】
　ＡＤＣの薬物担持量は、
　（１）連結試薬とモノクローナル抗体とのモル比を制御することと、
　（２）反応時間と温度を制御することと、
　（３）異なる反応試薬を選択することと、
を含む非限定的な方法により制御することができる。
【０１１７】
　「アルキル基」という用語は、飽和の直鎖又は分岐鎖付きの脂肪族炭化水素基を指し、それは、１～２０個（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の炭素原子を有する（即ち、C_{1-20}アルキル基）。上記アルキル基は、１～１２個の炭素原子を有するアルキル基（即ち、C_{1-12}アルキル基）が好ましく、１～６個の炭素原子を有するアルキル基（即ち、C_{1-6}アルキル基）がより好ましい。非限定的な実例は、メチル基、エチル基、ｎ－プロピル基、イソプロピル基、ｎ－ブチル基、イソブチル基、ｔｅｒｔ－ブチル基、ｓｅｃ－ブチル基、ｎ－ペンチル基、１，１－ジメチルプロピル基、１，２－ジメチルプロピル基、２，２－ジメチルプロピル基、１－エチルプロピル基、２－メチルブチル基、３－メチルブチル基、ｎ－ヘキシル基、１－エチル－２－メチルプロピル基、１，１，２－トリメチルプロピル基、１，１－ジメチルブチル基、１，２－ジメチルブチル基、２，２－ジメチルブチル基、１，３－ジメチルブチル基、２－エチルブチル基、２－メチルペンチル基、３－メチルペンチル基、４－メチルペンチル基、２，３－ジメチルブチル基、ｎ－ヘプチル基、２－メチルヘキシル基、３－メチルヘキシル基、４－メチルヘキシル基

、５－メチルヘキシル基、２，３－ジメチルペンチル基、２，４－ジメチルペンチル基、２，２－ジメチルペンチル基、３，３－ジメチルペンチル基、２－エチルペンチル基、３－エチルペンチル基、ｎ－オクチル基、２，３－ジメチルヘキシル基、２，４－ジメチルヘキシル基、２，５－ジメチルヘキシル基、２，２－ジメチルヘキシル基、３，３－ジメチルヘキシル基、４，４－ジメチルヘキシル基、２－エチルヘキシル基、３－エチルヘキシル基、４－エチルヘキシル基、２－メチル－２－エチルペンチル基、２－メチル－３－エチルペンチル基、ｎ－ノニル基、２－メチル－２－エチルヘキシル基、２－メチル－３－エチルヘキシル基、２，２－ジエチルペンチル基、ｎ－デシル基、３，３－ジエチルヘキシル基、２，２－ジエチルヘキシル基及びその種々の分岐鎖異性体などを含む。アルキル基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基及びヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

【０１１８】

「アルキレン基」という用語は、２価アルキル基を指し、そのうち、アルキル基は上記に定義された通りであり、それは、１～２０個（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の炭素原子を有する（即ち、C_{1-20}アルキレン基）。上記アルキレン基は、１～１２個の炭素原子を有するアルキレン基（即ち、C_{1-12}アルキレン基）が好ましく、１～６個の炭素原子を有するアルキレン基（即ち、Ｃ１－６アルキレン基）がより好ましい。非限定的な実例は、－CH_2－、－CH（CH_3）－、－C（CH_3）$_2$－、－CH_2CH_2－、－CH（CH_2CH_3）－、－CH_2CH（CH_3）－、－CH_2C（CH_3）$_2$－、－$CH_2CH_2CH_2$－、－$CH_2CH_2CH_2CH_2$－などを含む。アルキレン基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基及びヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

【０１１９】

「アルケニル基」という用語は、分子に少なくとも１つの炭素－炭素二重結合が含まれるアルキル基を指し、そのうち、アルキル基は上記に定義された通りであり、２～１２個（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１又は１２個）の炭素原子を有する（即ち、C_{2-12}アルケニル基）。上記アルケニル基は、２～６個の炭素原子を有するアルケニル基（即ち、C_{2-6}アルケニル基）が好ましい。非限定的な実例は、ビニル基、プロペニル基、イソプロペニル基、ブテニル基などを含む。アルケニル基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、アルコキシ基、ハロゲン、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基及びヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

【０１２０】

「アルキニル基」という用語は、分子に少なくとも１つの炭素－炭素三重結合が含まれるアルキル基を指し、そのうち、アルキル基は上記に定義された通りであり、２～１２個（例えば、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１又は１２個）の炭素原子を有する（即ち、C_{2-12}アルキニル基）。上記アルキニル基は、２～６個の炭素原子を有するアルキニル基（即ち、C_{2-6}アルキニル基）が好ましい。非限定的な実例は、エチニル基、プロピニル基、ブチニル基、ペンチニル基、ヘキシニル基などを含む。アルキニル

基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、アルコキシ基、ハロゲン、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基及びヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

【０１２１】

「アルコキシ基」という用語は、－Ｏ－（アルキル基）を指し、ここで、アルキル基は上記に定義された通りである。非限定的な実例は、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基及びブトキシ基を含む。アルコキシ基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基及びヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数が好ましい。

【０１２２】

「シクロアルキル基」という用語は、飽和又は部分不飽和の単環式全炭素環（即ち、単環式シクロアルキル基）又は多環系（即ち、多環式シクロアルキル基）を指し、３～２０個（例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、３～２０員シクロアルキル基）。上記シクロアルキル基は、３～１２個の環原子を有するシクロアルキル基（即ち、３～１２員シクロアルキル基）が好ましく、３～８個の環原子を有するシクロアルキル基（即ち、３～８員シクロアルキル基）がより好ましく、３～６個の環原子を有するシクロアルキル基（即ち、３～６員シクロアルキル基）が最も好ましい。

【０１２３】

上記単環式シクロアルキル基は、非限定的な実例として、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロペンテニル基、シクロヘキシル基、シクロヘキセニル基、シクロヘキサジエニル基、シクロヘプチル基、シクロヘプタトリエニル基及びシクロオクチル基などを含む。

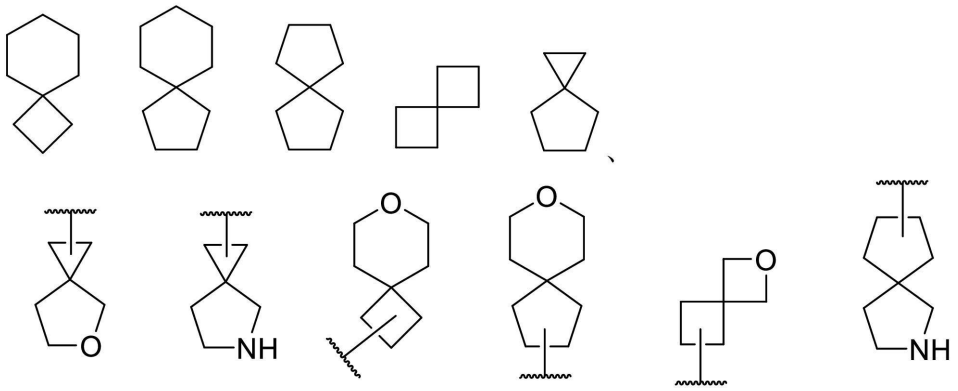
【０１２４】

上記多環式シクロアルキル基は、スピロシクロアルキル基、縮合シクロアルキル基及び架橋シクロアルキル基を含む。

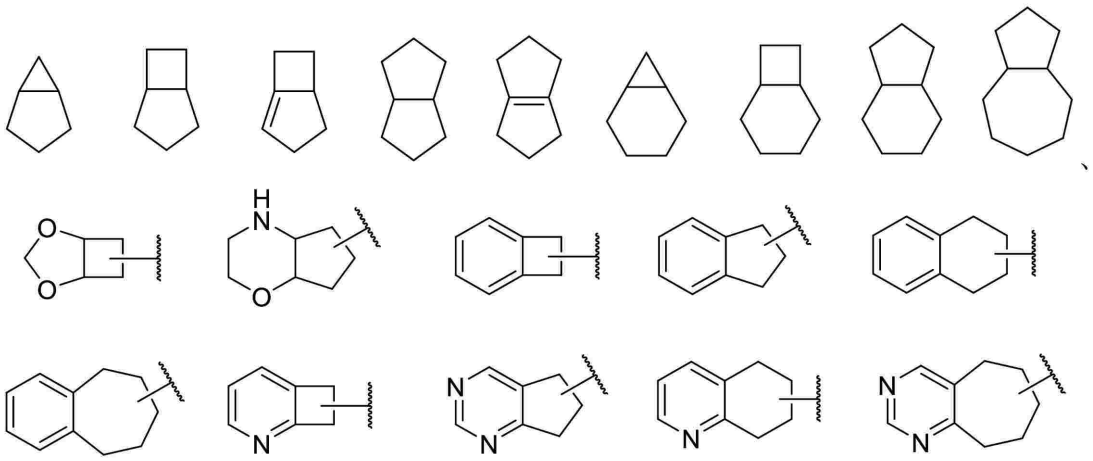
【０１２５】

「スピロシクロアルキル基」という用語は、環同士が１つの炭素原子（スピロ原子という）を共有する多環系を指し、その環内に１つ又は複数の二重結合を含んでもよく、或いはその環内に窒素、酸素及び硫黄から選ばれる１つ又は複数のヘテロ原子を含んでもよく（上記窒素は任意選択的に酸化され、即ち、窒素酸化物を形成してもよく、上記硫黄は任意選択的にオキソ基で置換され、即ち、スルホキシド又はスルホンを形成してもよいが、－Ｏ－Ｏ－、－Ｏ－Ｓ－又は－Ｓ－Ｓ－を含まない）、ただし、少なくとも１つの全炭素環が含まれ、かつ連結点が当該全炭素環にあり、それは、５～２０個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、５～２０員スピロシクロアルキル基）。上記スピロシクロアルキル基は、６～１４個の環原子を有するスピロシクロアルキル基（即ち、６～１４員スピロシクロアルキル基）が好ましく、７～１０個の環原子を有するスピロシクロアルキル基（即ち、７～１０員スピロシクロアルキル基）がより好ましい。上記スピロシクロアルキル基は、モノスピロシクロアルキル基又はポリスピロシクロアルキル基（例えば、ビススピロシクロアルキル基など）を含み、好ましくはモノスピロシクロアルキル基又はビススピロシクロアルキル基であり、より好ましくは３員／４員、３員／５員、３員／６員、４員／４員、４員／５員、４員／６員、５員／３員、５員／４員、５員／５員、５員／６員、５員／７員、６員／３員、６員／４員、６員／５員、６員／６員、６員／７員、７員

／５員又は７員／６員モノスピロシクロアルキル基である。非限定的な実例は、
連結点が何れの位置にあってもよい
【化１２】

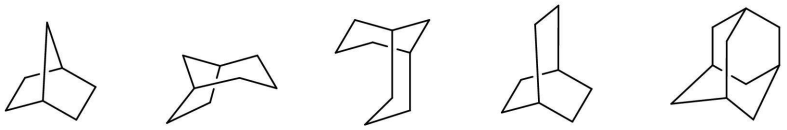


などを含む。
【０１２６】
「縮合シクロアルキル基」という用語は、環同士が隣接する２つの炭素原子を共有する多環式系を指し、それは、単環式シクロアルキル基が１つ又は複数の単環式シクロアルキル基と縮合されたもの、又は単環式シクロアルキル基がヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基のうちの１つ又は複数と縮合されたものであり、そのうち、連結点は単環式シクロアルキル基にあり、その環内に１つ又は複数の二重結合を含んでもよく、かつ５～２０個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、５～２０員縮合シクロアルキル基）。上記縮合シクロアルキル基は、６～１４個の環原子を有する縮合シクロアルキル基（即ち、６～１４員縮合シクロアルキル基）が好ましく、７～１０個の環原子を有する縮合シクロアルキル基（即ち、７～１０員縮合シクロアルキル基）がより好ましい。上記縮合シクロアルキル基は、二環式縮合シクロアルキル基及び多環式縮合シクロアルキル基（例えば、三環式縮合シクロアルキル基、四環式縮合シクロアルキル基など）を含み、好ましくは二環式縮合シクロアルキル基又は三環式縮合シクロアルキル基であり、より好ましくは、３員／４員、３員／５員、３員／６員、４員／４員、４員／５員、４員／６員、５員／３員、５員／４員、５員／５員、５員／６員、５員／７員、６員／３員、６員／４員、６員／５員、６員／６員、６員／７員、７員／５員又は７員／６員二環式縮合シクロアルキル基である。非限定的な実例は、
連結点が何れの位置にあってもよく、
【化１３】



などを含む。

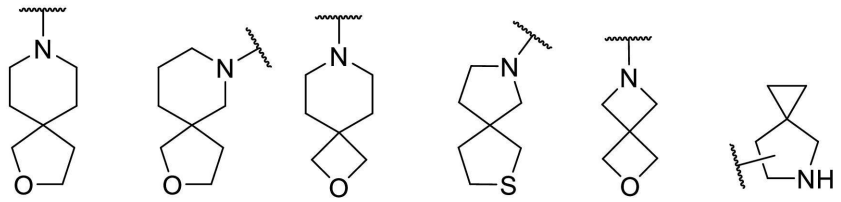
【０１２７】
「架橋シクロアルキル基」という用語は、環同士が直接連結されていない２つの炭素原子を共有する全炭素多環式環系を指し、その環内に１つ又は複数の二重結合を含んでもよく、かつ５～２０個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の炭素原子を有する（即ち、５～２０員架橋シクロアルキル基）。上記架橋シクロアルキル基は、６～１４個の炭素原子を有する架橋シクロアルキル基（即ち、６～１４員架橋シクロアルキル基）が好ましく、７～１０個の炭素原子を有する架橋シクロアルキル基（即ち、７～１０員架橋シクロアルキル基）がより好ましい。上記架橋シクロアルキル基は、二環式架橋シクロアルキル基及び多環式架橋シクロアルキル基（例えば、三環式架橋シクロアルキル基、四環式架橋シクロアルキル基など）を含み、好ましくは二環式架橋シクロアルキル基又は三環式架橋シクロアルキル基である。非限定的な実例は、
【化１４】



を含み、
その連結点が何れの位置にあってもよい。
【０１２８】
シクロアルキル基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルキル基、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、オキソ基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基とヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。
【０１２９】
「ヘテロシクリル基」という用語は、飽和又は部分不飽和の単環式複素環（即ち、単環式ヘテロシクリル基）又は多環式複素環系（即ち、多環式ヘテロシクリル基）を指し、その環内に窒素、酸素及び硫黄から選ばれる少なくとも１つ（例えば、１、２、３又は４個）のヘテロ原子を含み（上記窒素は任意選択的に酸化され、即ち、窒素酸化物を形成してもよく、上記硫黄は任意選択的にオキソ基で置換され、即ち、スルホキシド又はスルホンを形成してもよいが、－Ｏ－Ｏ－、－Ｏ－Ｓ－又は－Ｓ－Ｓ－を含まない）、かつ３～２０個（例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、３～２０員ヘテロシクリル基）。上記ヘテロシクリル基は、３～１２個の環原子を有するヘテロシクリル基（即ち、３～１２員ヘテロシクリル基）が好ましく、３～８個の環原子を有するヘテロシクリル基（即ち、３～８員ヘテロシクリル基）がより好ましく、３～６個の環原子を有するヘテロシクリル基（即ち、３～６員ヘテロシクリル基）がさらに好ましく、５又は６個の環原子を有するヘテロシクリル基（即ち、５又は６員ヘテロシクリル基）が最も好ましい。
【０１３０】
上記単環式ヘテロシクリル基は、非限定的な実例として、ピロリジニル基、テトラヒドロピラニル基、１，２，３，６－テトラヒドロピリジル基、ピペリジニル基、ピペラジニル基、モルホリニル基、チオモルホリニル基とホモピペラジニル基などを含む。
【０１３１】
上記多環式ヘテロシクリル基は、スピロヘテロシクリル基、縮合ヘテロシクリル基と架橋ヘテロシクリル基を含む。
【０１３２】
「スピロヘテロシクリル基」という用語は、環同士が１つの原子（スピロ原子という）

を共有する多環式複素環系を指し、その環内に１つ又は複数の二重結合を含んでもよく、かつその環内に窒素、酸素及び硫黄から選ばれる少なくとも１つ（例えば、１、２、３又は４個）のヘテロ原子を含み（上記窒素は任意選択的に酸化され、即ち、窒素酸化物を形成してもよく、上記硫黄は任意選択的にオキソ基で置換され、即ち、スルホキシド又はスルホンを形成してもよいが、－Ｏ－Ｏ－、－Ｏ－Ｓ－又は－Ｓ－Ｓ－を含まない）、ただし、少なくとも１つの単環式ヘテロシクリル基が含まれ、かつ連結点が当該単環式ヘテロシクリル基にあり、それは、５～２０個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、５～２０員スピロヘテロシクリル基）。上記スピロヘテロシクリル基は、６～１４個の環原子を有するスピロヘテロシクリル基（即ち、６～１４員スピロヘテロシクリル基）が好ましく、７～１０個の環原子を有するスピロヘテロシクリル基（即ち、７～１０員スピロヘテロシクリル基）がより好ましい。上記スピロヘテロシクリル基は、モノスピロヘテロシクリル基及びポリスピロヘテロシクリル基（例えば、ビススピロヘテロシクリル基など）を含み、好ましくはモノスピロヘテロシクリル基又はビススピロヘテロシクリル基であり、より好ましくは、３員／４員、３員／５員、３員／６員、４員／４員、４員／５員、４員／６員、５員／３員、５員／４員、５員／５員、５員／６員、５員／７員、６員／３員、６員／４員、６員／５員、６員／６員、６員／７員、７員／５員又は７員／６員モノスピロヘテロシクリル基である。非限定的な実例は、

【化１５】

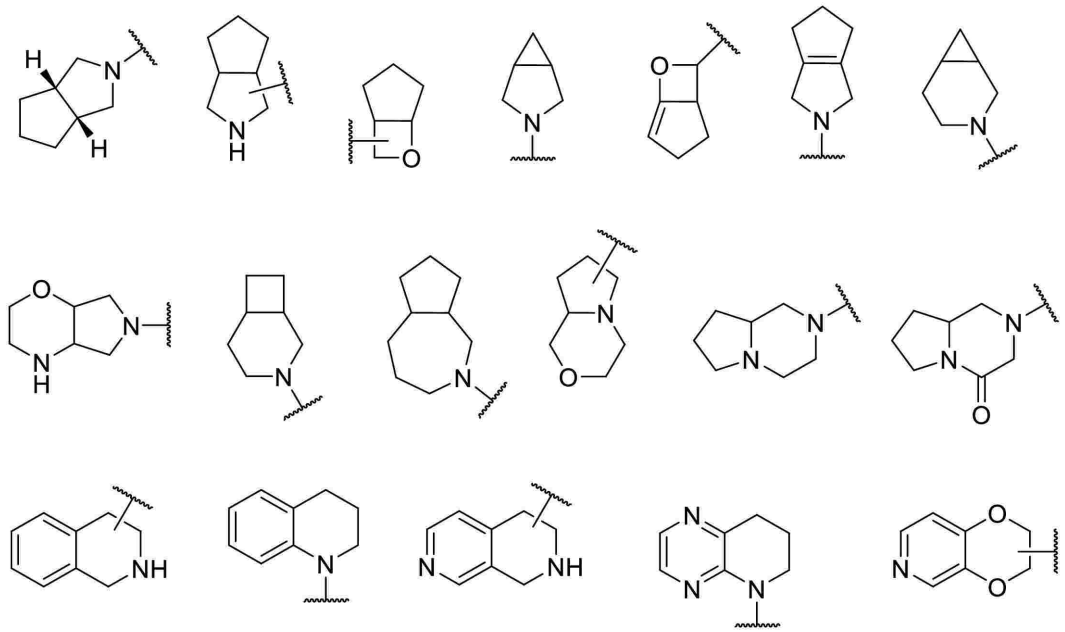


などを含む。

【０１３３】

「縮合ヘテロシクリル基」という用語は、環同士が隣接する２つの原子を共有する多環式複素環系を指し、その環内に１つ又は複数の二重結合を含んでもよく、かつその環内に窒素、酸素及び硫黄から選ばれる少なくとも１つ（例えば、１、２、３又は４個）のヘテロ原子を含み（上記窒素は任意選択的に酸化され、即ち、窒素酸化物を形成してもよく、上記硫黄は任意選択的にオキソ基で置換され、即ち、スルホキシド又はスルホンを形成してもよいが、－Ｏ－Ｏ－、－Ｏ－Ｓ－又は－Ｓ－Ｓ－を含まない）、それは、単環式ヘテロシクリル基が１つ又は複数の単環式ヘテロシクリル基と縮合されたもの、又は単環式ヘテロシクリル基がシクロアルキル基、アリール基又はヘテロアリール基のうちの１つ又は複数と縮合されたものであり、ここで、連結点は単環式ヘテロシクリル基にあり、かつ５～２０個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、５～２０員縮合ヘテロシクリル基）。上記縮合ヘテロシクリル基は、６～１４個の環原子を有する縮合ヘテロシクリル基（即ち、６～１４員縮合ヘテロシクリル基）が好ましく、７～１０個の環原子を有する縮合ヘテロシクリル基（即ち、７～１０員縮合ヘテロシクリル基）がより好ましい。上記縮合ヘテロシクリル基は、二環式及び多環式縮合ヘテロシクリル基（例えば、三環式縮合ヘテロシクリル基、四環式縮合ヘテロシクリル基など）を含み、好ましくは二環式縮合ヘテロシクリル基又は三環式縮合ヘテロシクリル基であり、より好ましくは、３員／４員、３員／５員、３員／６員、４員／４員、４員／５員、４員／６員、５員／３員、５員／４員、５員／５員、５員／６員、５員／７員、６員／３員、６員／４員、６員／５員、６員／６員、６員／７員、７員／５員又は７員／６員二環式縮合ヘテロシクリル基である。非限定的な実例は、

【化１６】

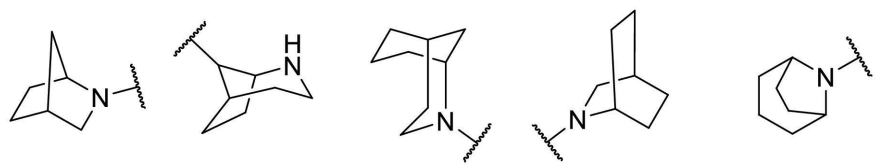


などを含む。

【０１３４】

「架橋ヘテロシクリル基」という用語は、環同士が直接連結されていない２つの原子を共有する多環式複素環系を指し、その環内に１つ又は複数の二重結合を含んでもよく、かつその環内に窒素、酸素及び硫黄から選ばれる少なくとも１つ（例えば、１、２、３又は４個）のヘテロ原子を含み（上記窒素は任意選択的に酸化され、即ち、窒素酸化物を形成してもよく、上記硫黄は任意選択的にオキソ基で置換され、即ち、スルホキシド又はスルホンを形成してもよいが、－Ｏ－Ｏ－、－Ｏ－Ｓ－又は－Ｓ－Ｓ－を含まない）、それは、５～２０個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９又は２０個）の環原子を有する（即ち、５～２０員架橋ヘテロシクリル基）。上記架橋ヘテロシクリル基は、６～１４個の環原子を有する架橋ヘテロシクリル基（即ち、６～１４員架橋ヘテロシクリル基）が好ましく、７～１０個の環原子を有する架橋ヘテロシクリル基（即ち、７～１０員架橋ヘテロシクリル基）がより好ましい。構成する環の数によって、二環式架橋ヘテロシクリル基と多環式架橋ヘテロシクリル基（例えば、三環式架橋ヘテロシクリル基、四環式架橋ヘテロシクリル基など）に分けることができ、好ましくは二環式架橋ヘテロシクリル基又は三環式架橋ヘテロシクリル基である。非限定的な実例は、

【化１７】



などを含む。

【０１３５】

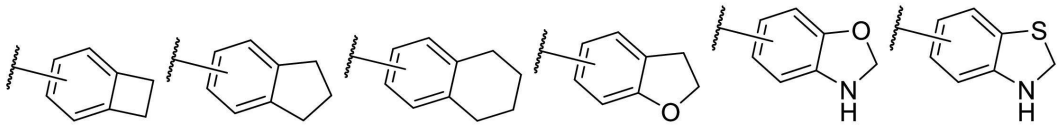
ヘテロシクリル基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルキル基、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、オキソ基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基とヘテロアリール基か

ら選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

【０１３６】

「アリール基」という用語は、共役したπ電子系を有する単環式全炭素芳香環（即ち、単環式アリール基）又は多環式芳香環系（即ち、多環式アリール基）を指し、６～１４個（例えば、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４個）の環原子を有する（即ち、６～１４員アリール基）。上記アリール基は、６～１０個の環原子を有するアリール基（即ち、６～１０員アリール基）が好ましい。上記単環式アリール基は、例えば、フェニル基である。上記多環式アリール基は、非限定的な実例として、ナフチル基、アントリル基、フェナントリル基などを含む。上記多環式アリール基は、フェニル基がヘテロシクリル基又はシクロアルキル基のうちの１つ又は複数に縮合されたもの、又はナフチル基がヘテロシクリル基又はシクロアルキル基のうちの１つ又は複数に縮合されたものをさらに含み、ここで、連結点はフェニル基又はナフチル基にあり、かつこの場合、環原子の数は、依然として多環式芳香環系中の環原子の数を示し、非限定的な実例としては、

【化１８】



などを含む。

【０１３７】

アリール基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルキル基、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、オキソ基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基とヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

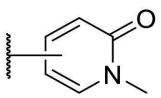
【０１３８】

「ヘテロアリール基」という用語は、共役したπ電子系を有する単環式複素芳香環（即ち、単環式ヘテロアリール基）又は多環式複素芳香環系（即ち、多環式ヘテロアリール基）を指し、その環内に窒素、酸素及び硫黄から選ばれる少なくとも１つ（例えば、１、２、３又は４個）のヘテロ原子を含み（上記窒素は任意選択的に酸化され、即ち、窒素酸化物を形成してもよく、上記硫黄は任意選択的にオキソ基で置換され、即ち、スルホキシド又はスルホンを形成してもよいが、－Ｏ－Ｏ－、－Ｏ－Ｓ－又は－Ｓ－Ｓ－を含まない）、それは、５～１４個（例えば、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３又は１４個）の環原子を有する（即ち、５～１４員ヘテロアリール基）。上記ヘテロアリール基は、５～１０個の環原子を有するヘテロアリール基（即ち、５～１０員ヘテロアリール基）が好ましく、５又は６個の環原子を有するヘテロアリール基（即ち、５又は６員ヘテロアリール基）がより好ましい。

【０１３９】

上記単環式ヘテロアリール基は、非限定的な実例として、フラニル基、チエニル基、チアゾリル基、イソチアゾリル基、オキサゾリル基、イソオキサゾリル基、オキサジアゾリル基、チアジアゾリル基、イミダゾリル基、ピラゾリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基、フラザニル基、ピロリル基、Ｎ－アルキルピロリル基、ピリジル基、ピリミジニル基、ピリドニル基、Ｎ－アルキルピリドン基（例えば、

【化１９】

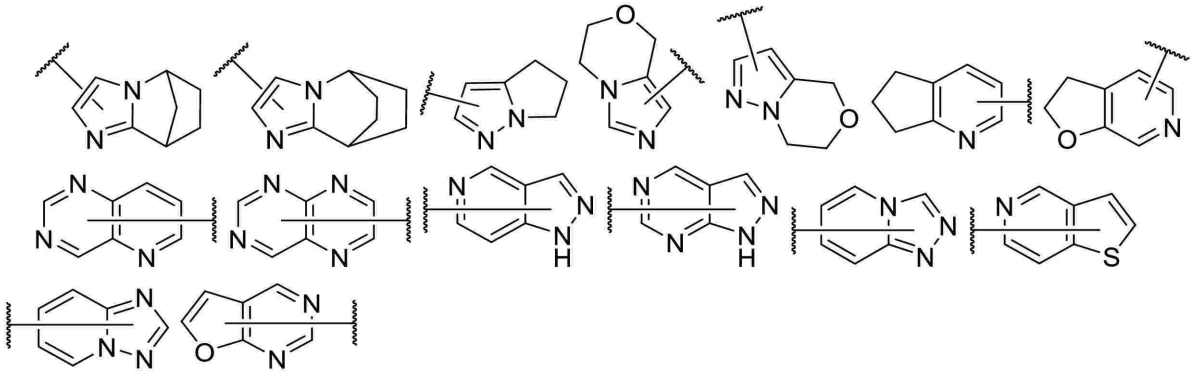


など）、ピラジニル基、ピリダジニル基などを含む。

【０１４０】

上記多環式ヘテロアリール基は、非限定的な実例として、インドリル基、インダゾリル基、キノリル基、イソキノリル基、キノキサリル基、フタラジニル基、ベンゾイミダゾリル基、ベンゾチエニル基、キナゾリニル基、ベンゾチアゾリル基、カルバゾリル基などを含む。上記多環式ヘテロアリール基は、単環式ヘテロアリール基が１つ又は複数のアリール基に縮合されたものをさらに含み、ここで、連結点は芳香環にあり、かつこの場合、環原子の数は、依然として多環式複素芳香環系中の環原子の数を示す。上記多環式ヘテロアリール基は、単環式ヘテロアリール基がシクロアルキル基又はヘテロシクリル基のうちの１つ又は複数に縮合されたものをさらに含み、ここで、連結点は単環式複素芳香環にあり、かつこの場合、環原子の数は、依然として多環式複素芳香環系中の環原子の数を示す。非限定的な実例は、

【化２０】



などを含む。

【０１４１】

ヘテロアリール基は置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合、それは、任意の利用可能な連結点で置換されてもよく、置換基は、Ｄ原子、ハロゲン、アルキル基、アルコキシ基、ハロアルキル基、ハロアルコキシ基、シクロアルキルオキシ基、ヘテロシクリルオキシ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシアルキル基、シアノ基、アミノ基、ニトロ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基とヘテロアリール基から選ばれる１つ又は複数であることが好ましい。

【０１４２】

「アミノ保護基」という用語は、分子の他の部位が反応する時に、アミノ基が変化されないように、アミノ基に導入される脱離され易い基を指す。非限定的な実例は、（トリメチルシリル）エトキシメチル基、テトラヒドロピラニル基、ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル基（Ｂｏｃ）、ベンジルオキシカルボニル基（Ｃｂｚ）、フルオレニルメチルオキシカルボニル基（Ｆｍｏｃ）、アリルオキシカルボニル基（Ａｌｌｏｃ）、トリメチルシリルエトキシカルボニル基（Ｔｅｏｃ）、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、フタロイル基（Ｐｈｔ）、ｐ－トルエンスルホニル基（Ｔｏｓ）、トリフルオロアセチル基（Ｔｆａ）、トリチル基（Ｔｒｔ）、２，４－ジメトキシベンジル（ＤＭＢ）、アセチル基、ベンジル基、アリル基、ｐ－メトキシベンジル基などを含む。

【０１４３】

「ヒドロキシ保護基」という用語は、ヒドロキシ基に導入される脱離され易い基を指し、ヒドロキシ基を遮断又は保護するために、化合物の他の官能基において反応を行う。非限定的な実例は、トリメチルシリル基（ＴＭＳ）、トリエチルシリル基（ＴＥＳ）、トリイソプロピルシリル基（ＴＩＰＳ）、ｔｅｒｔ－ブチルジメチルシリル基（ＴＢＳ）、ｔｅｒｔ－ブチルジフェニルシリル基（ＴＢＤＰＳ）、メチル基、ｔｅｒｔ－ブチル基、アリル基、ベンジル基、メトキシメチル基（ＭＯＭ）、エトキシエチル基、２－テトラヒドロピラニル基（ＴＨＰ）、ホルミル基、アセチル基、ベンゾイル基、ｐ－ニトロベンゾイ

ル基などを含む。
【０１４４】
「シクロアルキルオキシ基」という用語は、シクロアルキル－Ｏ－を指し、ここで、シクロアルキル基は上記に定義された通りである。
【０１４５】
「ヘテロシクリルオキシ基」という用語は、ヘテロシクリル－Ｏ－を指し、ここで、ヘテロシクリル基は上記に定義された通りである。
【０１４６】
「アリールオキシ基」という用語は、アリール－Ｏ－を指し、ここで、アリール基は上記に定義された通りである。
【０１４７】
「ヘテロアリールオキシ基」という用語は、ヘテロアリール－Ｏ－を指し、ここで、ヘテロアリール基は上記に定義された通りである。
【０１４８】
「アルキルチオ基」という用語は、アルキル－Ｓ－を指し、ここで、アルキル基は上記に定義された通りである。
【０１４９】
「ハロアルキル基」という用語は、アルキル基が１つ又は複数のハロゲンで置換されたものを指し、ここで、アルキル基は上記に定義された通りである。
【０１５０】
「ハロアルコキシ基」という用語は、アルコキシ基が１つ又は複数のハロゲンで置換されたものを指し、ここで、アルコキシ基は上記に定義された通りである。
【０１５１】
「重水素化アルキル基」という用語は、アルキル基が１つ又は複数の重水素原子で置換されたものを指し、ここで、アルキル基は上記に定義された通りである。
【０１５２】
「ヒドロキシアルキル基」という用語は、アルキル基が１つ又は複数のヒドロキシ基で置換されたものを指し、ここで、アルキル基は上記に定義された通りである。
【０１５３】
「メチレン基」という用語は、＝ＣＨ$_2$を指す。
【０１５４】
「ハロゲン」という用語は、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素を指す。
【０１５５】
「ヒドロキシ基」という用語は、－ＯＨを指す。
【０１５６】
「メルカプト基」という用語は、－ＳＨを指す。
【０１５７】
「アミノ基」という用語は、－ＮＨ$_2$を指す。
【０１５８】
「シアノ基」という用語は、－ＣＮを指す。
【０１５９】
「ニトロ基」という用語は、－ＮＯ$_2$を指す。
【０１６０】
「オキソ」又は「オキソ基」という用語は、「＝Ｏ」を指す。
【０１６１】
「カルボニル基」という用語は、Ｃ＝Ｏを指す。
【０１６２】
「カルボキシ基」という用語は、－Ｃ（Ｏ）ＯＨを指す。
【０１６３】
「カルボン酸エステル基」という用語は、－Ｃ（Ｏ）Ｏ（アルキル基）、－Ｃ（Ｏ）Ｏ

（シクロアルキル基）、（アルキル基）Ｃ（Ｏ）Ｏ－又は（シクロアルキル基）Ｃ（Ｏ）Ｏ－を指し、ここで、アルキル基及びシクロアルキル基は上記に定義された通りである。

【０１６４】

化学式における「Ｍｅ」という略称は、メチル基である。

【０１６５】

化学式における「Ｐｈ」という略称は、フェニル基である。

【０１６６】

「ＴＨＦ」という用語は、テトラヒドロフランを指す。

【０１６７】

「ＥｔＯＡｃ」という用語は、酢酸エチルを指す。

【０１６８】

「ＭｅＯＨ」という用語は、メタノールを指す。

【０１６９】

「ＤＭＦ」という用語は、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミドを指す。

【０１７０】

「ＤＩＰＥＡ」という用語は、ジイソプロピルエチルアミンを指す。

【０１７１】

「ＴＦＡ」という用語は、トリフルオロ酢酸を指す。

【０１７２】

「ＭｅＣＮ」という用語は、アセトニトリルを指す。

【０１７３】

「ＤＭＡ」という用語は、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミドを指す。

【０１７４】

「Et_2O」という用語は、ジエチルエーテルを指す。

【０１７５】

「ＤＣＥ」という用語は、１，２－ジクロロエタンを指す。

【０１７６】

「ＤＩＰＥＡ」という用語は、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンを指す。

【０１７７】

「ＮＢＳ」という用語は、Ｎ－ブロモスクシンイミドを指す。

【０１７８】

「ＮＩＳ」という用語は、Ｎ－ヨードスクシンイミドを意味する。

【０１７９】

「Ｃｂｚ－Ｃｌ」という用語は、クロロギ酸ベンジルを指す。

【０１８０】

「Pd_2（ｄｂａ）$_3$」という用語は、トリス（ジベンジリデンアセトン）ジパラジウムを指す。

【０１８１】

「Ｄｐｐｆ」という用語は、１，１’－ビスジフェニルホスフィノフェロセンを指す。

【０１８２】

「ＨＡＴＵ」という用語は、２－（７－ベンゾトリアゾールオキシド）－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ァートを指す。

【０１８３】

「ＫＨＭＤＳ」という用語は、カリウムヘキサメチルジシラジドを指す。

【０１８４】

「ＬｉＨＭＤＳ」という用語は、リチウムビス（トリメチルシリル）アミドを指す。

【０１８５】

「ＭｅＬｉ」という用語は、リチウムメチドを指す。

【０１８６】

「ｎ－ＢｕＬｉ」という用語は、ｎ－ブチルリチウムを指す。

【０１８７】
「ＮａＢＨ（ＯＡｃ）$_3$」という用語は、トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウムを指す。
【０１８８】
「ＤＣＭ」という用語は、ジクロロメタンを指す。
【０１８９】
「ＤＭＡＰ」という用語は、４－ジメチルアミノピリジンを指す。
【０１９０】
「ＤＭＢＯＨ」という用語は、２，４－ジメトキシベンジルアルコールを指す。
【０１９１】
「ＥＤＣＩ」という用語は、１－（３－ジメチルアミノプロピル）－３－エチルカルボジイミドを指す。
【０１９２】
「ＭＴＢＥ」という用語は、メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテルである。
【０１９３】
「ＤＭＦ」という用語は、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミドを指す。
【０１９４】
「ＤＭＴＭＭ」という用語は、４－（４，６－ジメトキシトリアジン－２－イル）－４－メチルモルホリン塩酸塩を指す。
【０１９５】
「ＥｔＯＡｃ」という用語は、酢酸エチルを指す。
【０１９６】
本開示に係る化合物は、特定の立体異性体の形態があってもよい。「立体異性体」という用語は、構造が同じであるが、原子の空間的配列が異なる異性体を指す。それは、シスとトランス（又はＺとＥ）異性体、（－）－と（＋）－異性体、（Ｒ）－と（Ｓ）－エナンチオマー、ジアステレオマー、（Ｄ）－と（Ｌ）－異性体、互変異性体、アトロプ異性体、配座異性体及びその混合物（例えば、ラセミ体、ジアステレオマーの混合物）を含む。本開示に係る化合物における置換基は、他の不斉原子があってもよい。このような立体異性体及びそれらの混合物は、何れも本開示の範囲に含まれる。キラル合成、キラル試薬又は他の通常の技術により、光学活性の（－）－と（＋）－異性体、（Ｒ）－と（Ｓ）－エナンチオマー及び（Ｄ）－と（Ｌ）－異性体を調製することができる。本開示のある化合物の１つの異性体は、不斉合成又はキラル助剤により調製することができ、或いは、分子に塩基性官能基（例えば、アミノ基）又は酸性官能基（例えば、カルボキシ基）が含まれる場合に、適当な光学活性の酸又は塩基と共にジアステレオマーの塩を形成し、そしてこの分野における公知の通常の方法によりジアステレオマー分割を行い、異性体の純品を得る。さらに、エナンチオマーとジアステレオマーの分離は、一般的にクロマトグラフィーにより完成される。
【０１９７】
本開示に記載される化合物の化学構造において、
【化２１】

という結合は配置が指定されていないことを示し、即ち、化学構造にキラル異性体が存在する場合、
【化２２】

という結合は

【化２３】

「」

又は

【化２４】

「」

であってもよく、或いは

【化２５】

「」

及び

【化２６】

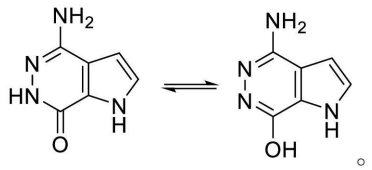
「」

という２種類の配置を同時に含んでもよい。

【０１９８】

本開示に係る化合物は、異なる互変異性体形態で存在してもよく、そしてこのような形態の全ては本開示の範囲内に含まれる。「互変異性体」又は「互変異性体形態」という用語は、平衡に存在すると共に、異性体形態が容易に一方から他方に変換される構造異性体を指す。それは、あらゆる可能な互変異性体を含み、即ち、単一異性体の形態又は上記互変異性体の任意の比率である混合物の形態で存在する。非限定的な実例は、ケト－エノール、イミン－エナミン、ラクタム－ラクチムなどを含む。ラクタム－ラクチムの平衡は、以下の通りである：

【化２７】

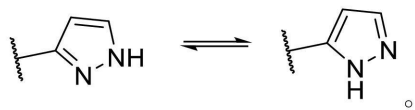


。

【０１９９】

例えば、ピラゾリル基に言及する場合は、以下の２種の構造のうちの何れか１種又は２種の互変異性体の混合物を含むと理解すべきである：

【化２８】



。

【０２００】

全ての互変異性体形態は本開示の範囲にあり、かつ化合物の命名は、何れの互変異性体も排除しない。

【０２０１】

本開示に係る化合物は、その化合物の全ての好適な同位体誘導体を含む。「同位体誘導体」という用語は、少なくとも１つの原子が、同じ原子番号を持つが原子質量が異なる原子で置換された化合物を指す。本開示に係る化合物に導入可能な同位体の実例は、水素、

炭素、窒素、酸素、リン、硫黄、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素などの安定と放射性の同位体を含み、例えば、それぞれ^{2}Ｈ（重水素、Ｄ）、^{3}Ｈ（三重水素、Ｔ）、^{11}Ｃ、^{13}Ｃ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{17}Ｏ、^{18}Ｏ、^{32}ｐ、^{33}ｐ、^{33}Ｓ、^{34}Ｓ、^{35}Ｓ、^{36}Ｓ、^{18}Ｆ、^{36}Ｃｌ、^{82}Ｂｒ、^{123}Ｉ、^{124}Ｉ、^{125}Ｉ、^{129}Ｉ及び^{131}Ｉなどであり、重水素が好ましい。

【０２０２】

重水素化されていない薬剤と比べて、重水素化薬剤は、毒性と副作用を減らし、薬剤の安定性を高め、治療効果を向上させ、薬剤の生物学的半減期を延長するといった利点を有する。本開示に係る化合物の全ての同位体組成の変換は、放射性の有無を問わず、本開示の範囲内に含まれる。炭素原子に連結される各利用可能な水素原子は、独立的に重水素原子で置換可能であり、ここで、重水素の置換は部分的又は完全であってもよく、部分的な重水素置換は、少なくとも１つの水素が少なくとも１つの重水素で置換されることを意味する。

【０２０３】

１つの位置が特に「重水素」又は「Ｄ」と指定される場合、当該位置は、重水素の存在度が重水素の天然存在度（０．０１５％である）よりも少なくとも１０００倍高い（即ち、少なくとも１５％の重水素が組み込まれた）と理解すべきである。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも１０００倍高い（即ち、少なくとも１５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも２０００倍高い（即ち、少なくとも３０％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも３０００倍高い（即ち、少なくとも４５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも３３４０倍高い（即ち、少なくとも５０．１％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも３５００倍高い（即ち、少なくとも５２．５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも４０００倍高い（即ち、少なくとも６０％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも４５００倍高い（即ち、少なくとも６７．５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも５０００倍高い（即ち、少なくとも７５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも５５００倍高い（即ち、少なくとも８２．５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも６０００倍高い（即ち、少なくとも９０％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも６３３３．３倍高い（即ち、少なくとも９５％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも６４６６．７倍高い（即ち、少なくとも９７％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも６６００倍高い（即ち、少なくとも９９％の重水素が組み込まれた）。幾つかの実施形態において、それぞれの指定された重水素原子は、重水素の存在度が重水素の天然存在度よりも少なくとも６６３３．３倍高い（即ち、少なくとも９９．５％の重水素が組み込まれた）。

【０２０４】

「置換」又は「置換される」とは、基における１つ又は複数の水素原子、好ましくは１

～６個、より好ましくは１～３個の水素原子が互いに独立的に対応する数の置換基で置換されることを指す。当業者は、それほど努力をせずに（実験又は理論で）可能又は不可能な置換を決定することができる。例えば、遊離水素を有するアミノ基又はヒドロキシ基は、不飽和結合を有する炭素原子（例えば、オレフィン）に結合される場合に、不安定になり得る。

【０２０５】

本開示は、様々な重水素化形態の式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）又は（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）の抗体－薬物複合体をさらに含む。炭素原子に連結される各利用可能な水素原子は、独立的に重水素原子で置換されてもよい。当業者は、関連文献を参照して重水素化形態の式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）又は（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）の抗体－薬物複合体を合成することができる。重水素化形態の式（Ｐｃ－Ｌ－Ｄａ）又は（Ｐｃ－Ｌ－Ｄ）の抗体－薬物複合体は、調製する場合、市販の重水素化出発物質を使用してもよく、又は、通常の技術により重水素化試薬で合成してもよく、重水素化試薬は、重水素化ボラン、三重水素化ボランテトラヒドロフラン溶液、重水素化水素化アルミニウムリチウム、重水素化ヨードエタン及び重水素化ヨードメタンなどを含むが、これらに限定されない。

【０２０６】

「任意選択的に」又は「任意に」とは、その次に記載される事象又は状況が生じてもよいが、生じなくてもよいことを意味し、当該事象又は状況が生じる場合と生じない場合という２つが含まれる。例えば、「任意選択的に（任意に）ハロゲン又はシアノ基で置換されたアルキル基」は、アルキル基がハロゲン又はシアノ基で置換された場合と、アルキル基がハロゲンとシアノ基で置換されていない場合とを含む。

【０２０７】

「医薬組成物」という用語は、１種又は複数種の本明細書に記載される化合物又はその生理学的に／薬学的に許容される塩又はプロドラッグと他の化学成分の混合物と、生理学的に／薬学的に許容されるベクター及び賦形剤などの他の成分とを含むものを示す。医薬組成物は、生体への投与を促進し、活性成分の吸収に寄与してさらに生物活性を発揮するためのものである。

【０２０８】

医薬組成物は、滅菌注射用水溶液の形態であってもよい。許容可能な溶媒と溶剤には、水、リンゲル液及び等張塩化ナトリウム溶液があってもよい。滅菌注射用製剤は、その中の活性成分が油相に溶解された滅菌注射水中油型マイクロエマルジョンであってもよい。例えば、活性成分を大豆油とレシチンとの混合物に溶解する。次に、油溶液を水とグリセリンとの混合物に加え、処理してマイクロエマルジョンを形成する。局所で大量に注射することにより、注射液又はマイクロエマルジョンを対象の血流に注入することができる。又は、本開示に係る化合物の一定のサイクル濃度を維持可能な方法により、溶液及びマイクロエマルジョンを投与する。このような一定の濃度を維持するために、連続静脈内投与装置を使用することができる。このような装置の例は、Ｄｅｌｔｅｃ　ＣＡＤＤ－ＰＬＵＳ．　ＴＭ．　５４００型の静脈注射ポンプである。

【０２０９】

医薬組成物は、筋肉内及び皮下投与に使用される滅菌注射水又は油懸濁液の形態であってもよい。当該懸濁液は、既知の技術に従って、上記のような適切な分散剤又は湿潤剤及び懸濁剤を用いて調製することができる。滅菌注射用製剤は、無毒の胃腸外に許容可能な希釈剤又は溶媒において調製された滅菌注射溶液又は懸濁液、例えば、１，３－ブタンジオールにおいて調製された溶液であってもよい。また、滅菌固定油を溶媒又は懸濁媒体として便利に用いることができる。このために、合成されたモノグリセリド又はジグリセリドを含む任意の配合用固定油を用いることができる。また、油酸などの脂肪酸も、注射剤を調製することができる。

【０２１０】

「薬学的に許容される塩」又は「薬用可能な塩」という用語は、本開示に係る抗体又は抗体－薬物複合体の塩を指し、このような塩は、対象に用いられる場合、安全性及び有効

性を有すると共に、所望の生物活性を有する。一例として、本開示に係る抗体又は抗体－薬物複合体は、少なくとも１つのアミノ基を含むため、酸と共に塩を形成することができ、薬用可能な塩の非限定的な例は、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、硫酸水素塩、クエン酸塩、酢酸塩、コハク酸塩、アスコルビン酸塩、シュウ酸塩、硝酸塩、ソルビン酸塩、リン酸水素塩、リン酸二水素塩、サリチル酸塩、クエン酸水素塩、酒石酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、メシル酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩を含む。

【０２１１】

「薬学的に許容されるベクター」という用語は、薬学的配合剤において活性成分とは異なり、対象に無毒な成分を指す。薬学的に許容されるベクターは、緩衝剤、安定剤又は防腐剤を含むが、これらに限定されない。

【０２１２】

「賦形剤」という用語は、医薬製剤における活性成分以外の付加物であり、添加物と呼ばれてもよい。例えば、錠剤中の結合剤、充填剤、崩壊剤、潤滑剤、半固体製剤である軟膏剤やクリーム剤中の基質部分、液体製剤中の防腐剤、酸化防止剤、矯味剤、芳香剤、共溶媒、乳化剤、可溶化剤、浸透圧調整剤、着色剤などは何れも、賦形剤と呼ばれてもよい。

【０２１３】

「希釈剤」という用語は充填剤とも呼ばれ、錠剤の重量及び体積を増加させることがその主な使用である。希釈剤の加入により、一定の体積の大きさが確保されるだけでなく、主成分の用量偏差が低減され、薬剤の圧縮成形性などが改善される。錠剤の薬剤に油性成分が含まれる場合、「乾燥」状態を維持して錠剤への調製に寄与するために、吸収剤を加えて油性物質を吸収する必要がある。例えば、澱粉、乳糖、カルシウムの無機塩、微結晶セルロースなどである。

【０２１４】

「対象」又は「個体」という用語は、ヒト及び非ヒト動物を含む。非ヒト動物は、全ての脊椎動物（例えば、哺乳動物及び非哺乳動物）、例えば、非ヒト霊長類（例えば、カニクイザル）、ヒツジ、イヌ、ウシ、トリ、両生類及び爬虫類動物を含む。指摘のない限り、「患者」又は「対象」という上記用語は、本明細書において入れ替えて使用されてもよい。本明細書に使用されるように、「カニクイザル（ｃｙｎｏ）」又は「カニクイザル（ｃｙｎｏｍｏｌｇｕｓ）」という用語は、カニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）を指す。ある実施形態において、個体又は対象はヒトである。

【０２１５】

「投与」又は「与える」は、動物、ヒト、実験の対象、細胞、組織、臓器や生物流体に適用される場合に、外因性薬剤、治療剤、診断薬又は組成物と動物、ヒト、対象、細胞、組織、臓器や生物流体との接触を意味する。

【０２１６】

「試料」という用語は、対象から単離された流体、細胞又は組織の採取物及び対象の体内にある流体、細胞又は組織を指す。例示的な試料は生物流体であり、例えば、血液、血清と漿膜液、血漿、リンパ液、尿液、唾液、嚢胞液、涙液、排せつ物、痰、分泌組織と臓器の粘膜分泌物、膣分泌物、腹水、胸膜、心膜、腹膜、腹腔と他の体腔の流体、気管支洗浄液から収集された流体、滑液、対象若しくは生体源に接触した液体溶液、例えば、細胞と臓器培地（細胞又は臓器馴化培地が含まれる）、洗浄液など、組織生検試料、細針吸引組織、手術で切除した組織、臓器培養物又は細胞培養物である。

【０２１７】

「治療（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ又はｔｒｅａｔ）」及び「処理」（とその文法的変形）は、治療される個体の病理過程の変更を図る臨床的介入を指し、かつ予防のために、又は臨床病理学的過程において実施することができる。治療の所望の効果は、疾患の発生又は再発の予防、症状の軽減、疾患の任意の直接的又は間接的な病理学的結果の軽減／減少、転移の予防、疾患進行速度の低下、疾患状態の改善又は軽減及び予後の退縮又は改善を含む

が、これらに限定されない。幾つかの実施形態において、本開示の抗体を使用することで、疾患の形成を遅延させるか、又は疾患の進行を遅延させる。

【０２１８】

「有効量」は、一般的に、症状の重症度及び／又は頻度の低減、これらの症状及び／又は潜在的な病因の除去、症状及び／又はその潜在的な病因の出現の予防、及び／又は疾患状態による若しくはそれに関連する損傷の改良又は改善に十分な量である。幾つかの実施形態において、有効量は、治療有効量又は予防有効量である。「治療有効量」は、疾患の状態若しくは症状、特に当該疾患の状態に関連する状態若しくは症状の治療、又は他の方式による当該疾患の状態若しくは当該疾患に関連する任意の他の望ましくない症状の進行の予防、阻害、遅延若しくは逆転に十分な量である。「予防有効量」は、対象に与えると、当該疾患状態の発症（又は再発）の予防若しくは遅延、又は当該疾患状態若しくは関連症状の発症（又は再発）可能性の低減などの所定の予防効果が付与される量である。完全治療又は予防効果は必ずしも１つの用量が与えられると生じるわけではなく、一連の用量が与えられた後に生じる可能性がある。従って、治療又は予防有効量は、１回又は複数回与える方式で投与することができる。「治療有効量」及び「予防有効量」は、例えば、個体の疾患状態、年齢、性別と体重及び治療剤又は治療剤の組み合わせが個体において所望の応答を引き起こす能力のような様々な要因によって変化することができる。有効治療剤又は治療剤の組み合わせの例示的な指標は、例えば、患者の改善された健康状態を含む。

【０２１９】

二、具体的な実施形態の説明

Ａ．　例示的な抗ＤＬＬ３の抗体

一態様において、本開示は、ＤＬＬ３に結合する抗体を提供する。一態様において、ＤＬＬ３に結合する単離した抗体を提供する。一態様において、本開示は、ＤＬＬ３に特異的に結合する抗体を提供する。

【０２２０】

ある実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、下記特性の中の少なくとも１つを有する：

ａ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ヒトＤＬＬ３又はそのエピトープに結合するＫＤ値≦３ｎＭ、≦２　ｎＭ、≦１　ｎＭ、≦０．９　ｎＭ、≦０．８　ｎＭ、≦０．７　ｎＭ、≦０．６　ｎＭ、≦０．５　ｎＭ、≦０．４　ｎＭであり、上記ＫＤ値がＢｉａｃｏｒｅにより測定されること、

ｂ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３を発現するＨ１１８４細胞に結合するＥＣ５０≦３　ｎＭ、ＥＣ５０≦２　ｎＭ、ＥＣ５０≦１　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．５　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．２　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．１　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０９　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０８　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０７　ｎＭ、ＥＣ５０≦０．０６　ｎＭであり、上記ＥＣ５０がＦＡＣＳにより検出されること、

ｃ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３を発現する細胞によりエンドサイトーシス可能であること、

ｄ）上記抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３又はそのエピトープに結合するＥＣ５０≦０．１ｎＭ（≦０．０９　ｎＭ、≦０．０８　ｎＭ、≦０．０７　ｎＭ、≦０．０６　ｎＭ、≦０．０５　ｎＭ、≦０．０４　ｎＭ）であり、上記ＥＣ５０がＥＬＩＳＡにより測定されること、及び

ｅ）上記抗ＤＬＬ３抗体と陽性抗体（例えば、ＢＩ－７６４５３２）は、異なるＤＬＬ３エピトープを認識すること。

【０２２１】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、以下から選ばれる群を含む：

（ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、（ｉｉ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、（ｉｉｉ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、（ｉｖ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、（ｖ）配列番号２６のアミノ酸配

列を含むＬＣＤＲ２、及び（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３であって、そのうち、配列番号５７はＰＬＹX_1ＹＧＲＳＹＮX_2ＶＡＹで示され、そのうち、X_1はＹ若しくはＨであり、X_2はＡ若しくはＧであること、又は
（ｉ）配列番号１６のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、（ｉｉ）配列番号１７のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、（ｉｉｉ）配列番号１８のアミノ酸配列ＨＣＤＲ３、（ｉｖ）配列番号１９のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、（ｖ）配列番号２０のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、（ｖｉ）配列番号２１のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３。

【０２２２】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、以下から選ばれる群を含む：
（ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、（ｉｉ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、（ｉｉｉ）配列番号２４のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、（ｉｖ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、（ｖ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、及び（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３、又は
（ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、（ｉｉ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、（ｉｉｉ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、（ｉｖ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、（ｖ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、及び（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３、又は
（ｉ）配列番号２２のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ１、（ｉｉ）配列番号２３のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ２、（ｉｉｉ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＣＤＲ３、（ｉｖ）配列番号２５のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ１、（ｖ）配列番号２６のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ２、及び（ｖｉ）配列番号２７のアミノ酸配列を含むＬＣＤＲ３。

【０２２３】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、配列番号１４の重鎖可変領域中のＨＣＤＲｓ及び配列番号１５の軽鎖可変領域中のＬＣＤＲｓを含み、又は
それは、配列番号１２の重鎖可変領域のＨＣＤＲｓ及び配列番号１３の軽鎖可変領域のＬＣＤＲｓを含み、又は
それは、配列番号５２の重鎖可変領域のＨＣＤＲｓ及び配列番号１５の軽鎖可変領域のＬＣＤＲｓを含み、又は
それは、配列番号５３の重鎖可変領域のＨＣＤＲｓ及び配列番号１５の軽鎖可変領域のＬＣＤＲｓを含む。

【０２２４】

幾つかの実施形態において、上記ＣＤＲｓ配列は、この分野で公知の番号付け方法により得られ、上記番号付け規則は、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、ＩＭＧＴ、ＡｂＭとＣｏｎｔａｃｔを含むが、これらに限定されない。

【０２２５】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、
配列が配列番号２２で示され、又は配列番号２２に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ１と、
配列が配列番号２３で示され、又は配列番号２３に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ２と、
配列が配列番号２４で示され、又は配列番号２４に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ３と、
配列が配列番号２５で示され、又は配列番号２５に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ１と、
配列が配列番号２６で示され、又は与配列番号２６に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ２と、
配列が配列番号２７で示され、又は与配列番号２７に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ３と、
を含む。

【０２２６】
一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、
配列が配列番号２２で示され、又は配列番号２２に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ１と、
配列が配列番号２３で示され、又は配列番号２３に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ２と、
配列が配列番号３０で示され、又は配列番号３０に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ３と、
配列が配列番号２５で示され、又は配列番号２５に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ１と、
配列が配列番号２６で示され、又は与配列番号２６に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ２と、
配列が配列番号２７で示され、又は与配列番号２７に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ３と、
を含む。
【０２２７】
一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、
配列が配列番号２２で示され、又は配列番号２２に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ１と、
配列が配列番号２３で示され、又は配列番号２３に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ２と、
配列が配列番号３１で示され、又は配列番号３１に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ３と、
配列が配列番号２５で示され、又は配列番号２５に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ１と、
配列が配列番号２６で示され、又は与配列番号２６に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ２と、
配列が配列番号２７で示され、又は与配列番号２７に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ３と、
を含む。
【０２２８】
一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは、
配列が配列番号１６で示され、又は配列番号１６に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ１と、
配列が配列番号１７で示され、又は配列番号１７に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ２と、
配列が配列番号１８で示され、又は配列番号１８に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＨＣＤＲ３と、
配列が配列番号１９で示され、又は配列番号１９に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ１と、
配列が配列番号２０で示され、又は配列番号２０に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ２と、
配列が配列番号２１で示され、又は配列番号２１に比べて３、２若しくは１個のアミノ酸変異を含むＬＣＤＲ３と、
を含む。
【０２２９】
一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、
上記重鎖可変領域は、それぞれ配列番号２２、配列番号２３と配列番号２４で示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２とＨＣＤＲ３を含み、及び

上記軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号２５、配列番号２６と配列番号２７で示されるＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２とＬＣＤＲ３を含む。

【０２３０】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、

上記重鎖可変領域は、それぞれ配列番号２２、配列番号２３と配列番号３０で示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２とＨＣＤＲ３を含み、及び

上記軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号２５、配列番号２６と配列番号２７で示されるＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２とＬＣＤＲ３を含む。

【０２３１】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、

上記重鎖可変領域は、それぞれ配列番号２２、配列番号２３と配列番号３１で示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２とＨＣＤＲ３を含み、及び

上記軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号２５、配列番号２６と配列番号２７で示されるＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２とＬＣＤＲ３を含む。

【０２３２】

一態様において、本開示は抗ＤＬＬ３の抗体を提供し、それは重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、そのうち、

上記重鎖可変領域は、それぞれ配列番号１６、配列番号１７と配列番号１８で示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２とＨＣＤＲ３を含み、及び

上記軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号１９、配列番号２０と配列番号２１で示されるＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２とＬＣＤＲ３を含む。

【０２３３】

別の態様において、抗ＤＬＬ３抗体の重鎖可変領域は、配列番号１４、５０、５１、５２、５３若しくは５４から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％の同一性を有する配列を含む。ある実施形態において、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入又は欠失があるが、当該配列を含む抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３に結合する能力を保持する。ある実施形態において、置換、挿入又は欠失は、ＣＤＲ以外の領域内（即ち、ＦＲ内）に行われる。

【０２３４】

別の態様において、抗ＤＬＬ３抗体の軽鎖可変領域は、配列番号１５、５５若しくは５６から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％の同一性を有する配列を含む。ある実施形態において、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入又は欠失があるが、当該配列を含む抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３に結合する能力を保持する。ある実施形態において、置換、挿入又は欠失は、ＣＤＲ以外の領域内（即ち、ＦＲ内）に行われる。

【０２３５】

別の態様において、抗ＤＬＬ３抗体の重鎖可変領域は、配列番号１２、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３若しくは４４から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％の同一性を有する配列を含む。ある実施形態において、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入又は欠失があるが、当該配列を含む抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３に結合する能力を保持する。ある実施形態において、置換、挿入又は欠失は、ＣＤＲ以外の領域内（即ち、ＦＲ内）に行われる。

【０２３６】

別の態様において、抗ＤＬＬ３抗体の軽鎖可変領域は、配列番号１３、４５、４６、４

７、４８若しくは４９から選ばれる何れか１つのアミノ酸配列に対してそれぞれ少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％若しくは１００％の同一性を有する配列を含む。ある実施形態において、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入又は欠失があるが、当該配列を含む抗ＤＬＬ３抗体は、ＤＬＬ３に結合する能力を保持する。ある実施形態において、置換、挿入又は欠失は、ＣＤＲ以外の領域内（即ち、ＦＲ内）に行われる。

【０２３７】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号５０、１４、５１、５２、５３若しくは５４の何れか１つで示される重鎖可変領域、及び／又は配列番号５５、１５若しくは５６の何れか１つで示される軽鎖可変領域を含む。

【０２３８】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号４３、１２、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２若しくは４４の何れか１つで示される重鎖可変領域、及び／又は配列番号４８、１３、４５、４６、４７若しくは４９の何れか１つで示される軽鎖可変領域を含む。

【０２３９】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号１４で示される重鎖可変領域、及び／又は配列番号１５の何れか１つで示される軽鎖可変領域を含む。

【０２４０】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号５０、５１、５２、５３と５４から選ばれる何れか１つで示される重鎖可変領域、及び／又は配列番号５５若しくは５６の何れか１つで示される軽鎖可変領域を含む。

【０２４１】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号１２で示される重鎖可変領域、及び／又は配列番号１３で示される軽鎖可変領域を含む。

【０２４２】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号４３、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２と４４から選ばれる何れか１つで示される重鎖可変領域、及び／又は配列番号４８、４５、４６、４７と４９から選ばれる何れか１つで示される軽鎖可変領域を含む。

【０２４３】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は配列番号５０で示される重鎖可変領域、及び配列番号５５で示される軽鎖可変領域を含む。

【０２４４】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体は、配列番号４３で示される重鎖可変領域、及び配列番号４８で示される軽鎖可変領域を含む。

【０２４５】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは重鎖定常領域及び軽鎖定常領域を含む。

【０２４６】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、その重鎖定常領域の配列は配列番号２８で示される。

【０２４７】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、その軽鎖定常領域の配列は配列番号２９で示される。

【０２４８】

幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは重鎖及び軽鎖を含み、そのうち、

上記重鎖は配列番号６０に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／又は上記軽鎖は配列番号６１に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミ

ノ酸配列を含み、或いは
上記重鎖は配列番号５８に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含み、及び／又は上記軽鎖は配列番号５９に対して少なくとも８５％の同一性を有するアミノ酸配列を含む。
【０２４９】
幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、配列番号６０で示される重鎖、及び配列番号６１で示される軽鎖を含む。
【０２５０】
幾つかの実施形態において、上記抗ＤＬＬ３抗体であって、それは、配列番号５８で示される重鎖、及び配列番号５９で示される軽鎖を含む。
【０２５１】
Ｂ．　抗体の構造
ある実施形態において、本明細書に提供される抗体は、全長抗体である。
【０２５２】
ある実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。
【０２５３】
一実施形態において、抗体断片は、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ又はＦ（ａｂ$_2$）断片、特にＦａｂ断片である。「Ｆａｂ」は、ＶＬ、ＶＨ、ＣＬとＣＨ１ドメインからなる１価断片である。「Ｆａｂ断片」は、抗体がパパインプロテアーゼにより溶解されることで産生されてもよい。「Ｆａｂ’」は、ＶＬ、ＣＬ及びＶＨとＣＨ１を含み、ＣＨ１とＣＨ２ドメイン間の領域をさらに含むことで、２つのＦａｂ’断片の両重鎖間に鎖間ジスルフィド結合を形成して、Ｆ（ａｂ’）２分子を形成することが可能になる。「Ｆａｂ’－ＳＨ」は、その中の定常領域のシステイン残基が遊離メルカプト基を有するＦａｂ’断片である。「Ｆ（ａｂ’）$_2$」は、ヒンジ領域でジスルフィド結合により連結された２つのＦａｂ断片を含む２価断片である。
【０２５４】
別の実施形態において、抗体断片は、二重抗体、三重抗体又は四重抗体である。二重抗体は、２つの抗原結合部位を有する抗体断片であり、当該断片は、同一のポリペプチド鎖（ＶＨ－ＶＬ）に、連結されたＶＨとＶＬを含む。短すぎるリンカーを使用することにより、同一の鎖上の２つのドメイン同士のペアリングを妨げ、これらのドメインは、別の鎖の相補的なドメインとペアリングすることを余儀なくされることで、２つの抗原結合部位が産生され、２つの抗原は同一でも異なってもよい。
【０２５５】
別の実施形態において、抗体断片は、単鎖Ｆａｂ断片である。「単鎖Ｆａｂ断片」又は「ｓｃＦａｂ」は、ＶＨ、ＣＨ１、ＶＬ、ＣＬとリンカーからなるポリペプチドであり、そのうち、上記各ドメイン及び上記リンカーは、Ｎ末端からＣ末端への方向に、ａ）ＶＨ－ＣＨ１－リンカー－ＶＬ－ＣＬ、ｂ）ＶＬ－ＣＬ－リンカー－ＶＨ－ＣＨ１、ｃ）ＶＨ－ＣＬ－リンカー－ＶＬ－ＣＨ１、又はｄ）ＶＬ－ＣＨ１－リンカー－ＶＨ－ＣＬという順序の１つを有する。一実施形態において、上記リンカーは、少なくとも３０個のアミノ酸を有するポリペプチドである。別の実施形態において、上記リンカーは、３２～５０個のアミノ酸を有するポリペプチドである。上記単鎖Ｆａｂ断片は、ＣＬとＣＨ１との天然ジスルフィド結合によって安定化される。また、システイン残基（例えば、重鎖可変領域における４４位及び軽鎖可変領域における１００位、Ｋａｂａｔによる番号）を挿入することで鎖間ジスルフィド結合が産生され、これらの単鎖Ｆａｂ分子は、さらに安定化されることができる。
【０２５６】
別の実施形態において、抗体断片は、単鎖可変断片（ｓｃＦｖ）である。「ｓｃＦｖ」は、軽鎖可変領域を含む少なくとも１つの抗体断片と、重鎖可変領域を含む少なくとも１つの抗体断片とを含む融合タンパク質であり、そのうち、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域は、短いフレキシブルペプチドリンカーによって連続的に連結され、単鎖ポリペプチドと

して発現可能であり、かつここで、ｓｃＦｖは、それが由来する完全抗体の特異性を保持する。特に明記のない限り、本明細書において、ｓｃＦｖは、何れか１つの順序でＶＬ及びＶＨ可変領域を有してもよく、例えば、ポリペプチドのＮ末端及びＣ末端に対して、ｓｃＦｖは、ＶＬ－リンカー－ＶＨを含んでもよく、又はＶＨ－リンカー－ＶＬを含んでもよい。

【０２５７】

別の実施形態において、抗体断片は、ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片である。

【０２５８】

別の実施形態において、抗体断片は、抗体の単一アームのＶＨ及びＶＬドメインからなるＦｖ断片である。

【０２５９】

別の実施形態において、抗体断片はｄｓＦｖであり、ｄｓＦｖは、その中の各ＶＨとＶＬにおける１つのアミノ酸残基がシステイン残基で置換されたポリペプチドをシステイン残基間のジスルフィド結合で連結することで得られる。システイン残基で置換されるアミノ酸残基は、既知の方法（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ．７：６９７（１９９４））により、抗体の３次元構造予測に基づいて選択することができる。

【０２６０】

別の実施形態において、抗体断片は単一ドメイン抗体であり、単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全体若しくは一部、又は軽鎖可変ドメインの全体若しくは一部を含む抗体断片である。

【０２６１】

別の実施形態において、抗体断片は、ドメイン抗体（ｄｏｍａｉｎ　ａｎｔｉｂｏｄｙ、ｄＡｂ）であり、例えば、米国特許Ｎｏ．６，２４８，５１６が参照される。ドメイン抗体（ｄＡｂ）は、ヒト抗体の重（ＶＨ）鎖又は軽（ＶＬ）鎖の可変領域に対応する、抗体の機能的結合ドメインである。ｄＡＢは、約１３　ｋＤａの分子量を有するか、又は完全抗体の大きさの１０分の１未満である。ｄＡＢは、細菌、酵母及び哺乳動物細胞系を含む様々な宿主において良好に発現される。さらに、ｄＡｂは、例えば、凍結乾燥や熱変性のような過酷な条件下でも、非常に安定で活性が高い。例えば、米国特許６，２９１，１５８、６，５８２，９１５、６，５９３，０８１、６，１７２，１９７、米国シリーズＮｏ．２００４／０１１０９４１、欧州特許０３６８６８４、米国特許６，６９６，２４５、ＷＯ０４／０５８８２１、ＷＯ０４／００３０１９及びＷＯ０３／００２６０９が参照される。

【０２６２】

ある実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサルなどの非ヒト霊長類から誘導される可変領域）及びヒト定常領域を含む。別の例において、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスが親抗体のクラス又はサブクラスから変更された「クラススイッチ」抗体である。

【０２６３】

ある実施形態において、抗体はヒト化抗体である。通常、非ヒト抗体は、ヒト化によりヒトに対する免疫原性が低減されると共に、親非ヒト抗体の特異性と親和性を保持する。一般的に、ヒト化抗体は、ＣＤＲ又はその一部が非ヒト抗体から誘導され、ＦＲ又はその一部がヒト抗体から誘導される１つ又は複数の可変領域を含む。任意選択的に、ヒト化抗体は、ヒト定常領域の一部を含んでもよい。幾つかの実施形態において、ヒト化抗体における幾つかのＦＲ残基は、非ヒト抗体（例えば、ＣＤＲ配列を提供する抗体）からの対応する残基で置換されてもよい。

【０２６４】

ヒト化抗体及びその生成方法については、Ａｌｍａｇｒｏ　ａｎｄ　Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．　Ｂｉｏｓｃｉ．　１３：１６１９－１６３３（２００８）などに概説さ

れ、さらにＲｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９－１００３３（１９８９）、米国特許Ｎｏ．５，８２１，３３７，７，５２７，７９１，６，９８２，３２１と７，０８７，４０９、Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５－３４（２００５）（特異的決定領域（ＳＤＲ）のグラフトについて記載）、Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９－４９８（１９９１）（「リサーフェシング」（ｒｅｓｕｒｆｕａｃｉｎｇ）について記載）、Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３－６０（２００５）（「ＦＲシャッフリング」について記載）、及びＯｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１－６８（２００５）とＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ ８３：２５２－２６０（２０００）（ＦＲシャッフリングの「誘導選択」方法について記載）などに記載されている。

【０２６５】

ヒト化に使用可能なヒトフレームワーク領域は、「最良適合（ｂｅｓｔ－ｆｉｔ）」方法により選択されたフレームワーク領域（例えば、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）参照）、軽鎖可変領域又は重鎖可変領域の特定サブクラスから誘導されたヒト抗体の共通配列のフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）とＰｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５１：２６２３（１９９３）参照）、ヒト成熟（体細胞変異の）フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）参照）、及びＦＲライブラリーのスクリーニングにより得られたフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：１０６７８－１０６８４（１９９７）とＲｏｓｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７１：２２６１１－２２６１８（１９９６）参照）を含むが、これらに限定されない。

【０２６６】

Ｃ．抗体の修飾

ある実施形態において、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異体をカーバーする。例えば、抗体の結合親和性及び／又は他の生物学的特性を改善することが望まれる。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入することにより、又はペプチド合成により調製することができる。このような修飾は、例えば、抗体のアミノ酸配列における残基の削除、及び／又は挿入、及び／又は置換を含む。最終的な構築体が抗原結合特性などの所望の特性を有すれば、最終的な構築体は、削除、挿入及び置換の任意の組み合わせを行うことで得ることができる。

【０２６７】

ａ）変異体の置換、挿入及び削除

ある実施形態において、１つ又は複数のアミノ酸置換を有する抗原変異体を提供する。置換変異誘発の関心部位は、ＣＤＲ及びＦＲを含む。保存的置換は表２において、「好ましい置換」という見出しの下に示されている。より実質的な変化は表２において、「例示的な置換」という見出しの下に提供され、かつ以下アミノ酸側鎖分類を参照してさらに記載される通りである。アミノ酸置換を関心抗体に導入し、生成物について例えば、保持／改善された抗原結合、低下した免疫原性、又は改善されたＡＤＣＣ若しくはＣＤＣなどの所望の活性をスクリーニングすることができる。

【０２６８】

【表２】

表２

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

アミノ酸は、一般的な側鎖の特性によって、以下のように群分けすることができる：
（１）疎水性のもの：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、
（２）中性、親水性のもの：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、
（３）酸性のもの：Ａｓｐ、Ｇｌｕ、
（４）塩基性のもの：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、
（５）鎖配向に影響を与える残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、
（６）芳香族のもの：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【０２６９】

非保存的置換には、これらの分類の１つにおけるメンバーで別の分類におけるメンバーを置換する必要がある。

【０２７０】

ある実施形態において、このような変化が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、置換、挿入又は欠失は、１つ又は複数のＣＤＲにおいて行われてもよい。例えば、ＣＤＲに対して、結合親和性を実質的に低下させない保存的変化（例えば、保存的置換で、本明細書に提供されるように）を行うことができる。このような変化は、例えば、ＣＤＲにおける抗原接触残基の外部にあってもよい。上記に提供される変異体ＶＨとＶＬ配列のある実施形態において、各ＣＤＲは変化されていないか、又は１つ、２つ若しくは３つ以下のアミノ酸置換を含む。

【０２７１】

抗体における変異誘発の標的部位となり得る残基又は領域を同定するために使用できる方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５により記載されるように、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、１つの残基又は残基群（例えば、Ａｒｇ、Ａｓｐ、Ｈｉｓ、Ｌ

ｙｓとＧｌｕのような荷電残基）を同定し、かつ中性又は負に荷電したアミノ酸（例えば、Ａｌａ又はポリアラニン）で置換することで、当該抗体と抗原との相互作用が影響を受けたか否かを確認する。初期置換に対して機能的感受性を示すアミノ酸位置に、さらなる置換を導入することができる。また、抗原－抗体複合物の結晶構造を調べることにより、抗体と抗原との接触点を同定することができる。これらの接触残基及び隣接残基は、置換候補として標的化又は除去されてもよい。所望の特性が含まれるか否かを確認するために変異体をスクリーニングしてもよい。

【０２７２】

アミノ酸配列の挿入は、長さの範囲が１個の残基から１００個以上の残基であるポリペプチドのアミノ末端及び／又はカルボキシル末端での融合、及び１つ又は複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、抗体のＮ又はＣ末端と、酵素又は抗体の血清半減期を延長するポリペプチドとの融合体を含む。

【０２７３】

ｂ）Ｆｃ領域の修飾

ある実施形態において、１つ又は複数のアミノ酸修飾を本明細書に提供される抗体のＦｃ領域に導入することができる。

【０２７４】

幾つかの実施形態において、上記１つ又は複数のアミノ酸修飾は、ＦｃのＦｃ受容体への結合、例えば、そのＦｃγ受容体への結合を減少させ、かつエフェクター機能を低減又は除去することができる。幾つかの実施形態において、改変したＦｃ領域は天然Ｆｃ領域に比べて、Ｆｃ受容体への結合親和性が５０％、８０％、９０％又は９５％以上低減される。幾つかの実施形態において、上記Ｆｃ受容体はヒトＦｃγ受容体、例えば、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、ＦｃγＲＩＩＢ、ＦｃγＲＩＩＩａである。幾つかの実施形態において、改変されたＦｃ領域は、天然Ｆｃ領域に比べて、Ｃ１ｑなどの補体への結合親和性も低減される。幾つかの実施形態において、改変されたＦｃ領域は、天然のＦｃ領域に比べて、新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）への結合親和性が強くなり、例えば、Ｆｃ領域にＭ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ変異が導入される。幾つかの実施形態において、改変されたＦｃ領域は、低減されたエフェクター機能を有し、上記低減されたエフェクター機能は、低減された補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）、低減された抗体依存性細胞媒介性細胞毒性（ＡＤＣＣ）、低減された抗体依存性細胞貪食作用（ＡＤＣＰ）、減少されたサイトカインの分泌、減少された免疫複合物媒介性の抗原提示細胞の抗原摂取、減少されたＮＫ細胞への結合、減少されたマクロファージへの結合、減少された単球への結合、減少された多形核細胞への結合、減少された直接シグナル伝達誘導性の細胞アポトーシス、及び低減された樹状細胞の成熟又は減少されたＴ細胞による誘発のうちの１つ又は複数を含んでもよいが、これらに限定されない。ＩｇＧ$_1$　Ｆｃ領域については、２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７及び３２９などの位置でのアミノ酸残基置換により、エフェクター機能を低減することができる。幾つかの実施形態において、上記Ｆｃ領域はヒトＩｇＧ$_1$　Ｆｃ領域であり、かつ、２３４と２３５位置でのアミノ酸残基はＡであり、番号がＥＵインデックスに従って付けられる。ＩｇＧ$_4$　Ｆｃ領域については、２２８などの位置でのアミノ酸残基置換により、エフェクター機能を低減することができる。

【０２７５】

ある実施形態において、抗体は、ＡＤＣＣを改善する１つ又は複数のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８、３３３及び／又は３３４位（ＥＵ番号付けシステムを用いる）での置換を含む。

【０２７６】

ある実施形態において、本明細書における抗体のＦｃドメインは、「ノブ・イン・ホール」変異を含む。「ノブ・イン・ホール」は、抗体重鎖ホモ二量体を工学的に改変してヘテロ二量化するため（例えば、二重特異性抗体、多重特異性抗体、又はシングルアーム抗体を効果的に生成するため）の設計戦略である。一般的に、このような技術は、突起が空

洞に収容できるように、第１のポリペプチド（例えば、第１の抗体重鎖中の第１のＣＨ３ドメイン）の界面に突起（「ノブ」）を導入し、かつ第２のポリペプチド（例えば、第２の抗体重鎖中の第２のＣＨ３ドメイン）の界面の対応する箇所に空洞（「ホール」）を導入することにより、ヘテロ二量体の形成を促進するとと共に、ホモ二量体の形成を阻害することに関わっている。第１のポリペプチド（例えば、第１の抗体の重鎖中の第１のＣＨ３ドメイン）の界面からの比較的小さいアミノ酸側鎖を比較的大きい側鎖（例えば、アルギニン、フェニルアラニン、チロシン又はトリプトファン）で置換することにより、突起を構築する。比較的大きいアミノ酸側鎖を比較的小さい側鎖（例えば、アラニン、セリン、バリン又はトレオニン）で置換することにより、第２のポリペプチド（例えば、第２の抗体重鎖中の第２のＣＨ３ドメイン）の界面に、突起と同様又は類似のサイズを有する補完的空洞を作成する。突起及び空洞は、ポリペプチドをコードする核酸を変更すること（例えば、部位特異的変異誘発）により、又はペプチド合成により生成されてもよい。幾つかの実施形態において、ノブ修飾は、Ｆｃドメインの２つのサブユニットの一方におけるアミノ酸置換Ｔ３６６Ｗを含むが、ホール修飾は、Ｆｃドメインの２つのサブユニットの他方におけるアミノ酸置換Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８ＡとＹ４０７Ｖを含む。幾つかの実施形態において、Ｆｃドメインのノブ修飾を含むサブユニットはさらにアミノ酸置換Ｓ３５４Ｃを含み、かつＦｃドメインのホール修飾を含むサブユニットはさらにアミノ酸置換Ｙ３４９Ｃを含む。この２つのシステイン残基を導入することにより、Ｆｃ領域の２つのサブユニット間のジスルフィド架橋を形成し、それでさらに二量体を安定化する（Ｃａｒｔｅｒ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２４８：７－１５（２００１））。ノブ・イン・ホール変異の例示的な組み合わせは、表３に記載されるものを含むが、これらに限定されない。

【０２７７】

【表３】

表３

Ｆｃモノマー１	Ｙ４０７Ｔ	Ｙ４０７Ａ	Ｆ４０５Ａ	Ｔ３９４Ｓ	Ｔ３６６Ｓ Ｌ３６８Ａ Ｙ４０７Ｖ	Ｔ３９４Ｗ Ｙ４０７Ｔ	Ｔ３９４Ｗ Ｙ４０７Ａ	Ｔ３６６Ｗ Ｔ３９４Ｓ
Ｆｃモノマー２	Ｔ３６６Ｙ	Ｔ３６６Ｗ	Ｔ３９４Ｗ	Ｆ４０５Ｗ	Ｔ３６６Ｗ	Ｔ３６６Ｙ Ｆ４０５Ａ	Ｔ３６６Ｗ Ｆ４０５Ｗ	Ｆ４０５Ｗ Ｙ４０７Ａ

【０２７８】

ノブ・イン・ホール技術についての詳細は、例えば、米国特許Ｎｏ．５，７３１，１６８、米国特許Ｎｏ．７，６９５，９３６、ＷＯ ２００９／０８９００４、ＵＳ ２００９／０１８２１２７、Ｍａｒｖｉｎ ａｎｄ Ｚｈｕ，Ａｃｔａ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａ Ｓｉｎｃｉａ（２００５）２６（６）：６４９－６５８、Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ，Ａｃｔａ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａ Ｓｉｎｃｉａ（２００５）２６：１－９、Ｒｉｄｇｗａｙ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｔ Ｅｎｇ ９：６１７－６２１（１９９６）、及びＣａｒｔｅｒ，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈ ２４８：７－１５（２００１）に記載されている。

【０２７９】

Ｆｃ領域のＣ末端は、アミノ酸残基ＰＧＫで終わる完全なＣ末端であってもよく、切断されたＣ末端であってもよく、例えば、上記切断されたＣ末端に１つ又は２つのＣ末端アミノ酸残基が既に除去された。一好ましい態様において、重鎖のＣ末端は、ＰＧで終わる切断されたＣ末端である。従って、幾つかの実施形態において、完全抗体の組成物は、あらゆるＫ４４７残基及び／又はＧ４４６＋Ｋ４４７残基を除去した抗体群を含んでもよい。幾つかの実施形態において、完全抗体の組成物は、Ｋ４４７残基及び／又はＧ４４６＋Ｋ４４７残基を除去していない抗体群を含んでもよい。幾つかの実施形態において、完全抗体の組成物は、Ｋ４４７残基及び／又はＧ４４６＋Ｋ４４７残基を持つ、及び持たない抗体混合物を含む。

【０２８０】
Ｄ．　組換え法
抗ＤＬＬ３抗体は、組換え法により産生することができる。これらの方法に対して、抗体をコードする１つ以上の単離した核酸を提供する。
【０２８１】
一実施形態において、本開示は、上記のような抗体をコードする単離した核酸を提供する。このような核酸は、それぞれ独立的に上記何れか１つのポリペプチド鎖をコードすることができる。別の態様において、本開示は、このような核酸を含む１種又は複数種のベクター（例えば、発現ベクター）を提供する。別の態様において、本開示は、このような核酸を含む宿主細胞を提供する。一実施形態において、抗ＤＬＬ３抗体を調製する方法を提供し、そのうち、上記方法は、上記に提供されるように、発現に適する条件で、上記抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することと、任意選択的に宿主細胞（又は宿主細胞培地）から上記抗体を回収することとを含む。
【０２８２】
組換えて抗体を産生するために、抗体をコードする核酸を単離して１つ以上のベクターに挿入し、宿主細胞におけるさらなるクローニング及び／又は発現に用いる。このような核酸は、通常の手順で容易に単離とシーケンスすることができ、或いは組換え法により産生され、又は化学合成により得られる。
【０２８３】
抗体をコードするベクターをクローニング又は発現するための適切な宿主細胞は、本明細書に記載される原核又は真核細胞を含む。例えば、特に、グリコシル化及びＦｃエフェクター機能が不要な場合に、細菌において産生することができる。発現した後、可溶性画分において細菌細胞のペースト状物から単離することができ、かつさらに精製することができる。
【０２８４】
Ｅ．　測定
本明細書に提供されるポリペプチド又は融合タンパク質は、この分野で既知の種々の測定法により、その物理的／化学的特徴及び／又は生物学的活性を同定・スクリーニングし、又は特徴づけることができる。一態様において、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウエスタンブロット法などの既知の方法により、本開示に係るポリペプチド又は複合体の活性を測定する。
【０２８５】
Ｆ．　治療方法及び投与経路
本明細書に提供される上記何れかの抗ＤＬＬ３抗体、それを含む抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩は、疾患の治療に使用可能である。
【０２８６】
一態様において、本開示は、抗ＤＬＬ３抗体、それを含む抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩の、薬剤の調製における使用を提供する。幾つかの実施形態において、本開示は、抗ＤＬＬ３抗体、それを含む抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩の、腫瘍又はがんを治療するための薬剤の調製における使用を提供する。幾つかの実施形態において、上記腫瘍又はがんは、肺がん（例えば、小細胞肺がん、非小細胞肺がん、大細胞肺がん）、頭頸部扁平上皮がん、頭頸部がん、脳がん、神経膠腫、多形性膠芽腫、神経芽細胞腫、中枢神経系がん、神経内分泌腫瘍、咽頭がん、咽頭扁平上皮がん、口腔扁平上皮がん、鼻咽頭がん、食道がん、甲状腺がん（例えば、甲状腺髄様がん）、悪性胸膜中皮腫、乳がん（例えば、トリプルネガティブ乳がん）、肝がん、肝胆嚢がん、膵臓がん、胃がん、消化管がん、腸がん、結腸直腸がん（例えば、結腸がんと直腸がん）、腎がん、明細胞腎細胞がん、卵巣がん、子宮内膜がん、子宮頸がん、膀胱がん、前立腺がん、精巣がん、副腎がん、膠芽細胞腫、皮膚がんと黒色腫から選ばれ、好ましくは、上記腫瘍又はがんは小細胞肺がんである。
【０２８７】

幾つかの実施形態において、本開示は、抗ＤＬＬ３抗体、それを含む抗体－薬物複合体又はその薬学的に許容される塩の、ＤＬＬ３関連疾患を治療するための薬剤の調製における使用を提供する。

【０２８８】

このような実施形態の１つにおいて、上記使用は、対象に治療有効量の少なくとも１種の別の治療剤（例えば、１種、２種、３種、４種、５種又は６種の別の治療剤）を投与することをさらに含む。

【０２８９】

さらなる態様において、上記抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体を含む医薬組成物を提供し、例えば、それは、上記任意の製薬的使用又は治療方法に使用される。一実施形態において、医薬組成物は、本明細書に提供される任意のポリペプチド又は薬物複合体と、薬学的に許容されるベクターとを含む。別の実施形態において、医薬組成物は、少なくとも１種の別の治療剤をさらに含む。

【０２９０】

本開示に係る抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体は、単独で、又は他の試薬と組み合わせて、治療のために使用されてもよい。例えば、本開示に係る抗体は、少なくとも１種の別の治療剤と共に投与することができる。

【０２９１】

本開示に係る抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体は、非経口投与、肺内投与及び鼻内投与を含む任意の適切な手段により投与することができ、かつ局所治療が必要な場合、病巣内に投与される。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹膜内又は皮下投与を含む。投薬は、任意の適切な経路により、例えば、静脈内又は皮下注射などの注射により行うことができ、これは部分的に、投与が短期間か長期間かによって決められる。本明細書では、様々な投薬スケジュールが考慮されており、単回投与又は複数の時点での複数回投与、ボーラス投与及びパルス注入を含むが、これらに限定されない。

【０２９２】

本開示の抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体は、良好な医療行為に適合するように調製、投薬及び投与される。この背景で考えられる要因は、治療される具体的な病状、治療される具体的な哺乳動物、個体患者の臨床状況、病状の起因、試薬の送達部位、投与方法、投与スケジュール及び医療従事者に既知の他の要因を含む。抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体は、１つ以上の他の試薬と共に調製されてもよい。このような他の試薬の有効量は、医薬組成物に存在する量、病状又は治療の種類及び他の要因によって決められる。それらは、一般的に、本明細書の記載と同じ用量及び投与経路で使用され、又は本明細書に記載される用量の約１％～９９％で使用され、又は別の用量で使用され、かつ経験的／臨床的に適切と決定された任意の経路で使用される。

【０２９３】

疾患を予防又は治療するために、本開示に係る抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体（単独で使用されるか又は１種以上の別の治療剤と併用される場合）の好適な用量は、治療すべき疾患の種類、治療分子の種類、疾患の重症度及び疾患の経過、投与が予防のためか治療のためか、過去の治療、患者の臨床病歴及び治療分子に対する応答及び主治医の判断によって決められる。治療分子は、適当に１回又は一連の治療で患者に投与される。

【０２９４】

Ｇ．　製品

本開示の別の態様において、上記病状の治療、予防及び／又は診断に使用可能な材料を含む製品（例えば、キット）を提供する。当該製品は、容器と、容器上若しくは容器と組み合わせたラベル又は添付文書（ｐａｃｋａｇｅ　ｉｎｓｅｒｔ）とを含む。好適な容器は、例えば、瓶、バイアル、注射器、ＩＶ溶液バッグなどを含む。容器は、例えば、ガラスやプラスチックのような種々の材料から形成されてもよい。

【０２９５】

容器は、本開示の抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体を単独で収容するか、或いは別の

組成物と組み合わせる。容器は、滅菌したアクセスポートを有してもよい（例えば、容器は、栓を有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってもよい）。組成物中の少なくとも１種の活性試薬は、本開示の抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体である。ラベル又は添付文書は、当該組成物が選択された病状を治療するために使用されることを示す。

【０２９６】

さらに、製品は、（ａ）抗ＤＬＬ３抗体又はその薬物複合体が収容された第１の容器と、（ｂ）別の細胞毒性剤又は他の治療剤を含む組成物が収容された第２の容器とを含んでもよい。

【０２９７】

選択的に、又はさらに、製品は、薬学的に許容される緩衝液を含む第２（又は第３）の容器をさらに含んでもよい。ビジネス及びユーザーの観点から、それは、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、注射針及び注射器を含む必要な他の材料をさらに含んでもよい。

【０２９８】

実施例

以下、実施例と合わせて本開示をさらに説明するが、これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものではない。

【０２９９】

本開示の実施例又は試験例における具体的な条件が明示されていない実験方法は、通常、一般的な条件、又は原料や商品メーカに勧められた条件に従う。Ｓａｍｂｒｏｏｋら，分子クローニング，実験室マニュアル，コールド・スプリング・ハーバー研究所、及び現代分子生物学方法，Ａｕｓｕｂｅｌら著，Ｇｒｅｅｎｅ出版協会，Ｗｉｌｅｙ　Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，ＮＹが参照される。具体的な供給源が明示されていない試薬は、市販される通常の試薬である。

【０３００】

一、抗体の調製

実施例１：ＤＬＬ３抗原及び検出用タンパク質と安定形質転換細胞株の調製

異なる種のＤＬＬ３遺伝子及びヒトＤＬＬ１、ＤＬＬ４遺伝子をチャイニーズハムスターの卵巣細胞ＣＨＯ－ｓ細胞（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｒ８０００７）にトランスフェクションし、異なる種のＤＬＬ３タンパク質を発現するＣＨＯ－ｓ細胞株を構築し、後続きの抗体のスクリーニングと同定に使用した。関連するタンパク質のアミノ酸配列は、以下の通りである：

ヒトＤＬＬ３全長タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｑ９ＮＹＪ７）：

ＭＶＳＰＲＭＳＧＬＬＳＱＴＶＩＬＡＬＩＦＬＰＱＴＲＰＡＧＶＦＥＬＱＩＨＳＦＧＰ
ＧＰＧＰＧＡＰＲＳＰＣＳＡＲＬＰＣＲＬＦＦＲＶＣＬＫＰＧＬＳＥＥＡＡＥＳＰＣＡＬ
ＧＡＡＬＳＡＲＧＰＶＹＴＥＱＰＧＡＰＡＰＤＬＰＬＰＤＧＬＬＱＶＰＦＲＤＡＷＰＧＴ
ＦＳＦＩＩＥＴＷＲＥＥＬＧＤＱＩＧＧＰＡＷＳＬＬＡＲＶＡＧＲＲＲＬＡＡＧＧＰＷＡ
ＲＤＩＱＲＡＧＡＷＥＬＲＦＳＹＲＡＲＣＥＰＰＡＶＧＴＡＣＴＲＬＣＲＰＲＳＡＰＳＲ
ＣＧＰＧＬＲＰＣＡＰＬＥＤＥＣＥＡＰＬＶＣＲＡＧＣＳＰＥＨＧＦＣＥＱＰＧＥＣＲＣ
ＬＥＧＷＴＧＰＬＣＴＶＰＶＳＴＳＳＣＬＳＰＲＧＰＳＳＡＴＴＧＣＬＶＰＧＰＧＰＣＤ
ＧＮＰＣＡＮＧＧＳＣＳＥＴＰＲＳＦＥＣＴＣＰＲＧＦＹＧＬＲＣＥＶＳＧＶＴＣＡＤＧ
ＰＣＦＮＧＧＬＣＶＧＧＡＤＰＤＳＡＹＩＣＨＣＰＰＧＦＱＧＳＮＣＥＫＲＶＤＲＣＳＬ
ＱＰＣＲＮＧＧＬＣＬＤＬＧＨＡＬＲＣＲＣＲＡＧＦＡＧＰＲＣＥＨＤＬＤＤＣＡＧＲＡ
ＣＡＮＧＧＴＣＶＥＧＧＧＡＨＲＣＳＣＡＬＧＦＧＧＲＤＣＲＥＲＡＤＰＣＡＡＲＰＣＡ
ＨＧＧＲＣＹＡＨＦＳＧＬＶＣＡＣＡＰＧＹＭＧＡＲＣＥＦＰＶＨＰＤＧＡＳＡＬＰＡＡ
ＰＰＧＬＲＰＧＤＰＱＲＹＬＬＰＰＡＬＧＬＬＶＡＡＧＶＡＧＡＡＬＬＬＶＨＶＲＲＲＧ
ＨＳＱＤＡＧＳＲＬＬＡＧＴＰＥＰＳＶＨＡＬＰＤＡＬＮＮＬＲＴＱＥＧＳＧＤＧＰＳＳ
ＳＶＤＷＮＲＰＥＤＶＤＰＱＧＩＹＶＩＳＡＰＳＩＹＡＲＥＶＡＴＰＬＦＰＰＬＨＴＧＲ
ＡＧＱＲＱＨＬＬＦＰＹＰＳＳＩＬＳＶＫ

配列番号１

カニクイザルＤＬＬ３全長タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ａ０Ａ２Ｋ５ＷＳＲ４）：

MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGP
GPGPGAPRSPCSARGPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCAL
GAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPFRDAWPGT
FSLIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWA
RDIQRAGAWELRFSYRARCELPAVGTACTRLCRPRSAPSR
CGPGLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRC
LEGWTGPLCMVPVSTSSCLGLRGPSSTTTGCLVPGPGPCD
GNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADG
PCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSL
QPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRA
CANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRNCRERADPCAARPCA
HGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGVSALPAA
PPGLRPGDPQRYLLPPALGLLVAAGVAGAALLLVHVRRRG
HAQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNLRTQEGPGDVPSS
SVDWNRPEDVDSRGIYVISAPSIYARFVAMPLFPPLHTGR
AGQRQNLLFPFPSSILSVK

配列番号２

ラットＤＬＬ３全長タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｏ８８６７１）：

MVSLQVSSLPQTLILAFLLPQALPAGVFELQIHSFGPGP
GPGTPRSPCNARGPCRLFFRVCLKPGVSQEAAESLCALGA
ALSTSGPVYTEQPGVPAAALSLPDGLVRVPFLDAWPGTFS
LIIETWREQLGERAAGPAWNLLARVAGRRRLAAGAPWARD
VQRTGAWELHFSYRARCEPPAVGAACARLCRSRSAPSRCG
PGLRPCTPFPDECEAPRESLTVCRAGCSPEHGYCEEPDEC
HCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLNSRVSGPAGTGCLLPGPGP
CDGNPCANGGSCSETPGSFECACPRGFYGPRCEVSGVTCA
DGPCFNGGLCVGGEDPDSAYVCHCPPAFQGSNCERRVDRC
SLQPCQNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAG
RACANGGTCVEGGGARRCSCALGFGGRDCRERADPCASRP
CAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGVRCEFAVRPDGADAVP
AAPRGLRQADSQRFLLPPALGLLAAAALAGAALLLIHVRR
RGPGRDTGTRLLSGTREPSVHTLPDALNNLRLQDGAGDGP
TSSADWNHPEDGDSRSIYVIPAPSIYAREA

配列番号３

マウスＤＬＬ３全長タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｏ８８５１６）：

MVSLQVSPLSQTLILAFLLPQALPAGVFELQIHSFGPGP
GLGTPRSPCNARGPCRLFFRVCLKPGVSQEATESLCALGA
ALSTSVPVYTEHPGESAAALPLPDGLVRVPFRDAWPGTFS
LVIETWREQLGEHAGGPAWNLLARVVGRRRLAAGGPWARD
VQRTGTWELHFSYRARCEPPAVGAACARLCRSRSAPSRCG
PGLRPCTPFPDECEAPSVCRPGCSPEHGYCEEPDECRCLE
GWTGPLCTVPVSTSSCLNSRVPGPASTGCLLPGPGPCDGN
PCANGGSCSETSGSFECACPRGFYGLRCEVSGVTCADGPC
FNGGLCVGGEDPPDSAYVCHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQP
CQNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACA
NGGTCVEGGGSRRCSCALGFGGRDCRERADPCASRPCAHG
GRCYAHFSGLVCACAPGYMGVRCEFAVRPDGADAVPAAPR
GLRQADPQRFLLPPALGLLVAAGLAGAALLVIHVRRRGPG
QDTGTRLLSGTREPSVHTLPDALNNLRLQDGAGDGPSSSA
DWNHPEDGDSRSIYVIPAPSIYAREDWLIQVLF

配列番号４
ヒトＤＬＬ１全長タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｏ００５４８）：
ＭＧＳＲＣＡＬＡＬＡＶＬＳＡＬＬＣＱＶＷＳＳＧＶＦＥＬＫＬＱＥＦＶＮＫＫＧＬＬ
ＧＮＲＮＣＣＲＧＧＡＧＰＰＰＣＡＣＲＴＦＦＲＶＣＬＫＨＹＱＡＳＶＳＰＥＰＰＣＴＹ
ＧＳＡＶＴＰＶＬＧＶＤＳＦＳＬＰＤＧＧＧＡＤＳＡＦＳＮＰＩＲＦＰＦＧＦＴＷＰＧＴ
ＦＳＬＩＩＥＡＬＨＴＤＳＰＤＤＬＡＴＥＮＰＥＲＬＩＳＲＬＡＴＱＲＨＬＴＶＧＥＥＷ
ＳＱＤＬＨＳＳＧＲＴＤＬＫＹＳＹＲＦＶＣＤＥＨＹＹＧＥＧＣＳＶＦＣＲＰＲＤＤＡＦ
ＧＨＦＴＣＧＥＲＧＥＫＶＣＮＰＧＷＫＧＰＹＣＴＥＰＩＣＬＰＧＣＤＥＱＨＧＦＣＤＫ
ＰＧＥＣＫＣＲＶＧＷＱＧＲＹＣＤＥＣＩＲＹＰＧＣＬＨＧＴＣＱＱＰＷＱＣＮＣＱＥＧ
ＷＧＧＬＦＣＮＱＤＬＮＹＣＴＨＨＫＰＣＫＮＧＡＴＣＴＮＴＧＱＧＳＹＴＣＳＣＲＰＧ
ＹＴＧＡＴＣＥＬＧＩＤＥＣＤＰＳＰＣＫＮＧＧＳＣＴＤＬＥＮＳＹＳＣＴＣＰＰＧＦＹ
ＧＫＩＣＥＬＳＡＭＴＣＡＤＧＰＣＦＮＧＧＲＣＳＤＳＰＤＧＧＹＳＣＲＣＰＶＧＹＳＧ
ＦＮＣＥＫＫＩＤＹＣＳＳＳＰＣＳＮＧＡＫＣＶＤＬＧＤＡＹＬＣＲＣＱＡＧＦＳＧＲＨ
ＣＤＤＮＶＤＤＣＡＳＳＰＣＡＮＧＧＴＣＲＤＧＶＮＤＦＳＣＴＣＰＰＧＹＴＧＲＮＣＳ
ＡＰＶＳＲＣＥＨＡＰＣＨＮＧＡＴＣＨＥＲＧＨＲＹＶＣＥＣＡＲＧＹＧＧＰＮＣＱＦＬ
ＬＰＥＬＰＰＧＰＡＶＶＤＬＴＥＫＬＥＧＱＧＧＰＦＰＷＶＡＶＣＡＧＶＩＬＶＬＭＬＬ
ＬＧＣＡＡＶＶＶＣＶＲＬＲＬＱＫＨＲＰＰＡＤＰＣＲＧＥＴＥＴＭＮＮＬＡＮＣＱＲＥ
ＫＤＩＳＶＳＩＩＧＡＴＱＩＫＮＴＮＫＫＡＤＦＨＧＤＨＳＡＤＫＮＧＦＫＡＲＹＰＡＶ
ＤＹＮＬＶＱＤＬＫＧＤＤＴＡＶＲＤＡＨＳＫＲＤＴＫＣＱＰＱＧＳＳＧＥＥＫＧＴＰＴ
ＴＬＲＧＧＥＡＳＥＲＫＲＰＤＳＧＣＳＴＳＫＤＴＫＹＱＳＶＹＶＩＳＥＥＫＤＥＣＶＩ
ＡＴＥＶ
配列番号５
ヒトＤＬＬ４全長タンパク質（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｑ９ＮＲ６１）：
ＭＡＡＡＳＲＳＡＳＧＷＡＬＬＬＬＶＡＬＷＱＱＲＡＡＧＳＧＶＦＱＬＱＬＱＥＦＩＮ
ＥＲＧＶＬＡＳＧＲＰＣＥＰＧＣＲＴＦＦＲＶＣＬＫＨＦＱＡＶＶＳＰＧＰＣＴＦＧＴＶ
ＳＴＰＶＬＧＴＮＳＦＡＶＲＤＤＳＳＧＧＧＲＮＰＬＱＬＰＦＮＦＴＷＰＧＴＦＳＬＩＩ
ＥＡＷＨＡＰＧＤＤＬＲＰＥＡＬＰＰＤＡＬＩＳＫＩＡＩＱＧＳＬＡＶＧＱＮＷＬＬＤＥ
ＱＴＳＴＬＴＲＬＲＹＳＹＲＶＩＣＳＤＮＹＹＧＤＮＣＳＲＬＣＫＫＲＮＤＨＦＧＨＹＶ
ＣＱＰＤＧＮＬＳＣＬＰＧＷＴＧＥＹＣＱＱＰＩＣＬＳＧＣＨＥＱＮＧＹＣＳＫＰＡＥＣ
ＬＣＲＰＧＷＱＧＲＬＣＮＥＣＩＰＨＮＧＣＲＨＧＴＣＳＴＰＷＱＣＴＣＤＥＧＷＧＧＬ
ＦＣＤＱＤＬＮＹＣＴＨＨＳＰＣＫＮＧＡＴＣＳＮＳＧＱＲＳＹＴＣＴＣＲＰＧＹＴＧＶ
ＤＣＥＬＥＬＳＥＣＤＳＮＰＣＲＮＧＧＳＣＫＤＱＥＤＧＹＨＣＬＣＰＰＧＹＹＧＬＨＣ
ＥＨＳＴＬＳＣＡＤＳＰＣＦＮＧＧＳＣＲＥＲＮＱＧＡＮＹＡＣＥＣＰＰＮＦＴＧＳＮＣ
ＥＫＫＶＤＲＣＴＳＮＰＣＡＮＧＧＱＣＬＮＲＧＰＳＲＭＣＲＣＲＰＧＦＴＧＴＹＣＥＬ
ＨＶＳＤＣＡＲＮＰＣＡＨＧＧＴＣＨＤＬＥＮＧＬＭＣＴＣＰＡＧＦＳＧＲＲＣＥＶＲＴ
ＳＩＤＡＣＡＳＳＰＣＦＮＲＡＴＣＹＴＤＬＳＴＤＴＦＶＣＮＣＰＹＧＦＶＧＳＲＣＥＦ
ＰＶＧＬＰＰＳＦＰＷＶＡＶＳＬＧＶＧＬＡＶＬＬＶＬＬＧＭＶＡＶＡＶＲＱＬＲＬＲＲ
ＰＤＤＧＳＲＥＡＭＮＮＬＳＤＦＱＫＤＮＬＩＰＡＡＱＬＫＮＴＮＱＫＫＥＬＥＶＤＣＧ
ＬＤＫＳＮＣＧＫＱＱＮＨＴＬＤＹＮＬＡＰＧＰＬＧＲＧＴＭＰＧＫＦＰＨＳＤＫＳＬＧ
ＥＫＡＰＬＲＬＨＳＥＫＰＥＣＲＩＳＡＩＣＳＰＲＤＳＭＹＱＳＶＣＬＩＳＥＥＲＮＥＣ
ＶＩＡＴＥＶ
配列番号６。
【０３０１】
１．１　ＤＬＬ３、ＤＬＬ１及びＤＬＬ４を高発現する細胞株の構築
配列番号１～６を含むｐＣＤＨレンチウイルス発現ベクタープラスミド（ＧＥＮＥＷＩＺ社で合成）、ｐＣＤＨプラスミドをそれぞれｐＶＳＶＧ、ｐＣＭＶレンチウイルスパッケージングベクターと共に、Ｌｉｐｏｆｅｃｔａｍｉｎｅ　３０００（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｌ３０００００１５）トランスフェクション試薬により２９３Ｔ細胞（中国科学院細胞バンク、ＧＮＨｕ１７）にトランスフェクションし、ウイルスを含む培地上清を収集し、ろ過して超高速で遠心分離し、上清を捨てた後、０．２　ｍＬの滅菌ＰＢＳにより再懸

濁した。濃縮されたウイルスでそれぞれチャイニーズハムスター卵巣細胞ＣＨＯ－ｓ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｒ８０００７）、ＤＭＳ５３（ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－２０６２）とＨ８２（ＡＴＣＣ、ＨＴＢ－１７５）を感染させ、ピューロマイシンにより２～３週間スクリーニングし、ＦＡＣＳシングルセルソーティングを行った。選び出されたモノクローナル細胞株を拡大培養し、凍結保存した。

【０３０２】

１．２　抗原の調製

ヒトＤＬＬ３（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｑ９ＮＹＪ７）、カニクイザルＤＬＬ３（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ａ０Ａ２Ｋ５ＷＳＲ４）及びマウスＤＬＬ３（Ｕｎｉｐｒｏｔ、Ｏ８８５１６）配列をテンプレートとして、異なるタグを含むＤＬＬ３　ＥＣＤ融合タンパク質を設計し、それぞれｐＴＴ５ベクターにクローニングし、２９３Ｅ細胞で発現した後、抗原を得た。関連するタンパク質のアミノ酸配列は、以下の通りである：

１）Ｈｉｓ－ｈＤＬＬ３（ＥＣＤ）：

【化２９】

ＭＥＴＤＴＬＬＬＷＶＬＬＬＷＶＰＧＳＴＧＨＨＨＨＨＨＨＨＨＨＧＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＡＧＶＦＥＬＱＩＨＳＦＧＰＧＰＧＰＧＡＰＲＳＰＣＳＡＲＬＰＣＲＬＦＦＲＶＣＬＫＰＧＬＳＥＥＡＡＥＳＰＣＡＬＧＡＡＬＳＡＲＧＰＶＹＴＥＱＰＧＡＰＡＰＤＬＰＬＰＤＧＬＬＱＶＰＦＲＤＡＷＰＧＴＦＳＦＩＩＥＴＷＲＥＥＬＧＤＱＩＧＧＰＡＷＳＬＬＡＲＶＡＧＲＲＲＬＡＡＧＧＰＷＡＲＤＩＱＲＡＧＡＷＥＬＲＦＳＹＲＡＲＣＥＰＰＡＶＧＴＡＣＴＲＬＣＲＰＲＳＡＰＳＲＣＧＰＧＬＲＰＣＡＰＬＥＤＥＣＥＡＰＬＶＣＲＡＧＣＳＰＥＨＧＦＣＥＱＰＧＥＣＲＣＬＥＧＷＴＧＰＬＣＴＶＰＶＳＴＳＳＣＬＳＰＲＧＰＳＳＡＴＴＧＣＬＶＰＧＰＧＰＣＤＧＮＰＣＡＮＧＧＳＣＳＥＴＰＲＳＦＥＣＴＣＰＲＧＦＹＧＬＲＣＥＶＳＧＶＴＣＡＤＧＰＣＦＮＧＧＬＣＶＧＧＡＤＰＤＳＡＹＩＣＨＣＰＰＧＦＱＧＳＮＣＥＫＲＶＤＲＣＳＬＱＰＣＲＮＧＧＬＣＬＤＬＧＨＡＬＲＣＲＣＲＡＧＦＡＧＰＲＣＥＨＤＬＤＤＣＡＧＲＡＣＡＮＧＧＴＣＶＥＧＧＧＡＨＲＣＳＣＡＬＧＦＧＧＲＤＣＲＥＲＡＤＰＣＡＡＲＰＣＡＨＧＧＲＣＹＡＨＦＳＧＬＶＣＡＣＡＰＧＹＭＧＡＲＣＥＦＰＶＨＰＤＧＡＳＡＬＰＡＡＰＰＧＬＲＰＧＤＰＱＲＹＬ

配列番号７

注記：点線部はシグナルペプチド配列であり、一重下線部はｈｉｓタグ及びリンカーであり、二重下線部はＤＬＬ３細胞外領域である。

【０３０３】

２）Ｆｃ－ｈＤＬＬ３（ＥＣＤ）：

【化３０】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSAG
VFELQIHSFGPGPGPGAPRSPCSARLPCRLFFRVCLKPGLSEEA
AESPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFRDAW
PGTFSFIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWAR
DIQRAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGL
RPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLC
TVPVSTSSCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSET
PRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSA
YICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCR
AGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGR
DCRERADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPV
HPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYL

配列番号８

注記：点線部はシグナルペプチド配列であり、一重下線部はＦｃタグ及びリンカーであり、二重下線部はＤＬＬ３細胞外領域である。

【０３０４】

３）ｈＤＬＬ３（ＥＣＤ）－ｓｔｒｅｐ　ｔｗｉｎ：

【化３１】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP
CSARLPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQ
PGAPAPDLPLPDGLLQVPFRDAWPGTFSFIIETWREELGDQIGG
PAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCEPP
AVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCS
PEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTG
CLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSG
VTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRC
SLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACA
NGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHGGRCY
AHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQ
RYLWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK

配列番号９

注記：点線部はシグナルペプチド配列であり、二重下線部はＤＬＬ３細胞外領域であり、一重下線部はｓｔｒｅｐ　ｔｗｉｎタグである。

【０３０５】

４）ｃｙｎｏＤＬＬ３（ＥＣＤ）－ｓｔｒｅｐ　ｔｗｉｎ：

【化３２】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSP
CSARGPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQ
PEAPAPDLPLPNGLLQVPFRDAWPGTFSLIIETWREELGDQIGG
PAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCELP
AVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCS
LEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCMVPVSTSSCLGLRGPSSTTTG
CLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSG
VTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRC
SLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACA
NGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRNCRERADPCAARPCAHGGRCY
AHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGVSALPAAPPGLRPGDPQ
RYLWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK

配列番号１０

注記：点線部はシグナルペプチド配列であり、二重下線部はＤＬＬ３細胞外領域であり、一重下線部はｓｔｒｅｐ　ｔｗｉｎタグである。

【０３０６】

５）ｍｏｕＤＬＬ３（ＥＣＤ）－ｓｔｒｅｐ　ｔｗｉｎ：

【化３３】

METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGVFELQIHSFGPGPGLGTPRSP
CNARGPCRLFFRVCLKPGVSQEATESLCALGAALSTSVPVYTEH
PGESAAALPLPDGLVRVPFRDAWPGTFSLVIETWREQLGEHAGG
PAWNLLARVVGRRRLAAGGPWARDVQRTGTWELHFSYRARCEPP
AVGAACARLCRSRSAPSRCGPGLRPCTPFPDECEAPSVCRPGCS
PEHGYCEEPDECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLNSRVPGPASTG
CLLPGPGPCDGNPCANGGSCSETSGSFECACPRGFYGLRCEVSG
VTCADGPCFNGGLCVGGEDPDSAYVCHCPPGFQGSNCEKRVDRC
SLQPCQNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACA
NGGTCVEGGGSRRCSCALGFGGRDCRERADPCASRPCAHGGRCY
AHFSGLVCACAPGYMGVRCEFAVRPDGADAVPAAPRGLRQADPQ
RFLWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK

配列番号１１

注記：点線部はシグナルペプチド配列であり、二重下線部はＤＬＬ３細胞外領域であり、一重下線部はｓｔｒｅｐ　ｔｗｉｎタグである。

【０３０７】

実施例２：マウス抗ヒトＤＬＬ３モノクローナル抗体の調製

１．　免疫

抗ヒトＤＬＬ３モノクローナル抗体は、免疫マウスにより産生された。実験には、雌で６～８週齢のＳＪＬマウス、（上海ＳＬＡＣ実験動物有限公司、動物生産ライセンス番号：ＳＣＸＫ（滬）２０１７－０００５）が使用された。飼育環境：ＳＰＦグレード。マウスを購入した後、実験室環境で１週間飼育し、１２／１２時間で明／暗周期を調節し、温度が２０～２５℃、湿度が４０～６０％である。環境に馴れたマウスを、以下の計画で免疫した。

【０３０８】

免疫計画：

１群目のマウスの免疫抗原は、Ｈｉｓ－ｈＤＬＬ３（ＥＣＤ）（配列番号７）である。

アジュバントＴｉｔｅｒＭａｘ（登録商標） Ｇｏｌｄ Ａｄｊｕｖａｎｔ（Ｓｉｇｍａ Ｃａｔ Ｎｏ． Ｔ２６８４）及びＴｈｅｒｍｏ Ｉｍｊｅｃｔ（登録商標） Ａｌｕｍ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｃａｔ Ｎｏ． ７７１６１）で交差免疫した。アジュバントＴｉｔｅｒＭａｘ（登録商標） Ｇｏｌｄ Ａｄｊｕｖａｎｔに対する抗原の比率は１：１であり、アジュバントＴｈｅｒｍｏ Ｉｍｊｅｃｔ（登録商標） Ａｌｕｍに対する抗原の比率は３：１であり、５０ μｇ／匹／回（初回免疫）、２５ μｇ／匹／回（追加免疫）である。抗原の乳化後に接種し、免疫時間は、０、７、１４、２１日目である。７、２１日目に採血し、ＥＬＩＳＡ方法でマウス血清中の抗体価を決定した。４回目の免疫後に、血清中の抗体価が高くて安定する傾向があるマウスを選択して脾細胞の融合を行った。脾細胞融合の３日前に追加免疫を行い、生理食塩水で調製された抗原溶液を２５ μｇ／匹で腹膜内（ｉ．ｐ．）に注射した。

【０３０９】

２群目のマウスの免疫抗原は、ＤＬＬ３ ＣＨＯ－ｓ及びＦｃ－ｈＤＬＬ３（ＥＣＤ）（配列番号８）であり、免疫方法は、細胞とタンパク質抗原の交互免疫である。ＤＬＬ３ ＣＨＯ－ｓ細胞の初回免疫前に、予めＴｉｔｅｒＭａｘ（登録商標） Ｇｏｌｄ Ａｄｊｕｖａｎｔ（Ｓｉｇｍａ Ｃａｔ Ｎｏ． Ｔ２６８４）を０．１ ｍＬ／匹でマウスの腹膜内に注射し、半時間後、生理食塩水で10^8／ｍＬの濃度に希釈された細胞液０．１ｍＬを各マウスの腹膜内に注射した。細胞を均一に吹き散らした後、０、１４、２８、４２日目に接種した。Ｆｃ－ｈＤＬＬ３（ＥＣＤ）抗原を、アジュバントＴｉｔｅｒＭａｘ（登録商標） Ｇｏｌｄ Ａｄｊｕｖａｎｔ（Ｓｉｇｍａ Ｃａｔ Ｎｏ． Ｔ２６８４）及びＴｈｅｒｍｏ Ｉｍｊｅｃｔ（登録商標） Ａｌｕｍ（Ｔｈｅｒｍｏ Ｃａｔ Ｎｏ． ７７１６１）で交差免疫した。アジュバントＴｉｔｅｒＭａｘ（登録商標） Ｇｏｌｄ Ａｄｊｕｖａｎｔに対する抗原の比率は１：１であり、アジュバントＴｈｅｒｍｏ Ｉｍｊｅｃｔ（登録商標） Ａｌｕｍに対する抗原の比率は３：１であり、５０ μｇ／匹／回（初回免疫）、２５ μｇ／匹／回（追加免疫）である。ｈＤＬＬ３－Ｆｃの免疫時間は、７、２１、３５、４９日目である。１４、３５、４９日目に採血し、ＥＬＩＳＡ法でマウス血清中の抗体価を決定した。８回目の免疫後に、血清中の抗体価が高くて安定する傾向があるマウスを選択して脾細胞の融合を行った。脾細胞融合の３日前に追加免疫を行い、生理食塩水で調製されたｈＤＬＬ３－Ｆｃタンパク質抗原溶液を５０ μｇ／匹で腹膜内（ｉ．ｐ．）に注射した。

【０３１０】

２． 脾細胞の融合

最適化された電気融合方法により、脾リンパ球を骨髄腫細胞Ｓｐ２／０細胞（ＡＴＣＣ（登録商標） ＣＲＬ－８２８７（登録商標））と融合してハイブリドーマ細胞を得た。

【０３１１】

融合したハイブリドーマ細胞を３～４×10^5／ｍＬの密度で完全培地（２０％のＦＢＳ、１×ＨＡＴ、１×ＯＰＩを含むＩＭＤＭ培地）を再懸濁し、１５０ μＬ／ウェルで９６ウェルプレートに接種した。３７℃、５％CO_2で３～４日間インキュベートした後、上清を除去し、２００ μＬ／ウェルのＨＴ完全培地（２０％のＦＢＳ、１×ＨＴと１×ＯＰＩを含むＩＭＤＭ培地）を加え、３７℃、５％CO_2で３日間培養した後、スクリーニング検出を行った。

【０３１２】

３． ハイブリドーマ細胞のスクリーニング及び抗体の配列決定

ハイブリドーマ細胞の成長密度によって、ＤＬＬ３タンパク質に結合するＥＬＩＳＡ方法及びＤＬＬ３ ＣＨＯ－ｓ細胞に結合するＦＡＣＳ方法によりハイブリドーマ培養上清の検出を行った。ヒトＤＬＬ３タンパク質、サルＤＬＬ３タンパク質及びＤＬＬ３ ＣＨＯ－ｓ細胞に結合すると共に、野生型ＣＨＯ－ｓ細胞に結合しないクローンを選択し、単細胞クローンが得られるまで、適時に凍結保存、増幅、品種保存及び１～２回のサブクローニングを行った。上記実験によりスクリーニングしてハイブリドーマクローンｍＡｂ１００及びｍＡｂ６を得た。

【０３１３】
ハイブリドーマクローンを拡大培養し、ＲＮＡを抽出し、ｍｏｕｓｅ－Ｉｇの縮重プライマーを利用して反転写増幅（ＲＴ－ＰＣＲ）を行った結果、抗体の可変領域配列を得た。

【０３１４】
ｍＡｂ６重鎖可変領域：
【化３４】
ＥＶＱＬＱＱＳＧＰＶＬＶＫＰＧＡＳＶＫＭＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶＫＱＳＨＧＫＳＬＥＷＩＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＫＡＴＬＴＶＤＫＳＳＮＴＡＹＭＥＬＮＳＬＴＳＥＤＳＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶＳＳ

配列番号１２
ｍＡｂ６軽鎖可変領域：
【化３５】
ＤＩＬＭＴＱＳＰＳＳＭＳＶＳＬＧＤＴＶＳＩＴＣＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧＷＬＱＱＫＰＧＫＳＦＫＧＬＩＹＨＧＡＮＬＥＤＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＡＤＹＳＬＴＩＳＳＬＥＳＥＤＦＡＤＹＹＣＶＱＹＡＱＦＰＹＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ

配列番号１３
ｍＡｂ１００重鎖可変領域：
【化３６】
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＫＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＧＭＨＷＩＲＱＡＰＥＫＧＬＥＷＶＡＹＩＳＳＧＳＳＴＩＨＹＡＤＴＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＴＬＦＬＱＭＴＳＬＲＳＥＤＴＡＭＹＹＣＡＳＰＬＹＹＹＧＲＳＹＮＡＶＡＹＷＧＱＧＴＳＶＴＶＳＳ

配列番号１４
ｍＡｂ１００軽鎖可変領域：
【化３７】
ＤＩＱＭＮＱＳＰＳＳＬＳＡＳＬＧＤＴＩＴＩＴＣＨＡＳＱＮＩＮＶＷＬＳＷＹＱＱＫＰＧＮＩＰＫＬＬＩＹＫＡＳＤＬＨＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＧＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＩＡＴＹＹＣＱＱＧＱＳＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＬＥＩＫ

配列番号１５。
【０３１５】

【表４】

表４．　マウスＨ６及びＨ１００抗体のＣＤＲ配列

抗体	名称	配列	番号
ｍＡｂ６	ＨＣＤＲ１	ＤＹＹＭＮ	配列番号１６
	ＨＣＤＲ２	ＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧ	配列番号１７
	ＨＣＤＲ３	ＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹ	配列番号１８
	ＬＣＤＲ１	ＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧ	配列番号１９
	ＬＣＤＲ２	ＨＧＡＮＬＥＤ	配列番号２０
	ＬＣＤＲ３	ＶＱＹＡＱＦＰＹＴ	配列番号２１
ｍＡｂ１００	ＨＣＤＲ１	ＤＳＧＭＨ	配列番号２２
	ＨＣＤＲ２	ＹＩＳＳＧＳＳＴＩＨＹＡＤＴＶＫＧ	配列番号２３
	ＨＣＤＲ３	ＰＬＹＹＹＧＲＳＹＮＡＶＡＹ	配列番号２４
	ＬＣＤＲ１	ＨＡＳＱＮＩＮＶＷＬＳ	配列番号２５
	ＬＣＤＲ２	ＫＡＳＤＬＨＴ	配列番号２６
	ＬＣＤＲ３	ＱＱＧＱＳＹＰＬＴ	配列番号２７

注記：ＶＨ／ＶＬのＣＤＲのアミノ酸残基は、Ｋａｂａｔ番号付けシステムによって決定されて注釈されている。

【０３１６】

マウス抗体の重鎖可変領域と軽鎖可変領域を、配列番号２８で示されるヒトＩｇＧ１重鎖定常領域及び配列番号２９で示されるκ軽鎖定常領域を含むｐＴＴ５ベクタープラスミドにそれぞれクローニングした後、ＨＥＫ２９３細胞にトランスフェクションし、抗ＤＬＬ３のキメラ抗体Ｍ６ＣＨＩとＭ１００ＣＨＩを得た。

【０３１７】

ヒトＩｇＧ１重鎖定常領域：

ＡＳＴＫＧＰＳＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ

配列番号２８

ヒトκ軽鎖定常領域：

ＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ

配列番号２９。

【０３１８】

実施例３：マウス抗ＤＬＬ３モノクローナル抗体のヒト化

Ｋａｂａｔヒト抗体重鎖・軽鎖可変領域生殖細胞系遺伝子データベースをアラインメントし、それぞれ相同性の高い重鎖・軽鎖可変領域生殖細胞系遺伝子をテンプレートとして

選択し、マウス抗体のＣＤＲを対応するヒトテンプレートにそれぞれグラフト（ｇｒａｆｔ）し、ＦＲ１－ＣＤＲ１－ＦＲ２－ＣＤＲ２－ＦＲ３－ＣＤＲ３－ＦＲ４という順の可変領域配列を形成した。可変領域のアミノ酸を復帰変異させ、さらに定常領域と（例えば、配列番号２８で示されるヒトＩｇＧ１重鎖定常領域及び配列番号２９で示されるヒトκ軽鎖定常領域と）組換え、全長抗体を得た。

【０３１９】

ｍＡｂ６抗体のヒト生殖細胞系軽鎖テンプレートはＩＧＫＶ１－１６＊０１であり、ヒト生殖細胞系重鎖テンプレートはＩＧＨＶ１－３＊０１、ＩＧＨＶ７－４－１＊０２とＩＧＨＶ３－７３＊０１である。Ｈ１００抗体のヒト生殖細胞系軽鎖テンプレートはＩＧＫＶ１－２７＊０１であり、ヒト生殖細胞系重鎖テンプレートはＩＧＨＶ３－１１＊０１である。

【０３２０】

さらに、ｍＡｂ１００重鎖可変領域のＨＣＤＲ３：ＰＬＹＹＹＧＲＳＹＮＡＶＡＹ（配列番号２４）中の４番目のアミノ酸残基をＹからＨに変異し、１１番目をＡからＧに変異し、新たな

【化３８】

ＨＣＤＲ３：ＰＬＹ<u>Ｈ</u>ＹＧＲＳＹＮＡＶＡＹ（配列番号３０）

ＨＣＤＲ３：ＰＬＹ<u>Ｈ</u>ＹＧＲＳＹＮＡＶＡＹ（配列番号３０）

と

【化３９】

ＰＬＹＹＹＧＲＳＹＮ<u>Ｇ</u>ＶＡＹ（配列番号３１）

ＰＬＹＹＹＧＲＳＹＮ<u>Ｇ</u>ＶＡＹ（配列番号３１）

を得た。

【０３２１】

【表５－１】

表５．　ｍＡｂ６及びｍＡｂ１００抗体のヒト化テンプレート及び対応する点変異

	ＶＬ		ＶＨ	
ｈＡｂ６	ＶＬ１	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－１６＊０１）＋Ｆ３６Ｌ，Ｓ４６Ｇ	ＶＨ１	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ１－３＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｒ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ
	ＶＬ２	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－１６＊０１）＋Ｆ３６Ｌ，Ｓ４６Ｇ，Ｔ６９Ａ，Ｆ７１Ｙ	ＶＨ２	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ１－３＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｉ６９Ｌ，Ｒ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｓ７６Ｎ
	ＶＬ３	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－１６＊０１）＋Ｆ３６Ｌ，Ａ４３Ｓ，Ｐ４４Ｆ，Ｓ４６Ｇ，Ｔ６９Ａ，Ｆ７１Ｙ	ＶＨ３	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ１－３＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｍ４８Ｉ，Ｖ６７Ａ，Ｉ６９Ｌ，Ｒ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｓ７６Ｎ
	ＶＬ４	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－１６＊０１）＋Ｆ３６Ｌ，Ｓ４６Ｇ，Ｔ６９Ａ，Ｆ７１Ｙ，Ｔ８５Ｄ	ＶＨ４	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ１－３＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｉ６９Ｌ，Ｒ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｓ７６Ｎ，Ｑ４３Ｋ
	ＶＬ５	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－１６＊０１）	ＶＨ５	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）＋Ｑ１Ｅ，Ｌ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｆ６９Ｌ
			ＶＨ６	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）＋Ｑ１Ｅ，Ｆ６９Ｌ，Ｌ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｖ７５Ｓ，Ｓ７６Ｎ

【表５－２】

			VH7	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－７３＊０１）＋Ｆ２７Ｙ，Ｓ３０Ｔ，Ｉ６９Ｌ，Ｒ７１Ｖ，Ｄ７３Ｋ，Ｔ９３Ａ
			VH8	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ１－３＊０１）
			VH9	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）
			VH10	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－７３＊０１）
			VH11	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）＋Ｑ１Ｅ，Ｆ６９Ｌ，Ｌ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｖ７５Ｓ，Ｓ７６Ｎ，Ｒ３８Ｋ
			VH12	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）＋Ｑ１Ｅ，Ｆ６９Ｌ，Ｌ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｖ７５Ｓ，Ｓ７６Ｎ，Ｖ６８Ａ
			VH13	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）＋Ｑ１Ｅ，Ｆ６９Ｌ，Ｌ７１Ｖ，Ｔ７３Ｋ，Ｖ７５Ｓ，Ｓ７６Ｎ，Ｒ３８Ｋ，Ｖ６８Ａ
ｈＡｂ１００	ＶＬ１	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－２７＊０１）	VH1	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－１１＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｒ９４Ｓ
	ＶＬ２	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＫＶ１－２７＊０１）＋Ｖ４３Ｉ	VH2	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－１１＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｓ４９Ａ，Ｒ９４Ｓ
			VH3	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－１１＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｓ４９Ａ，Ｒ９４Ｓ，Ｙ９８Ｈ
			VH4	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－１１＊０１）＋Ｑ１Ｅ，Ｓ４９Ａ，Ｒ９４Ｓ，Ａ１００ｅＧ
			VH5	Ｇｒａｆｔ（ＩＧＨＶ３－１１＊０１）

注記：表中のＡ１００Ｇを例として、ｋａｂａｔ番号による１００Ｅ番目のＡがＧに変異されたことを示す。

【０３２２】

得られたヒト化抗体可変領域の配列は、以下の通りである：

ｈＡｂ６　ＶＨ１（Ｑ１Ｅ，　Ｒ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ）

【化４０】

ＥＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶＲＱＡＰＧＱＲＬＥＷＭＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＶＴＩＴＶＤＫＳＡＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号３２
ｈＡｂ６　ＶＨ２（Ｑ１Ｅ，　Ｉ６９Ｌ，　Ｒ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｓ７６Ｎ）
【化４１】

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ
RLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRVTLTVDKSANTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

配列番号３３
ｈＡｂ６　ＶＨ３（Ｑ１Ｅ，　Ｍ４８Ｉ，　Ｖ６７Ａ，　Ｉ６９Ｌ，　Ｒ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｓ７６Ｎ）
【化４２】

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ
RLEWIGIINPYSGVTIYNHKFKGRATLTVDKSANTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

配列番号３４
ｈＡｂ６　ＶＨ４（Ｑ１Ｅ，　Ｑ４３Ｋ，Ｉ６９Ｌ，　Ｒ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｓ７６Ｎ）
【化４３】

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGK
RLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRVTLTVDKSANTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

配列番号３５
ｈＡｂ６　ＶＨ５（Ｑ１Ｅ，　Ｌ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｆ６９Ｌ）
【化４４】

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ
GLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRFVLSVDKSVSTAYLQISSLK
AEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

配列番号３６
ｈＡｂ６　ＶＨ６（Ｑ１Ｅ，　Ｆ６９Ｌ，　Ｌ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｖ７５Ｓ，　Ｓ７６Ｎ）
【化４５】

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ
GLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRFVLSVDKSSNTAYLQISSLK
AEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

配列番号３７
ｈＡｂ６　ＶＨ７（Ｆ２７Ｙ，　Ｓ３０Ｔ，　Ｉ６９Ｌ，　Ｒ７１Ｖ，　Ｄ７３Ｋ，Ｔ９３Ａ）
【化４６】

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTDYYMNWVRQASGK
GLEWVGIINPYSGVTIYNHKFKGRFTLSVDKSKNTAYLQMNSLK
TEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

配列番号３８
ｈＡｂ６ＶＨ８　（Ｇｒａｆｔ　ＩＧＨＶ１－３＊０１）
【化４７】
ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶＲＱＡＰＧＱ
ＲＬＥＷＭＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＶＴＩＴＲＤＴＳＡＳＴＡＹＭＥＬＳＳＬＲ
ＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号３９
ｈＡｂ６ＶＨ９　（Ｇｒａｆｔ　ＩＧＨＶ７－４－１＊０２）
【化４８】
ＱＶＱＬＶＱＳＧＳＥＬＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶＲＱＡＰＧＱ
ＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＦＶＦＳＬＤＴＳＶＳＴＡＹＬＱＩＳＳＬＫ
ＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号４０
ｈＡｂ６ＶＨ１０　（Ｇｒａｆｔ　ＩＧＨＶ３－７３＊０１）
【化４９】
ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＱＰＧＧＳＬＫＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＹＹＭＮＷＶＲＱＡＳＧＫ
ＧＬＥＷＶＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＦＴＩＳＲＤＤＳＫＮＴＡＹＬＱＭＮＳＬＫ
ＴＥＤＴＡＶＹＹＣＴＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号４１
ｈＡｂ６ＶＨ１１（Ｑ１Ｅ，　Ｆ６９Ｌ，　Ｌ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，Ｖ７５Ｓ，　Ｓ７６Ｎ，Ｒ３８Ｋ）
【化５０】
ＥＶＱＬＶＱＳＧＳＥＬＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶ**Ｋ**ＱＡＰＧＱ
ＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＦＶ**Ｌ**Ｓ**Ｖ**Ｄ**Ｋ**Ｓ**ＳＮ**ＴＡＹＬＱＩＳＳＬＫ
ＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号４２
ｈＡｂ６ＶＨ１２（Ｑ１Ｅ，Ｖ６８Ａ，Ｆ６９Ｌ，　Ｌ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｖ７５Ｓ，　Ｓ７６Ｎ）
【化５１】
ＥＶＱＬＶＱＳＧＳＥＬＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶＲＱＡＰＧＱ
ＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＦ**ＡＬ**Ｓ**Ｖ**Ｄ**Ｋ**Ｓ**ＳＮ**ＴＡＹＬＱＩＳＳＬＫ
ＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号４３
ｈＡｂ６ＶＨ１３（Ｑ１Ｅ，　Ｒ３８Ｋ，Ｖ６８Ａ，Ｆ６９Ｌ，　Ｌ７１Ｖ，　Ｔ７３Ｋ，　Ｖ７５Ｓ，　Ｓ７６Ｎ）
【化５２】
ＥＶＱＬＶＱＳＧＳＥＬＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＤＹＹＭＮＷＶ**Ｋ**ＱＡＰＧＱ
ＧＬＥＷＭＧＩＩＮＰＹＳＧＶＴＩＹＮＨＫＦＫＧＲＦ**ＡＬ**Ｓ**Ｖ**Ｄ**Ｋ**Ｓ**ＳＮ**ＴＡＹＬＱＩＳＳＬＫ
ＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＱＤＳＬＬＤＹＡＭＤＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号４４
ｈＡｂ６　ＶＬ１（Ｆ３６Ｌ，　Ｓ４６Ｇ）
【化５３】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧＷＬＱＱＫＰＧＫＡＰＫＧＬＩＹＨＧＡＮＬＥＤＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＶＱＹＡＱＦＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

ｈＡｂ６　ＶＬ２　（Ｆ３６Ｌ，　Ｓ４６Ｇ，　Ｔ６９Ａ，　Ｆ７１Ｙ）
【化５４】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧＷＬＱＱＫＰＧＫＡＰＫＧＬＩＹＨＧＡＮＬＥＤＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＡＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＶＱＹＡＱＦＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

ｈＡｂ６　ＶＬ３（Ｆ３６Ｌ，　Ａ４３Ｓ，　Ｐ４４Ｆ，　Ｓ４６Ｇ，　Ｔ６９Ａ，Ｆ７１Ｙ）
【化５５】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧＷＬＱＱＫＰＧＫＳＦＫＧＬＩＹＨＧＡＮＬＥＤＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＡＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＶＱＹＡＱＦＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

配列番号４７
ｈＡｂ６　ＶＬ４（Ｆ３６Ｌ，　Ｓ４６Ｇ，　Ｔ６９Ａ，　Ｆ７１Ｙ，　Ｔ８５Ｄ）
【化５６】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧＷＬＱＱＫＰＧＫＡＰＫＧＬＩＹＨＧＡＮＬＥＤＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＡＤＹＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＤＹＹＣＶＱＹＡＱＦＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

配列番号４８
ｈＡｂ６ＶＬ５　（Ｇｒａｆｔ　ＩＧＫＶ１－１６＊０１）
【化５７】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＨＡＳＱＧＩＳＧＮＭＧＷＦＱＱＫＰＧＫＡＰＫＳＬＩＹＨＧＡＮＬＥＤＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹＣＶＱＹＡＱＦＰＹＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ

配列番号４９
ｈＡｂ１００　ＶＨ１（Ｑ１Ｅ，Ｒ９４Ｓ）
【化５８】

ＥＶＱＬＶＥＳＧＧＧＬＶＫＰＧＧＳＬＲＬＳＣＡＡＳＧＦＴＦＳＤＳＧＭＨＷＩＲＱＡＰＧＫＧＬＥＷＶＳＹＩＳＳＧＳＳＴＩＨＹＡＤＴＶＫＧＲＦＴＩＳＲＤＮＡＫＮＳＬＹＬＱＭＮＳＬＲＡＥＤＴＡＶＹＹＣＡＳＰＬＹＹＹＧＲＳＹＮＡＶＡＹＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ

配列番号５０
ｈＡｂ１００　ＶＨ２（Ｑ１Ｅ，　Ｓ４９Ａ，　Ｒ９４Ｓ）

【化５９】

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDSGMHWIRQAPGK
GLEWVAYISSGSSTIHYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR
AEDTAVYYCASPLYYYGRSYNAVAYWGQGTTVTVSS

配列番号５１
ｈＡｂ１００　ＶＨ３（Ｑ１Ｅ，　Ｓ４９Ａ，　Ｒ９４Ｓ，Ｙ９８Ｈ）
【化６０】

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDSGMHWIRQAPGK
GLEWVAYISSGSSTIHYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR
AEDTAVYYCASPLYHYGRSYNAVAYWGQGTTVTVSS

配列番号５２
ｈＡｂ１００　ＶＨ４（Ｑ１Ｅ，　Ｓ４９Ａ，　Ｒ９４Ｓ，　Ａ１００ｅＧ）
【化６１】

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDSGMHWIRQAPGK
GLEWVAYISSGSSTIHYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR
AEDTAVYYCASPLYYYGRSYNGVAYWGQGTTVTVSS

配列番号５３
ｈＡｂ１００ＶＨ５　（Ｇｒａｆｔ　ＩＧＨＶ３－１１＊０１）
【化６２】

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDSGMHWIRQAPGK
GLEWVSYISSGSSTIHYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR
AEDTAVYYCARPLYYYGRSYNAVAYWGQGTTVTVSS

配列番号５４
ｈＡｂ１００　ＶＬ１（Ｇｒａｆｔ　ＩＧＫＶ１－２７＊０１）
【化６３】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINVWLSWYQQKPGKV
PKLLIYKASDLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYY
CQQGQSYPLTFGGGTKVEIK

配列番号５５
ｈＡｂ１００　ＶＬ２（Ｖ４３Ｉ）
【化６４】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINVWLSWYQQKPGKI
PKLLIYKASDLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYY
CQQGQSYPLTFGGGTKVEIK

配列番号５６。
【０３２３】
注記：一重下線部はＣＤＲ領域であり、二重下線部は変異部位である。
【０３２４】

【表６】

表６．　ｈＡｂ１００抗体のＣＤＲ領域の一般式

名称	配列	配列番号
ＨＣＤＲ１	ＤＳＧＭＨ	配列番号２２
ＨＣＤＲ２	ＹＩＳＳＧＳＳＴＩＨＹＡＤＴＶＫＧ	配列番号２３
ＨＣＤＲ３	ＰＬＹX_1ＹＧＲＳＹＮX_2ＶＡＹ	配列番号５７
ＬＣＤＲ１	ＨＡＳＱＮＩＮＶＷＬＳ	配列番号２５
ＬＣＤＲ２	ＫＡＳＤＬＨＴ	配列番号２６
ＬＣＤＲ３	ＱＱＧＱＳＹＰＬＴ	配列番号２７

そのうち、X_1はＹ又はＨであり、X_2はＡ又はＧである。

【０３２５】

例示的なヒト化抗体の重鎖・軽鎖可変領域の組み合わせは、以下の通りである：

【表７】

表７．　ｍＡｂ６のヒト化抗体

可変領域	ＶＬ１	ＶＬ２	ＶＬ３	ＶＬ４
ＶＨ１	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ１	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ１	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１
ＶＨ２	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ２	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ２	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ２	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ２
ＶＨ３	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ３	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ３	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ３	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ３
ＶＨ４	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ４	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ４	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ４	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ４
ＶＨ５	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ５	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ５	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ５	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ５
ＶＨ６	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ６	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ６	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ６	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ６
ＶＨ７	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ７	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ７	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ７	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ７
ＶＨ１１	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ１１	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１１	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ１１	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１１
ＶＨ１２	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ１２	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１２	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ１２	ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１２
ＶＨ１３	ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ１３	ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１３	ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ１３	ｈＡｂ６Ｌ４ＶＨ１３

注記：ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ１は、当該抗体に重鎖可変領域ｈＡｂ６ＶＨ１と軽鎖可変領域ｈＡｂ６ＶＬ１が含まれ、かつその重鎖定常領域の配列が配列番号２８、軽鎖定常領域の配列が配列番号２９であることを示し、その他はこのように類推する。

【０３２６】

【表８】

表８．　ｍＡｂ１００のヒト化抗体

可変領域	ＶＬ１	ＶＬ２
ＶＨ１	ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ１	ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ１
ＶＨ２	ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ２	ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ２
ＶＨ３	ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ３	ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ３
ＶＨ４	ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ４	ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ４

注記：ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ１は、当該抗体に重鎖可変領域ｈＡｂ１００ＶＨ１と軽鎖可変領域ｈＡｂ１００ＶＬ１が含まれ、かつその重鎖定常領域の配列が配列番号２８、軽鎖定常領域の配列が配列番号２９であることを示し、その他はこのように類推する。

【０３２７】

それぞれ上記抗体をクローニング・発現・精製し、タンパク質結合実験（試験例１）、

細胞結合実験（試験例２）、Ｂｉａｃｏｒｅ（試験例４）を行った結果、活性の良いヒト化抗体を選び出した。例示的なヒト化抗体の重鎖・軽鎖アミノ酸配列は、以下の通りである：

Ｈｕ６（ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１２とも呼ばれる）重鎖：

【化６５】

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ
GLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLK
AEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPL*
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。

配列番号５８

【０３２８】

Ｈｕ６（ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１２とも呼ばれる）軽鎖：

【化６６】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKA
PKGLIYHGANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYY
CVQYAQFPYTFGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS*
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。

配列番号５９

【０３２９】

Ｈｕ１００（ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ１とも呼ばれる）重鎖：

【化６７】

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDSGMHWIRQAPGK
GLEWVSYISSGSSTIHYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR
AEDTAVYYCASPLYYYGRSYNAVAYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSV*
FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP
EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。

配列番号６０

【０３３０】
Ｈｕ１００（ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ１とも呼ばれる）軽鎖：
【化６８】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＳＬＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＨＡＳＱＮＩＮＶＷＬＳＷＹＱＱＫＰＧＫＶＰ
ＫＬＬＩＹＫＡＳＤＬＨＴＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＤＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＶＡＴＹＹＣ
ＱＱＧＱＳＹＰＬＴＦＧＧＧＴＫＶＥＩＫ*ＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳＶ*
ＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬＳ
ＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。
配列番号６１。
【０３３１】
本開示に使用される陽性対照分子はＢＩ－７６４５３２（ＷＯ２０１９２３４２２０Ａ１を参照して構築）であり、陰性対照はＣ２５であり、その配列はそれぞれ以下の通りである：
ＢＩ－７６４５３２重鎖：
【化６９】

ＱＶＱＬＶＱＳＧＡＥＶＫＫＰＧＡＳＶＫＶＳＣＫＡＳＧＹＴＦＴＳＹＹＶＨＷＶＲＱＡＰＧＱ
ＧＬＥＷＭＶＩＩＮＰＧＧＧＴＴＳＹＡＱＫＦＬＧＲＶＴＭＴＲＤＴＳＴＮＴＶＹＭＥＬＫＳＬＲ
ＳＥＤＴＡＶＹＹＣＡＲＧＥＡＶＴＧＮＹＦＹＹＧＭＤＶＷＧＱＧＴＴＶＴＶＳＳ*ＡＳＴＫＧＰＳ*
ＶＦＰＬＡＰＳＳＫＳＴＳＧＧＴＡＡＬＧＣＬＶＫＤＹＦＰＥＰＶＴＶＳＷＮＳＧＡＬＴＳＧＶＨ
ＴＦＰＡＶＬＱＳＳＧＬＹＳＬＳＳＶＶＴＶＰＳＳＳＬＧＴＱＴＹＩＣＮＶＮＨＫＰＳＮＴＫＶＤ
ＫＫＶＥＰＫＳＣＤＫＴＨＴＣＰＰＣＰＡＰＥＬＬＧＧＰＳＶＦＬＦＰＰＫＰＫＤＴＬＭＩＳＲＴ
ＰＥＶＴＣＶＶＶＤＶＳＨＥＤＰＥＶＫＦＮＷＹＶＤＧＶＥＶＨＮＡＫＴＫＰＲＥＥＱＹＮＳＴＹ
ＲＶＶＳＶＬＴＶＬＨＱＤＷＬＮＧＫＥＹＫＣＫＶＳＮＫＡＬＰＡＰＩＥＫＴＩＳＫＡＫＧＱＰＲ
ＥＰＱＶＹＴＬＰＰＳＲＤＥＬＴＫＮＱＶＳＬＴＣＬＶＫＧＦＹＰＳＤＩＡＶＥＷＥＳＮＧＱＰＥ
ＮＮＹＫＴＴＰＰＶＬＤＳＤＧＳＦＦＬＹＳＫＬＴＶＤＫＳＲＷＱＱＧＮＶＦＳＣＳＶＭＨＥＡＬ
ＨＮＨＹＴＱＫＳＬＳＬＳＰＧＫ

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。
配列番号６２
【０３３２】
ＢＩ－７６４５３２軽鎖：
【化７０】

ＤＩＱＭＴＱＳＰＳＡＭＳＡＳＶＧＤＲＶＴＩＴＣＲＡＳＱＧＩＳＮＹＬＶＷＦＱＱＫＰＧＫＡ
ＰＫＲＬＩＹＡＶＳＳＬＹＳＧＶＰＳＲＦＳＧＳＧＳＧＴＥＦＴＬＴＩＳＳＬＱＰＥＤＦＡＴＹＹ
ＣＬＱＨＤＳＹＰＹＴＦＧＱＧＴＫＬＥＩＫ*ＲＴＶＡＡＰＳＶＦＩＦＰＰＳＤＥＱＬＫＳＧＴＡＳ*
ＶＶＣＬＬＮＮＦＹＰＲＥＡＫＶＱＷＫＶＤＮＡＬＱＳＧＮＳＱＥＳＶＴＥＱＤＳＫＤＳＴＹＳＬ
ＳＳＴＬＴＬＳＫＡＤＹＥＫＨＫＶＹＡＣＥＶＴＨＱＧＬＳＳＰＶＴＫＳＦＮＲＧＥＣ

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。
配列番号６３
【０３３３】
Ｃ２５重鎖：

【化７１】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNSWIGWFRQAPGQG
LEWIGDIYPGGGYTNYNEIFKGKATMTADTSTNTAYMELSSLRS
EDTAVYYCSRGIPGYAMDYWGQGTLVTVSS*ASTKGPSVFPLAPS*
SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK

配列番号６４

【０３３４】

Ｃ２５軽鎖：

【化７２】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTMSCKSSQSLLNSGDQKNYLTWYQ
QKPGKAPKLLIYWASTGESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE
DIATYYCQNDYSYPWTFGQGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQL*
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

配列番号６５。

注記：配列中の下線部は可変領域であり、イタリック体部は定常領域である。

【０３３５】

二、化合物の調製

本開示の実施例における具体的な条件が明示されていない実験方法は、通常、一般的な条件、又は原料や商品のメーカーに勧められた条件に従う。具体的な供給源が明示されていない試薬は、市販される通常の試薬である。

【０３３６】

化合物の構造は、核磁気共鳴（ＮＭＲ）又は質量分析（ＭＳ）によって決定される。ＮＭＲの測定には、核磁気装置Ｂｒｕｋｅｒ　ＡＶＡＮＣＥ－４００が利用され、測定溶媒が重水素化ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ－ｄ６）、重水素化クロロホルム（$CDCl_3$）、重水素化メタノール（CD_3OD）であり、内部標準がテトラメチルシラン（ＴＭＳ）であり、化学シフトが10^{-6}（ｐｐｍ）単位で示された。

【０３３７】

ＭＳの測定には、質量分析計ＦＩＮＮＩＧＡＮ　ＬＣＱＡｄ（ＥＳＩ）（Ｔｈｅｒｍｏ、型番：Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＬＣＱ　ａｄｖａｎｔａｇｅ　ＭＡＸ）が使用された。

【０３３８】

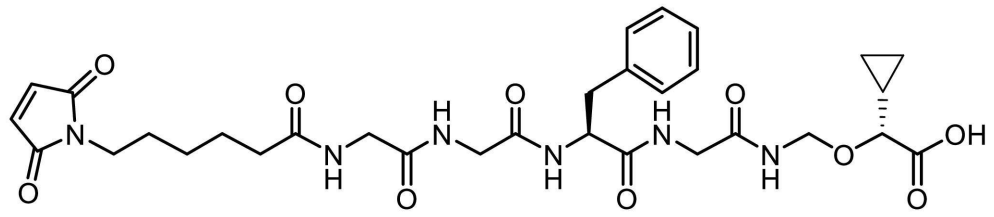
ＵＰＬＣの測定には、液体クロマトグラフ質量分析計Ｗａｔｅｒｓ　Ａｃｑｕｉｔｙ　ＵＰＬＣ　ＳＱＤが利用された。

【０３３９】

ＨＰＬＣの測定には、高速液体クロマトグラフＡｇｉｌｅｎｔ　１２００ＤＡＤ（Ｓｕｎｆｉｒｅ　Ｃ１８　１５０×４．６　ｍｍカラム）及び高速液体クロマトグラフＷａｔｅｒｓ　２６９５－２９９６（Ｇｉｍｉｎｉ　Ｃ１８　１５０×４．６　ｍｍカラム）が利用された。

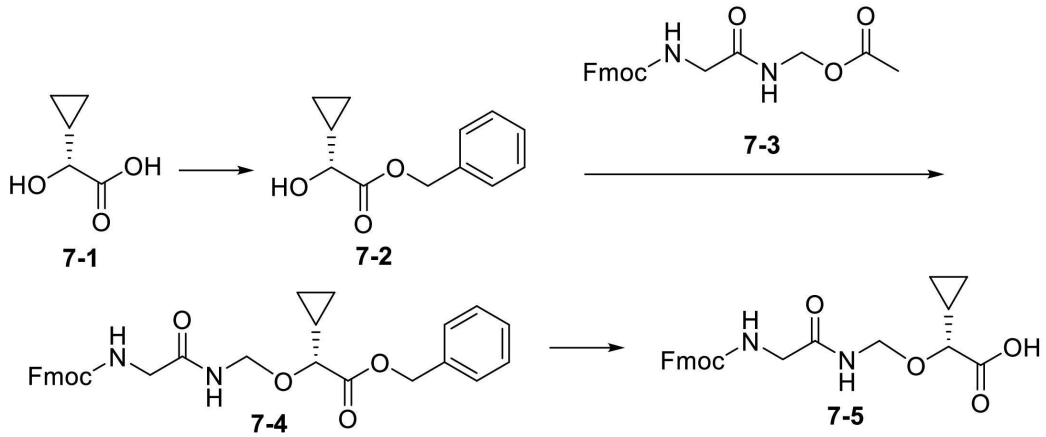
【０３４０】
ＵＶ－ＨＰＬＣの測定には、紫外線分光光度計Ｔｈｅｒｍｏ　ＮａｎｏＤｒｏｐ　２０００が利用された。
【０３４１】
薄層クロマトグラフィー用シリカゲルプレートとしては、煙台黄海ＨＳＧＦ２５４又は青島ＧＦ２５４シリカゲルプレートが利用され、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）に使用されるシリカゲルプレートの仕様は、０．１５～０．２　ｍｍであり、薄層クロマトグラフィーによる生成物の分離精製に使用されるシリカゲルプレートの仕様は、０．４～０．５　ｍｍである。
【０３４２】
カラムクロマトグラフィーは、一般的に、煙台黄海２００～３００メッシュのシリカゲルをベクターとして利用した。
【０３４３】
本開示に係る既知の出発原料は、この分野での既知の方法を採用し、又はそれに従って合成してもよく、或いはＡＢＣＲ　ＧｍｂＨ　＆　Ｃｏ．ＫＧ、Ａｃｒｏｓ　Ｏｒｇａｎｉｃｓ、Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ、韶遠化学科技（Ａｃｃｅｌａ　ＣｈｅｍＢｉｏ　Ｉｎｃ）、達瑞化学品などの会社から購入してもよい。
【０３４４】
実施例において特に断りのない限り、反応は、何れもアルゴン雰囲気又は窒素雰囲気で行われた。
【０３４５】
アルゴン雰囲気又は窒素雰囲気は、反応フラスコに容積が約１　Ｌのアルゴン又は窒素バルーンが接続されていることを指す。
【０３４６】
水素雰囲気は、反応フラスコに容積が約１　Ｌの水素バルーンが連結されていることを指す。
【０３４７】
加圧水素化反応には、Ｐａｒｒ　３９１６ＥＫＸ型水素化装置及び清藍ＱＬ－５００型水素発生器又はＨＣ２－ＳＳ型水素化装置が使用された。
【０３４８】
水素化反応は、一般的に、真空引きして水素を充填する操作を３回繰り返した。
【０３４９】
マイクロ波反応には、ＣＥＭ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒ－Ｓ　９０８８６０型マイクロ波反応器が使用された。
【０３５０】
実施例において特に断りのない限り、反応中の溶液は水溶液を指す。
【０３５１】
実施例において特に断りのない限り、反応温度は室温であり、温度の範囲は２０～３０℃である。
【０３５２】
実施例におけるｐＨ＝６．５のＰＢＳ緩衝液の調製：８．５　ｇのKH_2PO_4、８．５６　ｇの$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$、５．８５　ｇのＮａＣｌ、１．５　ｇのＥＤＴＡを取ってフラスコに入れ、２　Ｌに定容し、超音波でそれを完全に溶解させ、振り混ぜると得た。
【０３５３】
化合物の精製に用いられるカラムクロマトグラフィーの溶離剤の系及び薄層クロマトグラフィーの展開溶媒の系は、Ａ：ジクロロメタンとイソプロピルアルコール系、Ｂ：ジクロロメタンとメタノール系、Ｃ：石油エーテルと酢酸エチル系を含み、溶媒の体積比は、化合物の極性によって調整してもよく、少量のトリエチルアミン及び酸性又は塩基性試薬などを加えて調整してもよい。

【０３５４】
本開示の化合物の一部は、Ｑ－ＴＯＦ　ＬＣ／ＭＳによって特徴付けられた。Ｑ－ＴＯＦ　ＬＣ／ＭＳは、精密質量数四重極－飛行時間型質量分析計Ａｇｉｌｅｎｔ　６５３０及び超高速液体クロマトグラフＡｇｉｌｅｎｔ　１２９０－Ｉｎｆｉｎｉｔｙ（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｐｏｒｏｓｈｅｌｌ　３００ＳＢ－Ｃ８　５　μｍ、２．１　ｍｍ×７５　ｍｍカラム）が利用された。
【０３５５】
本開示の抗体－薬物複合体の薬物部分は、この分野で公知の細胞毒性薬物から選ばれてもよく、例示的な薬物は、ＷＯ２０２１２１８８９６Ａ１（出願番号：ＰＣＴ／ＣＮ２０２１０８９８３８）に記載されたエクテイナシジン系誘導体であり、援用により全体として本明細書に組み込まれている。
【０３５６】
本開示における例示的な抗体－薬物複合体の合成経路は、以下の通りである。
【０３５７】
実施例４－１．　化合物７の合成（リンカー）
【化７３】



7

ステップ１
【化７４】



化合物７－１（１．３ｇ、ＷＯ２０１３１０６７１７Ａ１に開示された方法で調製された）を５０ｍＬのアセトニトリルに溶かし、順に炭酸カリウム（６．２ｇ）、臭化ベンジル（１．３５ｍＬ）及びテトラブチルヨウ化アンモニウム（４１５ｍｇ）を加えた。室温で撹拌し、ろ過し、濃縮し、石油エーテル／酢酸エチルを展開溶媒として、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して化合物７－２を得た。
【０３５８】
化合物７－２（１２１ｍｇ）及び７－３（１８０ｍｇ）を反応フラスコに入れ、４ｍＬのテトラヒドロフランを加えた。窒素雰囲気下、氷水浴で０℃程度に降温し、カリウムｔ－ブトキシド（１０９ｍｇ、０．９８ｍｍｏｌ）を加え、室温に昇温して４０分間撹拌した。１０ｍＬの氷水を加え、酢酸エチル（２０ｍＬ×２）及びクロロホルム（１０ｍＬ×５）で抽出し、有機相を合わせて濃縮した。得られた残留物を４ｍＬのジオキサンに溶け

、２ｍＬの水を加え、炭酸水素ナトリウム（４９．２ｍｇ、０．５８６ｍｍｏｌ）及びクロロギ酸－９－フルオレニルメチル（１２６ｍｇ、０．４９ｍｍｏｌ）を加え、室温で２時間撹拌した。２０ｍＬの水を加え、酢酸エチル（１０ｍＬ×３）で抽出し、有機相を飽和塩化ナトリウム溶液（２０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、ろ液を減圧下で濃縮した。石油エーテル／酢酸エチルを展開溶媒とし、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して化合物７－４を得て、ＭＳ　ｍ／ｚ（ＥＳＩ）：５１５．０［Ｍ＋１］＋。であった。

【０３５９】

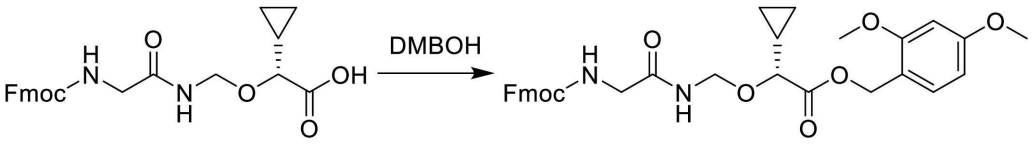
化合物７－４　（２０ｍｇ、０．０３８ｍｍｏｌ）をテトラヒドロフランと酢酸エチル（Ｖ：Ｖ＝２：１）の混合溶媒４．５ｍＬに溶解し、パラジウム炭素（１２ｍｇ、含有量１０％、乾式）を加え、水素ガスで３回置換し、室温で１時間撹拌しながら反応させた。反応液を珪藻土でろ過し、ろ過ケーキを酢酸エチルですすぎ、ろ液を濃縮して、粗製品である表題化合物７－５（１３ｍｇ）を得て、生成物を精製せずにそのまま次の反応に使用した。

ＭＳ　ｍ／ｚ　（ＥＳＩ）：４２４．９　［Ｍ＋１］。

【０３６０】

ステップ２

【化７５】



7-5　　7-6

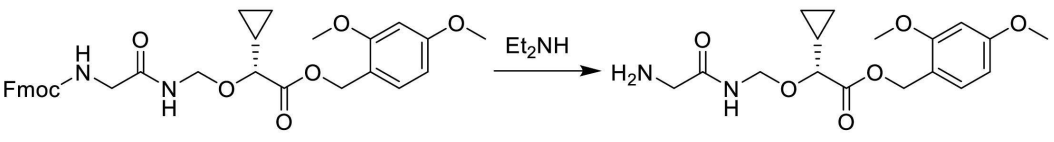
化合物７－５（８．００ｇ、１８．９ｍｍｏｌ、１ｅｑ）を２５０ｍＬの三口フラスコに入れ、窒素保護下、乾燥したジクロロメタン（１００ｍＬ）を加え、撹拌しながら溶かして０℃に冷却し、順に４－ジメチルアミノピリジン（２５０ｍｇ、２．０５ｍｍｏｌ）、２，４－ジメトキシベンジルアルコール（４．４５ｇ、２６．５ｍｍｏｌ）、１－（３－ジメチルアミノプロピル）－３－エチルカルボジイミド（５．０４ｇ、２８．６ｍｍｏｌ）を加え、０℃のままにして４時間撹拌しながら反応させ、水（５０ｍＬ）を加えて反応をクエンチして室温に昇温し、メチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（１００ｍＬ）で２回抽出し、有機相を合わせ、飽和塩化ナトリウム溶液（５０ｍＬ）で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、乾燥になるまで減圧下で濃縮し、化合物７－６の粗生成物（１３．１ｇ）を得た。

ＭＳ　Ｃａｌｃ：５７４．２、観測値：５７５．０［Ｍ＋Ｈ］＋。

【０３６１】

ステップ３

【化７６】



7-6　　7-7

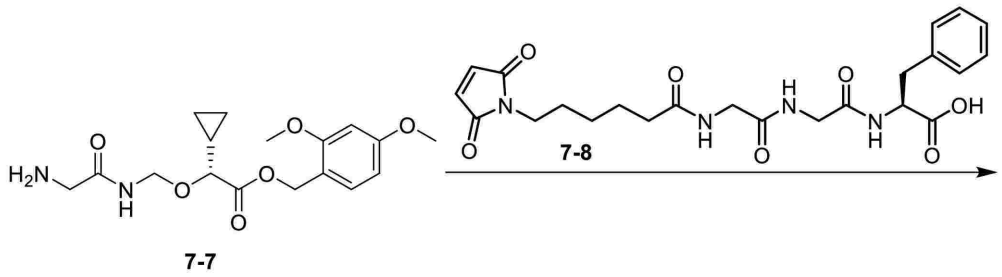
化合物７－６の粗生成物（１３．１ｇ）を５００ｍＬの反応フラスコに入れ、ＤＣＭ（１６０ｍＬ）を加え、撹拌しながら溶かし、ジエチルアミン（８０ｍＬ）を加え、室温を１５～１８℃のままにして３時間反応させ、乾燥になるまで減圧下で濃縮し、粗生成物を得て、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、所望の成分を収集した後、蒸発乾固して（水温＜３５℃）化合物７－７の油状物（５．４７ｇ）を得て、２段階収率が８２．２％であった。

ＭＳ　Ｃａｌｃ：３５２．２、観測値：３５３．１［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。

【０３６２】

ステップ４

【化７７】





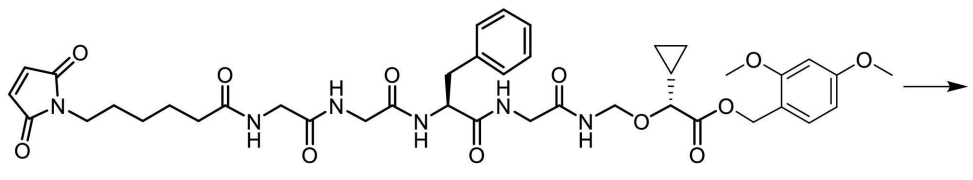
化合物７－７（４．３６ｇ、１２．４ｍｍｏｌ）、化合物７－８（７．０３ｇ、１４．９ｍｍｏｌ、６－（２，５－ジオキソ－２，５－ジヒドロ－１Ｈ－ピロール－１－イル）カプロイル）グリシルグリシル－Ｌ－フェニルアラニン、特許出願「ＥＰ２９０７８２４Ｂ１」中の実施例７３における方法で調製）を２５０ｍＬの反応フラスコに入れ、窒素保護下、乾燥したＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（５０ｍＬ）を加え、撹拌しながら溶かして０℃に冷却し、４－（４，６－ジメトキシトリアジン－２－イル）－４－メチルモルホリン塩酸塩（４．８０ｇ、１６．３ｍｍｏｌ）を加え、１８℃に昇温して１ｈ撹拌しながら反応させた。氷水浴で降温し、水（１５０ｍＬ）を加えて反応をクエンチし、酢酸エチル（３００ｍＬ）で２回抽出し、有機相を合わせて飽和塩化ナトリウム水溶液（５０ｍＬ）で１回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、乾燥になるまで減圧下で濃縮し、粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製して不純な淡黄色固体７－９（６．０２ｇ）を得て、上記固体をメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（６０ｍＬ）でスラリー化して精製し、オフ・ホワイトの固体である化合物７－９（５．０８ｇ）を得て、収率が５０．８％であった。

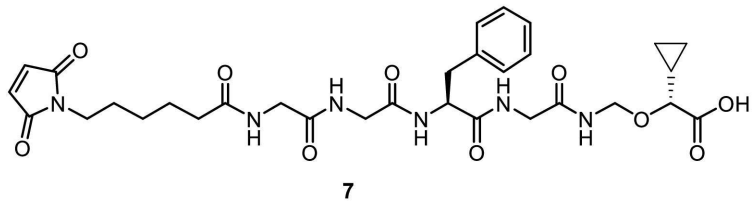
ＭＳ　Ｃａｌｃ：８０６．４、観測値：８０７．２［Ｍ＋Ｈ］$^{+}$。

【０３６３】

ステップ５

【化７８】





化合物７－９（１５０ｍｇ、０．１８６ｍｍｏｌ）を５０ｍＬの一口フラスコに入れ、窒素保護下、乾燥したジクロロメタン（６ｍＬ）、アニソール（６０ｍｇ、０．５５８ｍｍｏｌ）を加え、撹拌して０℃に冷却し、ジクロロ酢酸（０．２４ｍＬ、２．９ｍｍｏｌ）を加え、基質を溶かし、０℃のままにして３～４時間撹拌しながら反応させ、反応液にメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（１８ｍＬ）を加え、０℃のままにしてスラリー化して３０分間撹拌し、ろ過して吸引乾燥し、固体にメチルｔｅｒｔ－ブチルエーテル（１８ｍＬ）を加え、室温でスラリー化して３０分間撹拌し、ろ過し、吸引乾燥して化合物７（１２０ｍｇ、０．１８３ｍｍｏｌ）を得て、収率が９８％であった。

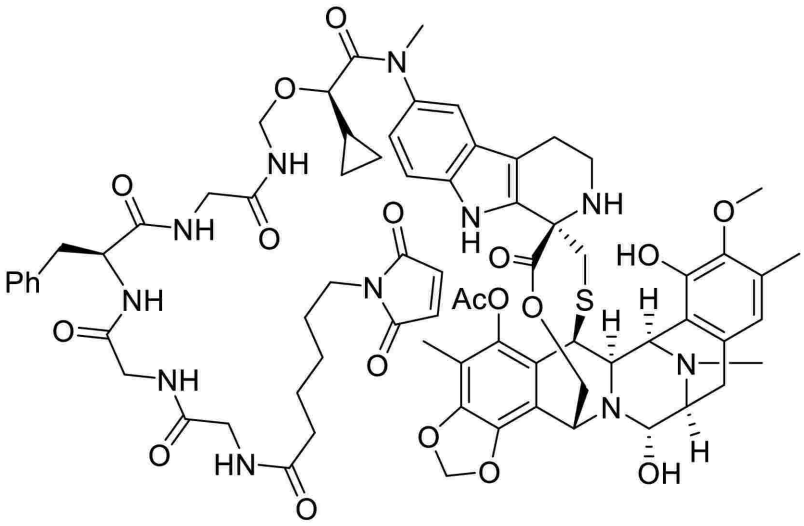
^{1}Ｈ ＮＭＲ （４００ ＭＨｚ， ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$） δ １２．５６ （ｂｒｓ， １Ｈ）， ８．５０ （ｔ， Ｊ ＝ ６．８ Ｈｚ， １Ｈ）， ８．２８ （ｔ， Ｊ ＝ ６．０ Ｈｚ， １Ｈ）， ８．２０－８．０５ （ｍ， ２Ｈ）， ８．００ （ｔ， Ｊ ＝ ５．６ Ｈｚ， １Ｈ）， ７．３０－７．１５ （ｍ， ５Ｈ）， ６．９９ （ｓ， ２Ｈ）， ４．６５－４．４０ （ｍ， ３Ｈ）， ３．８０－３．５５ （ｍ， ７Ｈ）， ３．４５ （ｄ， Ｊ ＝ ７．６ Ｈｚ， ２Ｈ）， ３．１０－３．００ （ｍ， １Ｈ）， ２．８５－２．７５ （ｍ， １Ｈ）， ２．１１ （ｔ， Ｊ ＝ ７．６ Ｈｚ， ２Ｈ）， １．５５－１．４０ （ｍ， ４Ｈ）， １．２５－１．１５ （ｍ， ２Ｈ）， １．０５－０．９５ （ｍ， １Ｈ）， ０．５５－０．４０ （ｍ， ２Ｈ）， ０．４０－０．３０ （ｍ， ２Ｈ）。

ＭＳ Ｃａｌｃ：６５６．３、観測値：６７９．２［Ｍ＋Ｎａ］$^{+}$。

【０３６４】

実施例４－２． Ｌ－９の合成

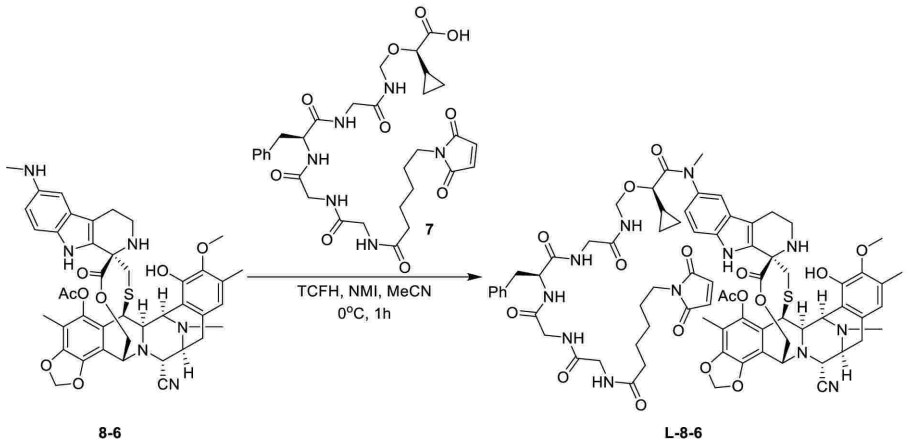
【化７９】



L-9

ステップ１

【化８０】



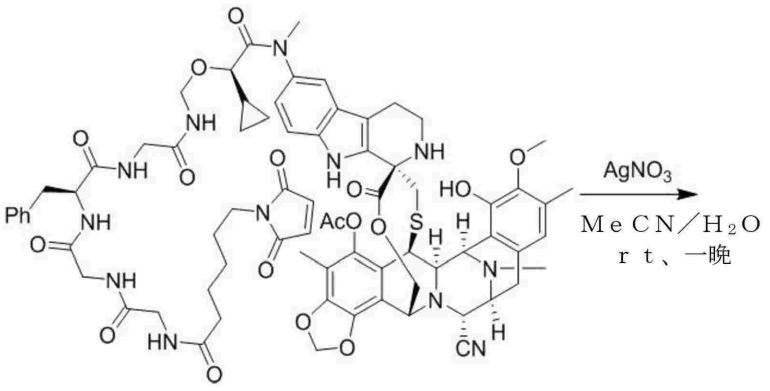
化合物８－６（５０　ｍｇ、０．０６３　ｍｍｏｌ、ＷＯ２０２１２１８８９６Ａ１中の実施例８に記載された方法に従って合成）、化合物７（８５　ｍｇ、０．１３ｍｍｏｌ）を秤量して反応フラスコに入れ、系を窒素で保護した。Ｎ－メチルイミダゾール（２１ｍｇ、０．２５　ｍｍｏｌ）の乾燥したＭｅＣＮ（４　ｍＬ）溶液を加えた。系を氷水浴で冷却した後、ＴＣＦＨ（４５ｍｇ、０．１６ｍｍｏｌ、Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルクロロホルムアミジンヘキサフルオロリン酸塩）の乾燥したＭｅＣＮ（１ｍＬ）溶液に滴下した。氷水浴で８０分間反応させ、サンプリングしてＬＣＭＳにより、原料が完全に消費されたことを検出した。反応液をサンドコア漏斗で吸引ろ過した。ろ過ケーキを乾燥したＭｅＣＮで洗浄した。ろ液を合わせ、減圧下で濃縮して粗生成物を得て、カラムクロマトグラフィー（メタノール／ジクロロメタン＝１：２５）により白色固体Ｌ－８－６約８３ｍｇを得て、収率が９２．２２％であった。

ＭＳ　Ｃａｌｃ：１４３０．６、観測値：１４３１．４［Ｍ＋Ｈ］。

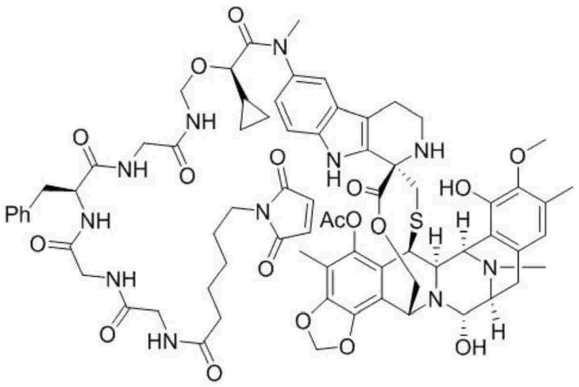
【０３６５】

ステップ２

【化８１】



L-8-6

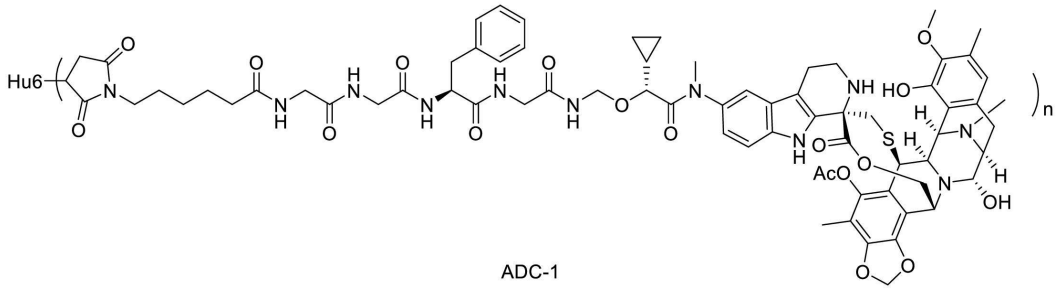


L-9

化合物Ｌ－８－６（８１ｍｇ、０．０５７ｍｍｏｌ）を計量し、乾燥したＭｅＣＮ（７ｍＬ）に溶かした。ＡｇＮＯ$_3$（７８１ｍｇ、４．６０ｍｍｏｌ）の水（４．７ｍＬ）溶液を加えた。窒素保護下、暗所にて室温で２１時間反応させ、サンプリングしてＬＣＭＳにより、原料が完全に消費されたことを検出した。反応液に飽和ＮａＨＣＯ$_3$水溶液（１１．７ｍＬ）及び飽和ＮａＣｌ溶液（１１．７ｍＬ）を加え、３０分間激しく撹拌し、珪藻土でろ過した。ろ液を（ＭｅＯＨ／ＣＨＣｌ$_3$＝１／１０、２０ｍＬ×３）で抽出した。有機相を合わせ、Ｎａ$_2$ＳＯ$_4$を加えて乾燥させ、ろ過し、乾燥になるまで減圧下で濃縮して粗生成物を得て、ｐｒｅｐ－ＨＰＬＣにより精製し、白色固体Ｌ－９約５２ｍｇを得て、収率が６４．６％であった。

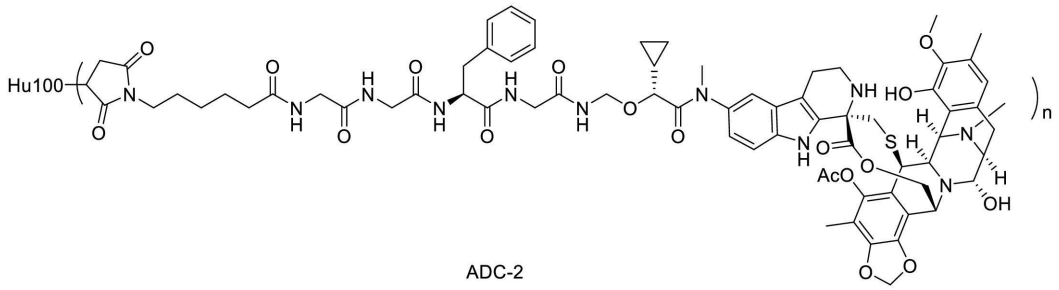
^{1}Ｈ ＮＭＲ （４００ ＭＨｚ， ＣＤ$_3$ＯＤ） δ ７．３２－７．１８ （ｍ， ７Ｈ）， ６．９７ （ｄ， Ｊ ＝ ８．４ Ｈｚ， １Ｈ）， ６．７５ （ｓ， ２Ｈ）， ６．６６ （ｓ， １Ｈ）， ６．２５ （ｓ， １Ｈ）， ６．０７ （ｓ， １Ｈ）， ５．２３ （ｄ， Ｊ ＝ １１．２ Ｈｚ， １Ｈ）， ４．７７ （ｓ， １Ｈ）， ４．６２－４．５６ （ｍ， ４Ｈ）， ４．５０ （ｄｄ， Ｊ ＝ ６．０， ８．４ Ｈｚ， １Ｈ）， ４．４１ （ｓ， １Ｈ）， ４．１８ （ｄ， Ｊ ＝ １０．８ Ｈｚ， １Ｈ）， ３．８７－３．５５ （ｍ， １２Ｈ）， ３．４５ （ｔ， Ｊ ＝ ６．８ Ｈｚ， ２Ｈ）， ３．２７ （ｓ， ３Ｈ）， ３．２２－３．１７ （ｍ， ２Ｈ）， ３．０５－２．８８ （ｍ， ３Ｈ）， ２．７９ （ｄ， Ｊ ＝ １５．２ Ｈｚ， １Ｈ）， ２．６５－２．５９ （ｍ， ２Ｈ）， ２．３９ （ｓ， ３Ｈ）， ２．３７ （ｓ， ３Ｈ）， ２．２９ （ｓ， ３Ｈ）， ２．２４ （ｔ， Ｊ ＝ ７．６ Ｈｚ， ２Ｈ）， ２．１２ （ｄ， Ｊ ＝ １５．９ Ｈｚ， １Ｈ）， ２．０３ （ｓ， ４Ｈ）， １．６３－１．５０ （ｍ， ４Ｈ）， １．３１－１．２３ （ｍ， ２Ｈ）， １．０１－０．９５ （ｍ， １Ｈ）， ０．４４－０．２２ （ｍ， ３Ｈ）， －０．０９－－０．１４ （ｍ， １Ｈ）。

【０３６６】
三、ＡＤＣの調製
実施例５－１．　ＡＤＣ－１の調製
【化８２】



ADC-1

３７℃の条件で、抗体Ｈｕ６のＰＢＳ緩衝水溶液（ｐＨ＝６．５の０．０５ＭのＰＢＳ緩衝水溶液、１０．０ｍｇ／ｍＬ、３．６ｍＬ、２４３．１ｎｍｏｌ）に、調製されたトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン（ＴＣＥＰ塩酸塩）の水溶液（１０ｍＭ、６７．５μＬ、６７５ｎｍｏｌ）を加え、水浴振とう機に置き、３７℃で３時間振とうしながら反応させ、反応を止めた。反応液を水浴で２５℃に降温した。
【０３６７】
化合物Ｌ－９（３．４６ｍｇ、２４３１ｎｍｏｌ）を１７０μＬのＤＭＳＯに溶かし、上記反応液に加え、水浴振とう器に置き、２５℃で３時間振とうしながら反応させ、反応を止めた。反応液をＳｅｐｈａｄｅｘ　Ｇ２５ゲルカラムで脱塩精製し（溶離相：ｐＨが６．５である０．０５　ＭのＰＢＳ緩衝水溶液）、表題生成物ＡＤＣ－１のＰＢＳ緩衝液（２．８３ｍｇ／ｍＬ、１６．０ｍＬ）を得て、４℃で保存した。
【０３６８】
ＨＩＣ法により各バッチのＡＤＣ－１の薬物担持量を算出したところ、そのＤＡＲ値がｎ＝３．７３－４．２７である。
【０３６９】
実施例５－２．　ＡＤＣ－２の調製
【化８３】



ADC-2

３７℃の条件で、抗体Ｈｕ１００のＰＢＳ緩衝水溶液（ｐＨ＝６．５である０．０５ＭのＰＢＳ緩衝水溶液、１０．０ｍｇ／ｍＬ、４．０ｍＬ、２７０．１ｎｍｏｌ）に、調製されたトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン（ＴＣＥＰ塩酸塩）の水溶液（１０ｍＭ、７５．１μＬ、７５１ｎｍｏｌ）を加え、水浴振とう器に置き、３７℃で３時間振とうしながら反応させ、反応を止めた。反応液を水浴で２５℃に降温した。
【０３７０】
化合物Ｌ－９（３．８４ｍｇ、２７０１ｎｍｏｌ）を１９０μＬのＤＭＳＯに溶かし、上記反応液に加え、水浴振とう器に置き、２５℃で３時間振とうしながら反応させ、反応を止めた。反応液をＳｅｐｈａｄｅｘ　Ｇ２５ゲルカラムで脱塩精製し（溶離相：ｐＨが６．５である０．０５　ＭのＰＢＳ緩衝水溶液）、表題生成物ＡＤＣ－２のＰＢＳ緩衝液（３．５２ｍｇ／ｍＬ、１６．０ｍＬ）を得て、４℃で保存した。

【０３７１】
ＨＩＣ法により各バッチのＡＤＣ－２の薬物担持量を算出したところ、そのＤＡＲ値はｎ＝３．７２－４．８８である。
【０３７２】
ＡＤＣ原液の薬物担持量の分析
ＡＤＣは、疾患の治療機序が抗体の標的性によって薬物を細胞に送達することで、細胞を死滅させるか又は細胞の成長を阻害する抗体－薬物複合体である。薬物の担持量は、薬効に決定的な役割を果たしている。
【０３７３】
本開示は、ＨＩＣ法により薬物担持量を分析し、その過程が基本的に以下の通りである：
試薬及び機器：
硫酸アンモニウム：国薬製、５００ｍｇ／瓶、イソプロピルアルコール：ＬＣグレード、４Ｌ／瓶、Ｔｈｅｒｍｏ　Ｆｉｓｈｅｒ製、無水リン酸二水素ナトリウム：国薬製、５００ｍｇ／瓶。
【０３７４】
高速液体クロマトグラフ：Ａｇｉｌｅｎｔ　１２６０。
【０３７５】
溶液の調製：
移動相Ａ（５０ｍＭの無水リン酸二水素ナトリウム溶液、ｐＨ７．０）：メスシリンダーで１０００ｍＬの精製水を量り取り、６．４９ｇの無水リン酸二水素ナトリウム固体を加え、撹拌して均一に混合してｐＨを７．０に調整した後、ろ過に使用し、２～８℃で１４日間保存した。
【０３７６】
移動相Ｂ（２Ｍの硫酸アンモニウムを５０ｍＭの無水リン酸二水素ナトリウム溶液に溶かし、ｐＨ７．０）：調製された無水リン酸二水素ナトリウム溶液５０ｍＭに２６４．３ｇの硫酸アンモニウム固体を加え、よく撹拌して均一に混合した後、ろ過して使用し、２～８℃で１４日間保存した。
【０３７７】
移動相Ｃ（ＩＰＡ）：１　Ｌのイソプロピルアルコール。
【０３７８】
裸の抗体及び試験待ちの試料（濃度１ｍｇ／ｍＬ、約２００μＬ）は、注入使用に備えた。
【０３７９】
クロマトグラフィーの条件：
カラム：ＴＳＫｇｅｌ　Ｂｕｔｙｌ－ＮＰＲ　４．６ｍｍ×１０ｃｍ　２．５μｍ、
カラム温度：３０℃、
ＤＡＤ検出器、検出波長２８０ｎｍ（３７０ｎｍ）、
試料室の温度：４℃、流速：０．５ｍＬ／ｍｉｎ、注入量：４０μＬ、
クロマトグラフィーの勾配：Ａ％（開始３５％－１５ｍｉｎ７５％－２０ｍｉｎ７５％）、Ｃ％（開始５％－１５ｍｉｎ２５％－２０ｍｉｎ２５％）。
【０３８０】

【表９】

表９．　移動相の比率

時間（分）	移動相Ａ％	移動相Ｂ％	移動相Ｃ％
０	３５	６０	５
１５	７５	０	２５
２０	７５	０	２５
２１	３５	６０	５
３１	３５	６０	５

【０３８１】

データの分析：

試料と裸の抗体とのスペクトル比較により、ＤＡＲ０、ＤＡＲ２、ＤＡＲ４、ＤＡＲ６、ＤＡＲ８の位置を区別し、そして検出試料のスペクトルに対して積分を行い、ピーク面積によってＤＡＲ値を算出した。計算式は、次の通りである：

ＤＡＲ＝Σ（連結薬物数×ピーク面積の百分率）／ピーク面積の総和。

【０３８２】

以下、生化学試験方法により本開示の抗体及びＡＤＣの活性を検証した。

【０３８３】

試験例１：タンパク質レベルのＥＬＩＳＡ結合実験

ストレプトアビジン（ａｂｃａｍ、ａｂ１３６２００、１μｇ／ｍＬ）でプレートを１００μＬ／ウェルで被覆し、４℃で一晩した。ＰＢＳＴ溶液（０．１％のＴｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳ）により２５０μＬ／ウェルでプレートを３回洗浄した。５％のミルクにより２５０μＬ／ウェルでブロッキングし、３７℃で２時間ブロッキングした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを３回洗浄した。ビオチン化したＤＬＬ３抗原（１μｇ／ｍＬ）（配列番号９）を加え、３７℃で１時間インキュベートした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを３回洗浄した。抗体Ｈｕ６、Ｈｕ１００、ＢＩ－７６４５３２及びＣ２５（陰性抗体）（最高濃度１００ｎＭ、４倍段階希釈）を調製し、３７℃で１時間インキュベートした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを６回洗浄した。作業濃度のｈｕｍａｎ　ＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）－ＨＲＰ（Ｊａｃｋｓｏｎ、１０９－０３５－００３、１：４０００で希釈）抗体を加え、１００μＬ／ウェルで、３７℃で１時間インキュベートした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを６回洗浄した。ＴＭＢ（ＫＰＬ、５１２０－００７７）発色液を１００μＬ／ウェルで加え、室温で５～１０分間発色した。１ＭのH_2SO_4を１００μＬ／ウェルで加え、発色を中止し、プレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ、ＶＥＲＳＡ　ｍａｘ）により４５０ｎｍでの数値を読み取った。

【０３８４】

【表１０】

表１０．　抗体タンパク質の結合活性

抗体	Ｅｍａｘ（ＯＤ値）	EC_{50}（ｎＭ）
Ｈｕ１００	２．０５	０．０５
Ｈｕ６	２．１３	０．０４

【０３８５】

その結果から示されるように、抗体Ｈｕ６及びＨｕ１００は、何れもＤＬＬ３に優れた結合能力を有する。

【０３８６】

試験例２：細胞レベルのＦＡＣＳ結合実験

ＤＬＬ３を発現した小細胞肺がん細胞株Ｈ１１８４（ＡＴＣＣ、製品番号ＣＲＬ－５８５８）、ＤＬＬ３／Ｈ８２、ｃｙｎｏＤＬＬ３／ＣＨＯ－ｓ及びＲａｔＤＬＬ３／ＣＨＯ－ｓ細胞を、ＦＡＣＳ緩衝液（１％ＢＳＡ＋ｐＨ７．４のＰＢＳ）により、１×１０^{6}／ｍＬの細胞懸濁液に調製し、１００　μＬ／ウェルで９６ウェル円底プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ、３７９５）に加えた。３００ｇで５分間遠心分離して上清を除去した。異なる濃度の測定待ちの抗体を１００μＬ／ウェルで加えた。４℃の冷蔵庫に入れて暗所で１時間インキュベートした。３００ｇで３回遠心洗浄した後、作業濃度のＡＰＣ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ（ＢｉｏＬｅｇｅｎｄ、４１０７１２）又はＰＥ　Ｆ（ａｂ’）２－ヒツジ抗ヒトＩｇＧ（ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｈ１０１０４）を加え、４℃の冷蔵庫に入れて暗所で４０分間インキュベートした。３００ｇで３回遠心洗浄した後、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎフローサイトメーターにて幾何平均蛍光強度を検出し、ＤＬＬ３発現細胞に対する抗体の結合ＥＣ５０値を算出した。結果を表１１－１、表１１－２、表１１－３及び図１Ａ～図１Ｃに示す。

【０３８７】

【表１１】

表１１－１．　細胞で発現したＤＬＬ３に対する抗体の結合活性

細胞	Ｈ１１８４		ｃｙｎｏＤＬＬ３／ＣＨＯ－ｓ		ＲａｔＤＬＬ３／ＣＨＯ－ｓ	
抗体	Ｅｍａｘ	EC_{50}（ｎＭ）	Ｅｍａｘ	EC_{50}（ｎＭ）	Ｅｍａｘ	EC_{50}（ｎＭ）
Ｈｕ６	２０７３	０．０６	１７６２	０．３２	２１１２	１．４２
Ｈｕ１００	２１１２	０．１５	２０７５	０．５５	結合しない	
ＢＩ－７６４５３２	１６２５	３．９４	９６３	３．４２	結合しない	

【０３８８】

【表１２】

表１１－２．　ヒトＤＬＬ３を発現したＤＬＬ３／Ｈ８２細胞に対する抗体の結合活性

抗体	Ｅｍａｘ	EC_{50}　（ｎＭ）
Ｍ１００ＣＨＩ	１３５１３	０．２５
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ１	１４３１５	０．２４
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ２	１４８０７	０．３０
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ３	１４８６５	０．２５
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ４	１４９０８	０．２２
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ１	１４４０９	０．２９
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ２	１４８２１	０．１６
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ３	１４７８５	０．３０
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ４	１３１５９	０．３２

【０３８９】

【表１３】

表１１－３．　Ｈ１１８４細胞に対する抗体の結合活性

抗体	Ｅｍａｘ	ＥＣ$_{50}$　（ｎＭ）
Ｍ６ＣＨＩ	３３６７	０．１４
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ２	２１９３	０．０６
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ４	２３１２	０．０６
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ５	２４８６	０．０６
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ６	２４２２	０．０５
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ７	２１９６	０．０７
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１１	１９５９	０．０４
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１２	２１４５	０．１０
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１３	２１０５	０．１０
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ６	２００４	０．１７
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１１	２１８８	０．０７
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１２	２１３１	０．０５
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１３	２１１８	０．０９

【０３９０】

その結果から示されるように、本開示における抗体は、何れも細胞で発現したＤＬＬ３に特異的に結合することができ、そのうち、Ｈｕ６は、異なる種を発現したＤＬＬ３細胞の何れにも高い結合能力を有する。Ｈｕ１００は、ヒト及びカニクイザルのＤＬＬ３を発現した細胞の何れにも優れた結合能力を有するが、Ｈｕ１００はラットＤＬＬ３を発現した細胞に結合しない。ＢＩ－７６４５３２は、ヒト及びカニクイザルのＤＬＬ３を発現した細胞のみに結合能力を有し、かつその結合活性がＨｕ６及びＨｕ１００よりも弱い。

【０３９１】

試験例３：ＤＬＬ１とＤＬＬ４の結合実験

安定形質転換ヒトＤＬＬ１／ＣＨＯ－ｓとヒトＤＬＬ４／ＣＨＯ－ｓ細胞をＦＡＣＳ緩衝液（１％のＢＳＡ及びｐＨ７．４のＰＢＳを含む）により、１×１０^{6}／ｍＬの細胞懸濁液に調製し、１００μＬ／ウェルで９６ウェル円形プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ、３７９５）に加えた。３００ｇで５分間遠心分離して上清を除去した。検出待ちの抗体を１００μＬ／ウェルで加え、４℃の冷蔵庫に入れて暗所で１時間インキュベートした。３００ｇで３回遠心洗浄した後、作業濃度のＰＥ　Ｆ（ａｂ’）２－ヒツジ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ二抗（ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｈ１０１０４）を加え、４℃の冷蔵庫に入れて暗所で４０分間インキュベートした。３００ｇで３回遠心洗浄した後、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎフローサイトメーターにて幾何平均蛍光強度を検出した。

【０３９２】

その結果から示されるように、抗体Ｈｕ６とＨｕ１００は、何れもヒトＤＬＬ１及びＤＬＬ４に結合しない。

【０３９３】

試験例４：Ｂｉａｃｏｒｅ抗体の親和性の測定

Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ａバイオセンサーチップ（Ｃａｔ．　＃　２９１２７５５６、Ｃｙｔｉｖａ）により測定待ちの抗体を１８秒間親和的に捕捉し、そしてチップの表面で抗原ヒトＤＬＬ３（ＡＣＲＯ、ＤＬＬ３－Ｈ５２Ｈ４）、カニクイザルＤＬＬ３（ＫＡＣＴＵＳ、ＤＬＬ－ＲＭ１０３）とマウスＤＬＬ３（ＫＡＣＴＵＳ、ＤＬＬ－ＭＭ１０３）を１８０秒間流した後、６００秒間解離した。Ｂｉａｃｏｒｅ　８Ｋ（Ｃｙｔｉｖａ）機器により反応シグナルをリアルタイムで検出して結合・解離曲線を得た。各実験のサイクル解離が完了した後、１０ｍＭのグリシン－塩酸溶液（ｐＨ１．５）（Ｃａｔ．　＃　ＢＲ－１

００３－５４、Ｃｙｔｉｖａ）によりバイオセンサーチップを洗浄して再生した。データフィッテイングモデルは、１：１のＭｏｄｅｌを採用した。結果を表１２－１、表１２－２及び表１２－３に示す。

【０３９４】

【表１４】

表１２－１．　抗体の親和性

抗体／抗原	Ｈｕ６ ＫＤ（Ｍ）	Ｈｕ１００ ＫＤ（Ｍ）
ヒトＤＬＬ３	５．９４Ｅ－１０	４．７１Ｅ－１０
カニクイザルＤＬＬ３	１．３１Ｅ－０９	１．１１Ｅ－０９
マウスＤＬＬ３	６．５２Ｅ－０９	結合しない

【０３９５】

【表１５】

表１２－２．　抗体のヒトＤＬＬ３への親和性

抗体	ｋａ　（１／Ｍｓ）	ｋｄ　（１／ｓ）	ＫＤ　（Ｍ）
Ｍ１００ＣＨＩ	１．０３Ｅ＋０６	５．４６Ｅ－０４	５．２８Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ１	８．５８Ｅ＋０５	３．７４Ｅ－０４	４．３６Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ２	７．８１Ｅ＋０５	３．６５Ｅ－０４	４．６７Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ３	８．３２Ｅ＋０５	３．５２Ｅ－０４	４．２４Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ１Ｈ４	３．４８Ｅ＋０５	２．５４Ｅ－０４	７．２９Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ１	５．７２Ｅ＋０５	６．２９Ｅ－０４	１．１０Ｅ－０９
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ２	８．４８Ｅ＋０５	３．７０Ｅ－０４	４．３７Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ３	４．０４Ｅ＋０５	２．６８Ｅ－０４	６．６４Ｅ－１０
ｈＡｂ１００Ｌ２Ｈ４	６．５２Ｅ＋０５	６．５５Ｅ－０４	１．００Ｅ－０９

【０３９６】

【表１６】

表１２－３．　抗体のヒトＤＬＬ３への親和性

抗体	ｋａ　（１／Ｍｓ）	ｋｄ　（１／ｓ）	ＫＤ　（Ｍ）
Ｍ６ＣＨＩ	９．６５Ｅ＋０５	６．５７Ｅ－０４	６．８１Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ１	７．９８Ｅ＋０５	２．２５Ｅ－０３	２．８１Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ２	７．８７Ｅ＋０５	１．７３Ｅ－０３	２．１９Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ１Ｈ３	８．１２Ｅ＋０５	２．２４Ｅ－０３	２．７６Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１	７．０９Ｅ＋０５	１．５５Ｅ－０３	２．１９Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ２	７．０４Ｅ＋０５	１．１６Ｅ－０３	１．６４Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ３	６．９５Ｅ＋０５	１．３９Ｅ－０３	２．０１Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ１	７．１５Ｅ＋０５	１．４４Ｅ－０３	２．０２Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ２	７．１６Ｅ＋０５	１．１４Ｅ－０３	１．５９Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ３Ｈ３	７．１８Ｅ＋０５	１．３５Ｅ－０３	１．８８Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ４	７．４３Ｅ＋０５	１．０８Ｅ－０３	１．４５Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ５	８．１０Ｅ＋０５	７．８４Ｅ－０４	９．６９Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ６	８．６３Ｅ＋０５	７．５６Ｅ－０４	８．７７Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ７	６．７０Ｅ＋０５	２．０５Ｅ－０３	３．０６Ｅ－０９
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１１	２．０６Ｅ＋０６	７．４９Ｅ－０４	３．６３Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１２	１．９８Ｅ＋０６	９．１３Ｅ－０４	４．６１Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ２Ｈ１３	２．１０Ｅ＋０６	８．０３Ｅ－０４	３．８２Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ６	１．９１Ｅ＋０６	８．１１Ｅ－０４	４．２４Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１１	２．１４Ｅ＋０６	６．７２Ｅ－０４	３．１４Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１２	２．０６Ｅ＋０６	８．０５Ｅ－０４	３．９１Ｅ－１０
ｈＡｂ６Ｌ４Ｈ１３	２．１６Ｅ＋０６	６．９５Ｅ－０４	３．２２Ｅ－１０

【０３９７】

その結果から示されるように、ｍＡｂ１００とｍＡｂ６のヒト化抗体及びキメラ抗体は、ヒトＤＬＬ３に特異的に結合することができると共に、親和性が高い。ここで、抗体Ｈｕ６は、ヒト、カニクイザル及びマウスのＤＬＬ３の何れにも高い親和性を有し、Ｈｕ１００は、ヒト及びカニクイザルのＤＬＬ３に高い親和性を有するが、マウスのＤＬＬ３には結合しない。

【０３９８】

試験例５：抗体のエピトープ競合的結合実験

ＢＩ－７６４５３２抗体（１μｇ／ｍＬ）でプレートを１００μＬ／ウェル被覆し、４℃で一晩した。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを３回洗浄した。５％のミルクにより２５０μＬ／ウェルでブロッキングし、３７℃で２時間ブロッキングした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを３回洗浄した。ビオチン化したＤＬＬ３－Ｓｔｒｅｐ（０．１μｇ／ｍＬ、配列番号９）を加えた。競合抗体、ＢＩ－７６４５３２、Ｈｕ６及びＨｕ１００（最大濃度１００μｇ／ｍＬ、４倍段階希釈）を調製し、３７℃で１時間インキュベートした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを６回洗浄した。ストレプトアビジン－ペルオキシダーゼ（１：２０００で希釈）（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，０１６－０３０－０８４）を１００μＬ／ウェルで加え、３７℃で１時間インキュベートした。ＰＢＳＴ溶液により２５０μＬ／ウェルでプレートを６回洗浄した。ＴＭＢ（ＫＰＬ、５１２０－００７７）発色液を１００μＬ／ウェルで加え、室温で５～１０ｍｉｎ発色した。１ＭのH_2SO_4を１００μ

Ｌ／ウェルで加え、発色を中止し、プレートリーダーにより４５０ｎｍでの数値を読み取った。結果を図２に示す。

【０３９９】

その結果から示されるように、抗体Ｈｕ６及びＨｕ１００はＢＩ－７６４５３２とは競合しないことで、抗体Ｈｕ６及びＨｕ１００は、ＢＩ－７６４５３２とは異なるエピトープに結合することが示唆されている。

【０４００】

試験例６：抗ＤＬＬ３抗体のエンドサイトーシス活性の検出

ＤＴ３Ｃは、組換え発現の融合タンパク質であり、ジフテリア毒素の断片Ａ（毒素部分のみ）とＧ群連鎖球菌の３Ｃ断片（ＩｇＧ結合部分）が融合してなるものであり、当該タンパク質は、抗体のＩｇＧ部分によく親和することができ、抗体がエンドサイトーシスされる場合に一緒に細胞に侵入し、細胞内フーリンの作用下で、毒性を有するＤＴを放出し、ＤＴはＥＦ２－ＡＤＰリボース化の活性を阻害し、タンパク質の翻訳過程を遮断して、最終的に細胞の死亡を引き起こすことができる。細胞に侵入していないＤＴ３Ｃは、細胞を殺傷する活性を有しない。細胞殺傷状況によって、抗体の細胞にエンドサイトーシスされる活性を評価した。

【０４０１】

実験の手順

ａ．　２０％のＦＢＳを含む新鮮な細胞培地ＲＰＭＩ１６４０（ＧＥ、ＳＨ３０８０９．０１）によりＤＭＳ５３／ＤＬＬ３細胞懸濁液を調製し、２０００細胞／５０μＬ／ウェルで９６ウェル細胞培養プレートに加え、１と１２列目に細胞を播種せずに５０μＬの培地のみを加え、５％の二酸化炭素、３７℃で１６時間培養した。

【０４０２】

ｂ．　無血清培地により４×濃度のＤＴ３Ｃ（９６００ｎＭ、上海磐超生物科技有限公司で発現・精製）溶液に調製し、かつ０．２２μｍのフィルターによりろ過した。無血清培地により４×濃度の抗体（１６００ｎＭ）を調製し、８０μＬのＤＴ３Ｃ溶液と８０μＬの抗体溶液を１：１の体積で均一に混合し、室温で３０分間静置してインキュベートした。

【０４０３】

ｃ．　無血清培地で当該混合物を５倍段階希釈し、合計９つの濃度にして、１０番目のポイントを純培地とした。

【０４０４】

ｄ．　希釈された抗体５０　μＬを細胞に加え、インキュベーターにて３日間インキュベートした。

【０４０５】

ｅ．　各ウェルに５０　μＬのＣＴＧ（ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）　Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　Ｃｅｌｌ　Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　Ａｓｓａｙ、Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｇ７５７３）を加え、室温で暗所にて１０分間インキュベートし、Ｖｉｃｔｏｒ３にて化学発光を読み取った。

【０４０６】

結果を下記表１３及び図３に示す。

【０４０７】

【表１７】

表１３．　抗体のエンドサイトーシスによる細胞殺傷

抗体	ＩＣ５０（ｎＭ）	Ｉｍａｘ
Ｈｕ６	０．５６	８７．１６
Ｈｕ１００	１．４７	８６．１３
ＢＩ－７６４５３２	３．２７	８６．５１

【０４０８】
その結果から示されるように、抗体Ｈｕ６及びＨｕ１００は、何れもエンドサイトーシスされることができる。
試験例７：ＡＤＣによる異なるＤＬＬ３発現レベルの細胞毒性実験
実験の手順は、以下の通りである：
Ａ．　１０％のＦＢＳを含む新鮮な細胞培地により細胞懸濁液を調製し、１３５μＬ／ウェルで９６ウェル細胞培養プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ、３９０３）に加え、１と１２列目に細胞を播種せずに１３５μＬの培地のみを加え、５％の二酸化炭素、３７℃で１６時間培養した。
【０４０９】
ｂ．　ＡＤＣ試料をＰＢＳで最初のウェルの作動液（１０×濃度）に調製し、それを初期濃度として、ＰＢＳで対応する倍率で段階希釈した。各ウェルに１５μＬの１０×濃度ＡＤＣ溶液を加え、５％の二酸化炭素、３７℃で６日間培養した。
【０４１０】
ｃ．　各ウェルに７０μＬのＣＴＧ（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｇ７５７３）を加え、室温で暗所にて１０分間インキュベートし、Ｖｉｃｔｏｒ３にて化学発光を読み取り、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ５によりデータを処理し、抗体又はＡＤＣ濃度をＸ軸、光強度値をＹ軸としてプロットした。
【０４１１】
異なる細胞のプレートへの播種密度、最初のウェルの作業液濃度（１０×濃度）、希釈倍率を表１４に示す。
【０４１２】
【表１８】

表１４．　細胞のプレートへの播種密度及び初回のウェルの作業液濃度

細胞	培地	各ウェルの細胞数（個）	濃度（ｎＭ）	段階希釈
ＤＭＳ５３	ＲＰＭＩ１６４０＋２０％ＦＢＳ＋１×　ＧｌｕｔａＭＡＸ	１０００	６４００	２．５倍希釈、１４個の濃度
Ｈ１１８４	ＲＰＭＩ１６４０＋５％ＦＢＳ	１０００	８００	５倍希釈、９個の濃度
ＨＴ－２９	ＭｃＣｏｙ＇ｓ　５Ａ　＋１０％　ＦＢＳ	５００	６４００	２．５倍希釈、１５個の濃度
Ｕ－２　ＯＳ	ＭｃＣｏｙ＇ｓ　５Ａ　＋１０％　ＦＢＳ	５００	６４００	２．５倍希釈、１５個の濃度
ＣＨＯ－Ｋ１	ＤＭＥＭ／Ｆ１２（１：１）＋１０％ＦＢＳ	５００	４００００	２．５倍希釈、１７個の濃度

実験に使用された細胞は、以下の通りである：
ＡＴＣＣから購入されたＤＭＳ５３（＋）、ＣＲＬ－２０６２、
ＡＴＣＣから購入されたＨ１１８４（＋＋＋）、ＣＲＬ－５８５８、
ＡＴＣＣから購入されたＵ－２ＯＳ（－）、ＨＴＢ－９６、
ＡＴＣＣから購入されたＨＴ－２９（－）、ＨＴＢ－３８、
ＡＴＣＣから購入されたＣＨＯ－Ｋ１（－）、ＣＣＬ－６１。
【０４１３】
そのうち、「＋」はＤＬＬ３の発現量を示し、「－」はＤＬＬ３を発現しないことを示す。
【０４１４】
結果を表１５及び図４Ａ～図４Ｅに示す。

【０４１５】
【表１９】

表１５．　異なるＤＬＬ３発現量の細胞に対するＡＤＣの殺傷活性

ＡＤＣ	ＤＭＳ５３（＋）		Ｈ１１８４（＋＋＋）	
	ＩＣ５０（ｎＭ）	Ｉｍａｘ（％）	ＩＣ５０（ｎＭ）	Ｉｍａｘ（％）
ＡＤＣ－１	８．２７	９９．３７	０．１１	９９．５６
ＡＤＣ－２	１３．１２	９９．３７	０．１１	９９．７１

【０４１６】
その結果から示されるように、ＡＤＣ－１及びＡＤＣ－２は、強い標的細胞殺傷活性を有し、ＤＬＬ３を発現するＤＭＡ５３及びＨ１１８４を殺傷することができるが、Ｕ－２ＯＳ、ＨＴ－２９及びＣＨＯ－Ｋ１細胞はＤＬＬ３に対して陰性であることを示している。

【０４１７】
試験例８：バイパス殺傷活性実験
ＤＭＳ５３／ＤＬＬ３ｈｉｇｈ（ＤＬＬ３を安定形質転換したＤＭＳ５３細胞）及びＵ－２ＯＳ（ＡＴＣＣ、ＨＴＢ－９６）細胞をそれぞれＲＰＭＩ１６４０＋２０％ＦＢＳ＋１×ＧｌｕｔａｍａｘとＭｃＣｏｙ’ｓ　５Ａ＋１０％ＦＢＳにより培養し、細胞をパンクレアチンで消化し、新鮮な培地で中和し、１０００ｒｐｍで３分間遠心分離した。上清を捨て、細胞をＲＰＭＩ１６４０＋２０％ＦＢＳ＋１×Ｇｌｕｔａｍａｘで再懸濁した。細胞を計数した後、ＤＭＳ５３／ＤＬＬ３ｈｉｇｈ細胞密度を９×１０^{4}個／ｍＬに調整し、Ｕ－２ＯＳ細胞密度を３×１０^{4}個／ｍＬに調整した。１２ウェルプレートの対応するウェルのそれぞれに５００μＬのＤＭＳ５３／ＤＬＬ３ｈｉｇｈ細胞及び５００μＬのＵ－２ＯＳ細胞を加えた。１２ウェルプレートの対応するウェルに５００μＬのＵ－２ＯＳ細胞及び５００μＬのＲＰＭＩ１６４０＋２０％ＦＢＳ＋１×Ｇｌｕｔａｍａｘ培養液を加えた。５％の二酸化炭素、３７℃で２４時間培養した。試料を４０×濃度の中間溶液（２００ｎＭ）に調製した。上記ＡＤＣ試料を２５μＬずつ取って１２ウェルプレートの対応するウェルに加えた。溶媒対照群を設けた。５％の二酸化炭素、３７℃で６日間培養した。１２ウェルプレートにおける細胞をパンクレアチンで消化し、新鮮な培地で中和し、２０μＬの細胞を取り、２０μＬのトリパンブルーを加えて、計数した。細胞を１０００ｒｐｍで３分間遠心分離し、上清を捨てた。細胞を１００μＬのＦＡＣＳ緩衝液で１回洗浄し、１５００ｒｐｍで３分間遠心分離し、上清を捨てた。１００μＬのＦＡＣＳ緩衝液で再懸濁し、２μｇ／ｍＬの抗ＤＬＬ３の陽性抗体を加え、氷上で６０ｍｉｎインキュベートした。ＦＡＣＳ緩衝液で１回洗浄し、１５００ｒｐｍで３分間遠心分離し、二次抗体ＡＰＣ　ａｎｔｉ－ｈｕｍａｎ　ＩｇＧ　Ｆｃ（１００ｘ）を加えて３０分間インキュベートし、ＦＡＣＳ緩衝液で１回洗浄した。２００μＬのＦＡＣＳ緩衝液を加えて細胞を再懸濁し、ＦＡＣＳで検出した。ＦｌｏｗＪｏによりストリーミングデータを解析してＤＭＳ５３／ＤＬＬ３ｈｉｇｈ比率を得て、ＤＭＳ５３／ＤＬＬ３ｈｉｇｈ及びＵ－２ＯＳの総量を算出した。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ５によりデータをプロットし、異なる試料をＸ軸、算出された細胞数をＹ軸としてプロットし、結果を図５に示す。

【０４１８】
その結果から示されるように、ＡＤＣ－１及びＡＤＣ－２は、明らかなバイスタンダー細胞毒性効果を有する。

【０４１９】
インビボ活性の生物学的評価
試験例９：ＤＭＳ５３細胞ＣＤＸマウスモデルにおけるインビボ薬効の評価
ヒト小細胞肺がんＤＭＳ５３細胞（５×１０^{6}個、５０％のマトリゲル／匹含有、ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－２０６２）を２００μＬ／匹で、Ｂａｌｂ／ｃ右脇部皮下に接種した。２

１日間接種した後、腫瘍体積が約２００ｍｍ^{3}になると、体重、腫瘍が過大又は過小であるものを除去し、腫瘍体積によってマウスを８匹／群で無作為に群分けし、当日から投与し始めた。ＡＤＣを腹腔内に注射し、用量が１．８ｍｇ／ｋｇで、週１回、合計２回投与した。腫瘍の体積と体重を週２回測定し、データを記録した。平均値がａｖｇで算出され、ＳＤ値がＳＴＤＥＶで算出され、ＳＥＭ値がＳＴＤＥＶ／ＳＱＲＴ（各群の動物数）で算出されるように、Ｅｘｃｅｌ統計ソフトウェアによりデータを記録し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアによりプロットし、Ｔｗｏ－ｗａｙ　ＡＮＯＶＡ又はＯｎｅ－ｗａｙ　ＡＮＯＶＡによりデータを統計的に分析した。

【０４２０】

腫瘍体積（Ｖ）の計算式：Ｖ＝１／２×Ｌ長×Ｌ短^2

相対腫瘍増殖率Ｔ／Ｃ（％）＝（Ｔ－Ｔ$_0$）／（Ｃ－Ｃ$_0$）×１００％で、そのうち、Ｔ、Ｃは実験終了時の治療群及び対照群の腫瘍体積であり、Ｔ$_0$、Ｃ$_0$は実験開始時の腫瘍体積である。

【０４２１】

腫瘍阻害率ＴＧＩ（％）＝１－Ｔ／Ｃ（％）。

【０４２２】

結果を表１６及び図６に示す。

【０４２３】

【表２０】

表１６．　担腫瘍ヌードマウスＤＭＳ５３移植腫瘍に対するＡＤＣの治療効果

ＡＤＣ	１８日目のＴＧＩ（％）
ＡＤＣ－１	５６．７１
ＡＤＣ－２	５８．７１

【０４２４】

その結果から示されるように、１．８ｍｐｋの用量で、ＡＤＣ－１及びＡＤＣ－２は、何れもＤＭＳ５３細胞皮下移植腫瘍の成長を顕著に阻害することができる。

【０４２５】

試験例１０：Ｈ１１８４細胞ＣＤＸマウスモデルにおけるインビボ薬効の評価

ヒト小細胞肺がんＮＣＩ－Ｈ１１８４細胞（５×１０^{6}個、５０％のマトリゲル含有、ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－５８５８）を２００μＬ／匹で、ＮＤＧマウス右脇部皮下に接種した。１８日間接種した後、腫瘍体積が１８０ｍｍ^{3}になると、体重、腫瘍が過大又は過小であるものを除去し、腫瘍体積によってマウスを８匹／群で無作為に群分けし、当日から投与し始めた。ＡＤＣを腹腔内に注射し、投与量が１．８ｍｇ／ｋｇである。週１回、３回投与した。週２回で腫瘍体積を測定し、体重を量り、データを記録した。

【０４２６】

平均値がａｖｇで算出され、ＳＤ値がＳＴＤＥＶで算出され、ＳＥＭ値がＳＴＤＥＶ／ＳＱＲＴ（各群の動物数）で算出されるように、Ｅｘｃｅｌ統計ソフトウェアによりデータを記録し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアによりプロットし、Ｔｗｏ－ｗａｙ　ＡＮＯＶＡ又はＯｎｅ－ｗａｙ　ＡＮＯＶＡによりデータを統計的に分析した。

【０４２７】

腫瘍体積（Ｖ）の計算式：Ｖ＝１／２×Ｌ長×Ｌ短^2

相対腫瘍増殖率Ｔ／Ｃ（％）＝（Ｔ－Ｔ$_0$）／（Ｃ－Ｃ$_0$）×１００％で、そのうち、Ｔ、Ｃは実験終了時の治療群及び対照群の腫瘍体積であり、Ｔ$_0$、Ｃ$_0$は実験開始時の腫瘍体積である。

【０４２８】

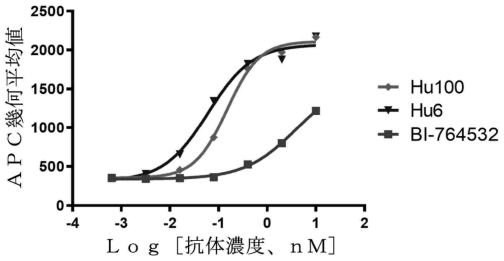
腫瘍阻害率ＴＧＩ（％）＝１－Ｔ／Ｃ（％）。

【０４２９】
結果を表１７及び図７に示す。
【０４３０】
【表２１】

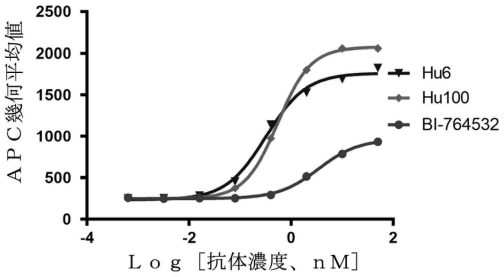
表１７．　担腫瘍ヌードマウスＨ１１８４移植腫瘍に対するＡＤＣの治療効果

ＡＤＣ	１８日目のＴＧＩ（％）
ＡＤＣ－１	１０９
ＡＤＣ－２	１０７

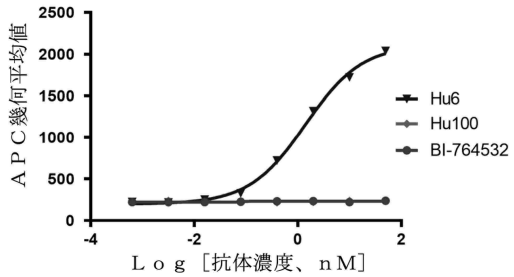
【０４３１】
その結果から示されるように、１．８　ｍｐｋの用量で、ＡＤＣ－１及びＡＤＣ－２は、何れもＨ１１８４移植腫瘍の成長を顕著に阻害することができる。
【図面】
【図１Ａ】



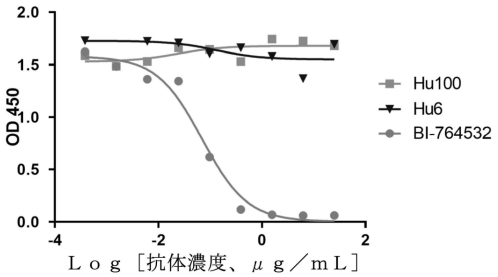
【図１Ｂ】



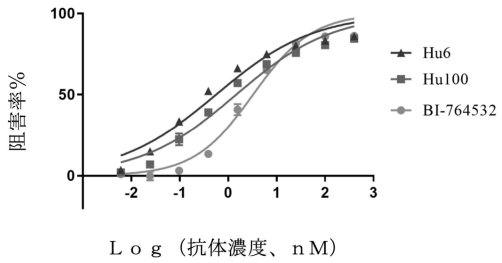
【図１Ｃ】



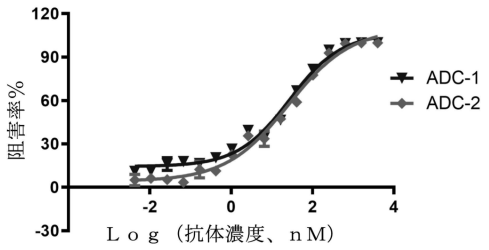
【図２】



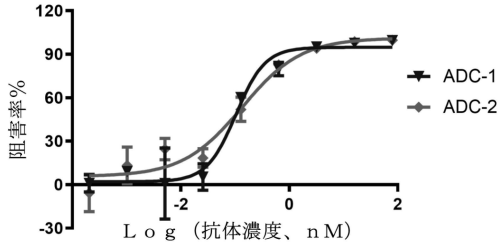
【図３】



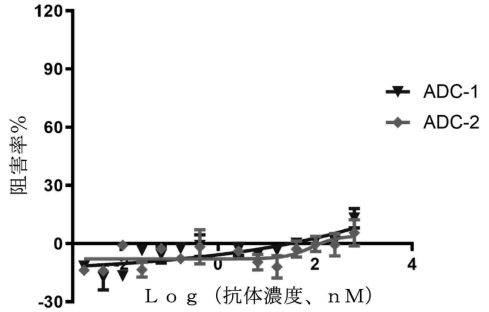
【図４Ａ】



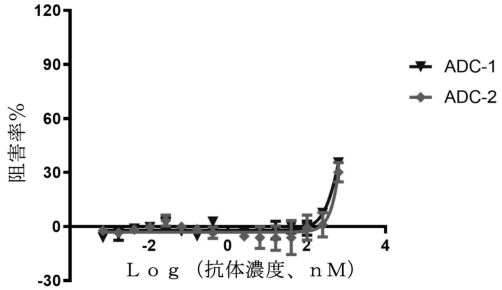
【図４Ｂ】



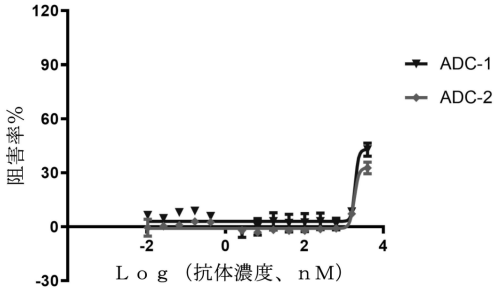
【図４Ｃ】



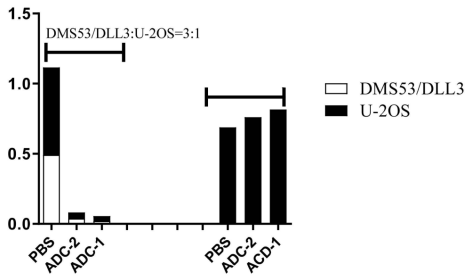
【図４Ｄ】



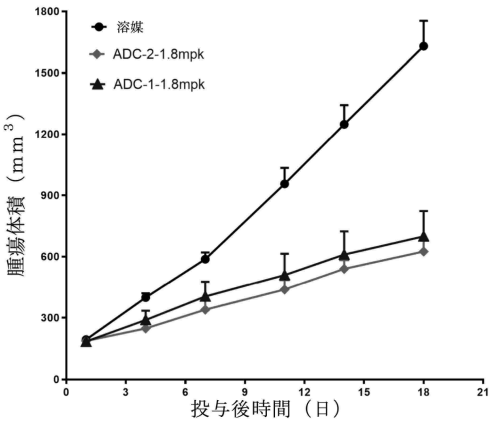
【図４Ｅ】



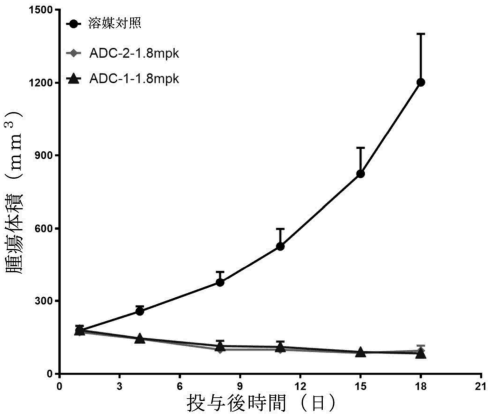
【図５】



【図６】



【図７】



【配列表】

<u>20255009520000001.xml</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/141269

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K39/395(2006.01)i;C07K16/28(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:A61K; C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNKI, CNTXT, DWPI, ENTXT, ELSEVIER, ISI Web of Knowledge, PubMed: 抗体, 抗原, 抗原结合片段, 单克隆抗体, 单抗, 嵌合抗体人源化抗体, antibody, McAb, monoclonal antibody, chimeric antibody, humanized antibody, CDR, DLL3, 海鞘素衍生物, 抗体-药物偶联物, antibody drug conjugate, ADC; 中国专利生物序列检索系统, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System, Genbank, EMBL, STN

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 112584860 A (PHANES THERAPEUTICS INC.) 30 March 2021 (2021-03-30) claims 1-9, and specific embodiments, sequence listing	1-17
A	CN 108136015 A (ABBVIE STEMCENTRX LLC.) 08 June 2018 (2018-06-08) description, paragraph 9, and specific embodiments, sequence listing	1-17
A	US 2019225685 A1 (ABBVIE STEMCENTRX LLC.) 25 July 2019 (2019-07-25) specific embodiments, sequence listing	1-17
A	US 2021047399 A1 (PHANES THERAPEUTICS INC.) 18 February 2021 (2021-02-18) entire document	1-17
A	CN 113521299 A (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. et al.) 22 October 2021 (2021-10-22) entire document	1-17
A	CN 113631191 A (DAIICHI SANKYO CO., LTD.) 09 November 2021 (2021-11-09) entire document	1-17

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
10 March 2023	**15 March 2023**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/141269

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105873612 A (STEMCENTRX INC.) 17 August 2016 (2016-08-17) entire document	1-17
A	CN 106550593 A (ABBVIE STEMCENTRX LLC) 29 March 2017 (2017-03-29) entire document	1-17
A	WO 2021218896 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 04 November 2021 (2021-11-04) entire document	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/141269

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/141269

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	112584860	A	30 March 2021	WO	2019217145	A1	14 November 2019
				WO	2019217145	A8	23 January 2020
				SG	11202009772	PA	27 November 2020
				KR	20210008367	A	21 January 2021
				AU	2019267349	A1	29 October 2020
				US	2021047399	A1	18 February 2021
				EP	3790586	A1	17 March 2021
				EP	3790586	A4	19 January 2022
				BR	112020021280	A2	26 January 2021
				CA	3097193	A1	14 November 2019
				JP	2021528047	A	21 October 2021
CN	108136015	A	08 June 2018	PE	20181292	A1	07 August 2018
				PH	12018500380	A1	03 September 2018
				EA	201890530	A1	28 September 2018
				KR	20180041717	A	24 April 2018
				EP	3337517	A2	27 June 2018
				EP	3337517	A4	17 April 2019
				TW	201718026	A	01 June 2017
				CL	2018000458	A1	13 July 2018
				AU	2016308365	A1	15 March 2018
				IL	257645	A	30 April 2018
				JP	2018529656	A	11 October 2018
				US	2018243435	A1	30 August 2018
				CO	2018001624	A2	19 July 2018
				ZA	201801401	B	28 August 2019
				CA	2996165	A1	23 February 2017
				UY	36862	A	31 March 2017
				MX	2018002166	A	12 September 2018
				WO	2017031458	A2	23 February 2017
				WO	2017031458	A3	06 April 2017
				CL	2018003758	A1	15 March 2019
				BR	112018003269	A2	25 September 2018
				HK	1257056	A1	11 October 2019
US	2019225685	A1	25 July 2019	None			
US	2021047399	A1	18 February 2021	None			
CN	113521299	A	22 October 2021	None			
CN	113631191	A	09 November 2021	CA	3139180	A1	01 October 2020
				WO	2020196712	A1	01 October 2020
				US	2022168438	A1	02 June 2022
				JPWO	2020196712	A1	01 October 2020
				KR	20210143839	A	29 November 2021
				EP	3949988	A1	09 February 2022
				EP	3949988	A4	16 November 2022
				TW	202102226	A	16 January 2021
CN	105873612	A	17 August 2016	IL	244254	A0	21 April 2016
				PH	12016500375	A1	02 May 2016
				CA	2922544	A1	05 March 2015
				CL	2016000468	A1	09 December 2016
				KR	20160047567	A	02 May 2016

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/141269

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				JP	2016531914	A	13 October 2016
				US	2016175460	A1	23 June 2016
				CL	2017001916	A1	20 April 2018
				PE	20160209	A1	09 May 2016
				SG	11201601375	VA	30 March 2016
				BR	112016004073	A2	17 October 2017
				BR	112016004073	A8	12 June 2018
				WO	2015031693	A1	05 March 2015
				RU	2016111137	A	03 October 2017
				RU	2016111137	A3	12 July 2018
				CL	2018002620	A1	14 December 2018
				AU	2014312210	A1	07 April 2016
				MX	2016002545	A	17 June 2016
				EP	3038659	A1	06 July 2016
				EP	3038659	A4	26 July 2017
CN	106550593	A	29 March 2017	ECSP	16075472	A	31 March 2017
				GT	201600168	A	20 December 2018
				PH	12016501618	A1	06 February 2017
				WO	2015127407	A1	27 August 2015
				CA	2939941	A1	27 August 2015
				JP	2017514143	A	01 June 2017
				EP	3107576	A1	28 December 2016
				EP	3107576	A4	06 September 2017
				MX	2016010677	A	10 April 2017
				CR	20160437	A	20 February 2017
				SG	11201606898	TA	29 September 2016
				CL	2018001646	A1	05 October 2018
				US	2017137533	A1	18 May 2017
				US	10308721	B2	04 June 2019
				CL	2016002105	A1	31 March 2017
				PE	20161209	A1	10 November 2016
				AU	2015218633	A1	01 September 2016
				BR	112016018891	A2	10 October 2017
				IL	247248	A0	29 September 2016
				DOP	2016000214	A	30 November 2016
				KR	20170008202	A	23 January 2017
				EA	201691683	A1	28 April 2017
WO	2021218896	A1	04 November 2021	TW	202144369	A	01 December 2021

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/141269

A. 主题的分类

A61K39/395(2006.01)i;C07K16/28(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC:A61K; C07K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用）)

CNKI, CNTXT, DWPI, ENTXT, ELSEVIER, ISI Web of Knowledge, PubMed, 抗体，抗原，抗原结合片段，单克隆抗体，单抗，嵌合抗体人源化抗体，antibody, McAb, monoclonal antibody, chimeric antibody, humanized antibody, CDR, DLL3, 海鞘素衍生物, 抗体-药物偶联物, antibody drug conjugate, ADC,中国专利生物序列检索系统，Genbank, EMBL, STN

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 112584860 A (东莞凡恩世生物医药有限公司) 2021年3月30日 (2021-03-30) 权利要求1-9，具体实施方式，序列表	1-17
A	CN 108136015 A (艾伯维施特姆森特克斯有限责任公司) 2018年6月8日 (2018-06-08) 说明书第9段，具体实施方式，序列表	1-17
A	US 2019225685 A1 (ABBVIE STEMCENTRX LLC) 2019年7月25日 (2019-07-25) 具体实施方式，序列表	1-17
A	US 2021047399 A1 (PHANES THERAPEUTICS INC.) 2021年2月18日 (2021-02-18) 全文	1-17
A	CN 113521299 A (江苏恒瑞医药股份有限公司等) 2021年10月22日 (2021-10-22) 全文	1-17
A	CN 113631191 A (第一三共株式会社) 2021年11月9日 (2021-11-09) 全文	1-17

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件
"D" 申请人在国际申请中引证的文件
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件
"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性
"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2023年3月10日	2023年3月15日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 刘宝 电话号码 (+86) 010-53962038

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/141269

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 105873612 A (施特姆森特克斯股份有限公司) 2016年8月17日 (2016 - 08 - 17) 全文	1-17
A	CN 106550593 A (艾伯维施特姆森特克斯有限责任公司) 2017年3月29日 (2017 - 03 - 29) 全文	1-17
A	WO 2021218896 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO.) 2021年11月4日 (2021 - 11 - 04) 全文	1-17

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/141269

第I栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的:
b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见:

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/141269

检索报告引用的专利文件			公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
CN	112584860	A	2021年3月30日	WO	2019217145	A1	2019年11月14日
				WO	2019217145	A8	2020年1月23日
				SG	11202009772	PA	2020年11月27日
				KR	20210008367	A	2021年1月21日
				AU	2019267349	A1	2020年10月29日
				US	2021047399	A1	2021年2月18日
				EP	3790586	A1	2021年3月17日
				EP	3790586	A4	2022年1月19日
				BR	112020021280	A2	2021年1月26日
				CA	3097193	A1	2019年11月14日
				JP	2021528047	A	2021年10月21日
CN	108136015	A	2018年6月8日	PE	20181292	A1	2018年8月7日
				PH	12018500380	A1	2018年9月3日
				EA	201890530	A1	2018年9月28日
				KR	20180041717	A	2018年4月24日
				EP	3337517	A2	2018年6月27日
				EP	3337517	A4	2019年4月17日
				TW	201718026	A	2017年6月1日
				CL	2018000458	A1	2018年7月13日
				AU	2016308365	A1	2018年3月15日
				IL	257645	A	2018年4月30日
				JP	2018529656	A	2018年10月11日
				US	2018243435	A1	2018年8月30日
				CO	2018001624	A2	2018年7月19日
				ZA	201801401	B	2019年8月28日
				CA	2996165	A1	2017年2月23日
				UY	36862	A	2017年3月31日
				MX	2018002166	A	2018年9月12日
				WO	2017031458	A2	2017年2月23日
				WO	2017031458	A3	2017年4月6日
				CL	2018003758	A1	2019年3月15日
				BR	112018003269	A2	2018年9月25日
				HK	1257056	A1	2019年10月11日
US	2019225685	A1	2019年7月25日		无		
US	2021047399	A1	2021年2月18日		无		
CN	113521299	A	2021年10月22日		无		
CN	113631191	A	2021年11月9日	CA	3139180	A1	2020年10月1日
				WO	2020196712	A1	2020年10月1日
				US	2022168438	A1	2022年6月2日
				JPWO	2020196712	A1	2020年10月1日
				KR	20210143839	A	2021年11月29日
				EP	3949988	A1	2022年2月9日
				EP	3949988	A4	2022年11月16日
				TW	202102226	A	2021年1月16日
CN	105873612	A	2016年8月17日	IL	244254	A0	2016年4月21日
				PH	12016500375	A1	2016年5月2日
				CA	2922544	A1	2015年3月5日
				CL	2016000468	A1	2016年12月9日
				KR	20160047567	A	2016年5月2日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/141269

检索报告引用的专利文件			公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
				JP	2016531914	A	2016年10月13日
				US	2016175460	A1	2016年6月23日
				CL	2017001916	A1	2018年4月20日
				PE	20160209	A1	2016年5月9日
				SG	11201601375	VA	2016年3月30日
				BR	112016004073	A2	2017年10月17日
				BR	112016004073	A8	2018年6月12日
				WO	2015031693	A1	2015年3月5日
				RU	2016111137	A	2017年10月3日
				RU	2016111137	A3	2018年7月12日
				CL	2018002620	A1	2018年12月14日
				AU	2014312210	A1	2016年4月7日
				MX	2016002545	A	2016年6月17日
				EP	3038659	A1	2016年7月6日
				EP	3038659	A4	2017年7月26日
CN	106550593	A	2017年3月29日	ECSP	16075472	A	2017年3月31日
				GT	201600168	A	2018年12月20日
				PH	12016501618	A1	2017年2月6日
				WO	2015127407	A1	2015年8月27日
				CA	2939941	A1	2015年8月27日
				JP	2017514143	A	2017年6月1日
				EP	3107576	A1	2016年12月28日
				EP	3107576	A4	2017年9月6日
				MX	2016010677	A	2017年4月10日
				CR	20160437	A	2017年2月20日
				SG	11201606898	TA	2016年9月29日
				CL	2018001646	A1	2018年10月5日
				US	2017137533	A1	2017年5月18日
				US	10308721	B2	2019年6月4日
				CL	2016002105	A1	2017年3月31日
				PE	20161209	A1	2016年11月10日
				AU	2015218633	A1	2016年9月1日
				BR	112016018891	A2	2017年10月10日
				IL	247248	A0	2016年9月29日
				DOP	2016000214	A	2016年11月30日
				KR	20170008202	A	2017年1月23日
				EA	201691683	A1	2017年4月28日
WO	2021218896	A1	2021年11月4日	TW	202144369	A	2021年12月1日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*1/21 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/21	
Ｃ１２Ｎ	*5/10 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/10	
Ｃ１２Ｐ	*21/08 (2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08	

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＷＥＥＮ

(71)出願人 516174208
上海恒瑞医薬有限公司
ＳＨＡＮＧＨＡＩ ＨＥＮＧＲＵＩ ＰＨＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＡＬ ＣＯ．， ＬＴＤ
中華人民共和国２００２４５上海市閔行区文井路２７９号
ＮＯ． ２７９ ＷＥＮＪＩＮＧ ＲＯＡＤ， ＭＩＮＨＡＮＧ ＤＩＳＴＲＩＣＴ， ＳＨＡＮＧＨＡＩ ２００２４５， ＣＨＩＮＡ
(74)代理人 100108453
弁理士 村山 靖彦
(74)代理人 100110364
弁理士 実広 信哉
(74)代理人 100133400
弁理士 阿部 達彦
(72)発明者 叶 ▲シン▼
中華人民共和国２００２４５上▲海▼市▲閔▼行区文井路２７９号
(72)発明者 姚 青青
中華人民共和国２００２４５上▲海▼市▲閔▼行区文井路２７９号
(72)発明者 金 薪盛
中華人民共和国２００２４５上▲海▼市▲閔▼行区文井路２７９号
(72)発明者 ▲應▼ ▲華▼
中華人民共和国２００２４５上▲海▼市▲閔▼行区文井路２７９号
(72)発明者 陶 ▲維▼康
中華人民共和国２００２４５上▲海▼市▲閔▼行区文井路２７９号

Ｆターム（参考） 4B064 AG27 CA19 CC24 DA01
4B065 AA01X AA57X AA72X AA90X AB01 BA01 CA25 CA44
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA72 DA76 FA72 FA74